

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA
INTESTINAL DE *Strychnos pseudoquina* ST. HIL (FALSA
QUINA) EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE
INFLAMAÇÃO INTESTINAL**

Clélia Regiane de Oliveira

CUIABÁ – MT

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA
INTESTINAL DE *Strychnos pseudoquina* ST. HIL (FALSA
QUINA) EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE
INFLAMAÇÃO INTESTINAL**

Clélia Regiane de Oliveira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, Área de Concentração Farmacologia, Sub-Área Farmacologia de Produtos Naturais.

Orientadora: Profa. Dra. Regilane Matos da Silva

CUIABÁ – MT

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Fonte

O48e Oliveira, Clélia Regiane de.
Estudo da atividade antiinflamatória intestinal de *Strychnos pseudoquina* ST. Hil (falsa quina) em modelos experimentais de inflamação intestinal / Clélia Regiane de Oliveira. – 2009.
xvii, 103f. ; il. ; 30 cm. -- (incluem figuras, gráficos e tabelas).

Orientadora: Regilane Matos da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso.
Faculdade de Ciências Médicas. Programa de Pós -Graduação em
Agricultura Tropical, 2009.

1. *Strychnos pseudoquina*. 2. Inflamação intestinal. 3. Experimental.
4. Ratos. I. Título.

CDU 616.34-002

Catalogação na fonte: Maurício Silva de Oliveira – Bibliotecário CRB-1/1860

Esta Dissertação é parte integrante dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Ciências da Saúde, outorgado pela Universidade Federal de Mato Grosso e encontra-se a disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho dessa Dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética.

Clélia Regiane de Oliveira

Dissertação aprovada em: __ / __ / 2009

Profa. Dra. Regilane Matos da Silva
(Orientadora)

Profa. Dra. Adriana Rolim Campos Barros

Prof. Dr. José Eduardo Aguilar Nascimento

Aos meus pais José e Maria responsáveis pelo que sou, por terem me incentivado a sonhar, pelo carinho e pelos momentos difíceis que passamos juntos, por acreditarem em mim dedico-lhes mais esta conquista.

A minha querida irmã que está sempre comigo, me apoiando e cuidando. Clésia tudo o que eu diga ou coloque neste papel seria insuficiente para demonstrar todo carinho e admiração que sinto por você.

A todas as pessoas que padecem de Doença Inflamatória Intestinal, em especial aos nossos familiares que sofrem junto conosco cada recidiva que temos de superar.

AGRADECIMENTO

A meu marido, companheiro, amigo e namorado José Maria H. Ramos, a quem eu admiro. Obrigada por estar comigo, pelas palavras de incentivo, pelo carinho, por tudo...

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

A Profa. Dra. Regilane Matos da Silva, orientadora deste trabalho, pelo apoio intelectual, científico e humano, com quem eu dividi mais de dois anos de nossas vidas, que me proporcionou não só ciência, mas, amizade e companheirismo.

Ao Prof. Dr. Domingos Tabajara de Oliveira Martins, professor titular da disciplina de farmacologia e chefe do Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas a quem devemos toda organização e orientação neste ambiente de pesquisa.

A Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Programa de Pós-Graduação em Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso, por ter proporcionado todas as condições para a realização deste trabalho.

A Profa. Msc. Ângela Márcia Selhorst e Silva Beserra do Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Cuiabá, pela análise fitoquímica do extrato e, maiormente pela oportunidade de conhecê-la melhor como pessoa e como amiga.

Ao Prof. Msc. Rogério por colaborar nesta árdua jornada.

Ao Prof. Dr. Lousã Lopes pelas valiosas observações.

Ao Prof. Dr. Artur Aburad Carvalhosa pela análise histopatológica.

A Profa. Dra. Nair Honda e sua equipe do Laboratório de Bioquímica, do Deptº de Química da Universidade Federal de Mato Grosso pelas dúvidas tiradas, pelos materiais cedidos.

Ao Biotério Central pela presteza que sempre fui atendida por vocês.

Ao Msc. Joaquim Corsino da Silva, pelo apoio na elaboração e execução dos experimentos.

A Profa. Dra. Virgínea Claudia da Silva, do Laboratório de Química de Produtos Naturais, por disponibilizar a fração acetato de etila e a substância isolada da *Strychnos pseudoquina* (quercetina 3-O-metil éter).

Aos meus amigos e companheiros de mestrado Marcondes Barbosa e Reginaldo Vicente Ribeiro pelas boas risadas e pelas preocupações compartilhadas, e sem os quais esta jornada teria sido muito mais árdua.

A amiga Juliana pelo reencontro após a faculdade; com quem dividi muitos dos meus problemas.

A Maria do Carmo Souza, pelo exemplo de persistência e determinação que eu encontrei nesta pequena, grande mulher, aparentemente frágil. Obrigada.

A amiga Carolina Roberta Ohara, pela colaboração nos meus experimentos e pela amizade que ali nasceu obrigada.

Aos alunos de iniciação científica, Rômulo, Matheus, Marcelo, Kim, e Nathália que muito me ajudou no desenvolvimento dos meus experimentos.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas	xi
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tabelas	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Doença Inflamatória Intestinal	1
1.1.1. Doença de Crohn	7
1.1.2. Colite Ulcerativa	8
1.1.3. Mediadores Inflamatórios e a DII	10
1.1.3.1. Defesas Antioxidantes e a DII	11
1.4. Tratamento da DII	12
1.2. Plantas Medicinais e DII	17
2.1. Flavonóides derivados de plantas	18
2.2. <i>Strychnos pseudoquina</i> St. Hil	19
2.2.1. Fitoquímica e Farmacologia	20
2.2.2. <i>Strychnos pseudoquina</i> St. Hil e a DII	21
2. OBJETIVOS	24
2.1. Objetivo Geral	24
2.2. Objetivos Específicos	24
MATERIAIS	25
1 Animais Experimentais	25
2. Material Botânico	26
3. Drogas e Reagentes	27
4. Equipamentos	29

MÉTODOS	31
1. Abordagem fitoquímica do extrato metanólico da entrecasca da <i>S. pseudoquina</i>	31
3. Avaliação Toxicológica	32
3.1. Toxicidade aguda – Teste Hipocrático	32
3.2. Toxicidade para <i>Artemia salina</i> Leach	33
3.3. Toxicidade sub-crônica	33
4. Avaliação Antiinflamatória Intestinal	34
4.1. Colite Ulcerativa Induzida por Ácido Acético em Ratos	34
4.2. Injúria Intestinal Induzida por Isquemia-Reperfusão em Ratos	35
4.3. Colite Ulcerativa Induzida por Ácido Trinitrobenzeno Sulfônico (TNBS)	36
em Ratos	
4.3.1. Avaliação macroscópica do processo inflamatório intestinal	37
4.3.2. Avaliação dos parâmetros bioquímicos	39
4.3.2.1. Determinação de Malonaldeído (MDA)	39
4.3.2.2. Determinação de Mieloperoxidase (MPO)	40
4.3.2.3. Determinação dos grupos sulfidrilas não protéicos (NP-SH)	40
5. Avaliação histopatológica	41
6. Análise Estatística	41
RESULTADOS	42
1. Triagem de Plantas Medicinais Com Atividade Antiinflamatória	42
2. Abordagem fitoquímica	44
3. Avaliação Toxicológica	44
2.2. Toxicidade para <i>Artemia salina</i> Leach	45
2.3. Toxicidade subcrônica	45
2.3.1. Análise histopatológica da toxicidade subcrônica	50
4. Avaliação Antiinflamatória	51
4.1. Colite Ulcerativa Induzida por Ácido Acético em Ratos	51

4.1.1. Avaliação Macroscópica da Colite induzida por Ácido Acético	51
4.1.2. Avaliação dos parâmetros bioquímicos	54
4.2. Injúria Intestinal Induzida por Isquemia-Reperusão	58
4.2.1. Avaliação dos parâmetros bioquímicos	58
4.3. Colite Aguda induzida por Ácido Trinitrobenzeno Sulfônico	62
4.3.1. Consumo alimentar e Peso corporal	62
4.3.2. Razão Peso/ comprimento do cólon (P/C)	65
4.3.3. Incidência de diarreia e aderências	65
4.3.4. Avaliação microscópica do tecido	66
4.3.5. Avaliação dos parâmetros bioquímicos	69
DISCUSSÃO	71
CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS	82
ANEXOS	103

LISTA DE ABREVIATURAS

Abs	Absorbância
ANOVA	Análise de variância
CL ₅₀	Concentração Letal 50%
DTNB	5,5' - dithil-bis (2-nitrobenzoic acid)
E. P	Erro Padrão
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetraacético
GSH	Glutationa reduzida
h	Hora (s)
L-NAME	<i>l</i> -N ^G -Arginina-Metil-Éster
M	Molar
μM	Micromolar
MDA	Malonaldeído
mg	Miligrama
min	Minuto (s)
mL	Mililitro
MTT	3[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio
nm	Nanômetro
TCA	Ácido tricloroacético
TNB	Ácido trinitrobenzeno sulfônico
EMPs	Extrato metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i>
(i)NOS	Óxido nítrico sintase-(induzível)
(c)NOS	Óxido nítrico sintase-(constitutiva)
NO	Óxido nítrico
SH-NP	Sulfidril não protéico
NAC	N-acetilcisteína
i.p	Intraperitonal

v.o	Via oral
s.c	Subcutânea
SOD	Superóxido dismutase
IU	Índice de úlcera
PG	Prostaglandinas
SUS	Sistema Único de Saúde
DPPH	1,1 Difenil-1-picrilhidrazina
NR	Número de Registro
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Respostas imunes mediadas por células no cólon.	6
2	Árvore (A), folhas (B), frutos e sementes <i>S. pseudoquina</i> (LORENZI, 2008).	21
3	Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa	30
4	Estrutura química de Z1 : 5,7,3',4'-tetraidroxi-3-metoxiflavona	32
5	Efeito do Extrato Metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp) nas lesões intestinais induzidas por ácido acético 4% em ratos	52
6	Efeito do Extrato Metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp) no edema intestinal induzido por ácido acético 4% em ratos.	53
7	Efeito do Extrato metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp) sobre os níveis de glutathiona intestinal reduzida (GSH) na colite por ácido acético 4% em ratos.	55
8	Efeito do Extrato metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp) sobre a atividade da mieloperoxidase (MPO) intestinal na colite por ácido acético 4% em ratos.	56
9	Efeito do Extrato metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp) sobre o malonaldeído intestinal na colite por ácido acético 4% em ratos.	57
10	Efeito do Extrato Metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp) sobre os níveis de glutathiona (GSH) nas lesões celulares induzidas por isquemia - reperfusão em ratas.	59
11	Efeito do Extrato Metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp) sobre a atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) nas lesões celulares induzidas por isquemia - reperfusão intestinal em ratas.	60
12	Efeito do Extrato Metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp) sobre o malonaldeído (MDA) nas lesões celulares induzidas por isquemia - reperfusão em ratas.	61
13	Consumo de ração dos animais após colite induzida por ÁcidoTrinitrobenzeno sulfunico.	63

14	Ação da colite induzida por ÁcidoTrinitrobenzeno sulfônico sobre o ganho peso dos animais	64
15	Fotomicrografias da mucosa do cólon de ratos após indução de colite por TNBS/etanol	68

LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
1	Relação das drogas, reagentes e corantes utilizados.	27
2	Relação dos equipamentos e materiais permanentes a serem utilizados	29
3	Critério de determinação de escore de lesão colônica (Bell <i>et al.</i> , 1995).	38
4	Efeito dos extratos brutos das plantas sobre o peso úmido de intestino com colite induzida por ácido acético.	42
5	Efeito dos extratos brutos das plantas nas lesões macroscópicas induzidas por ácido acético.	43
6	Fitoquímica do extrato metanólico da entrecasca da <i>Strychnos pseudoquina</i>	44
7	Resultados da toxicidade aguda da <i>Strychnos pseudoquina</i> .	45
8	Efeito da administração oral subcrônica do Extrato metanólico da entrecasca da <i>Strychnos pseudoquina</i> sobre diversos parâmetros (peso corporal; consumo de água e ração; eliminação de fezes e urina).	47
9	Efeito da administração oral subcrônica do extrato metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> sobre o peso relativo ^a (%) de alguns órgãos vitais no final de 30 dias.	48
10	Efeito da administração oral subcrônica do extrato metanólico da entrecasca da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp) por 30 dias sobre alguns parâmetros bioquímicos.	49
11	Efeito da administração oral subcrônica do extrato metanólico da entrecasca da <i>Strychnos pseudoquina</i> 30 dias sobre alguns parâmetros hematológicos.	50
12	Efeito dos Tratamentos com Extrato Metanólico da <i>Strychnos pseudoquina</i> (EMSp), Fração Acetato de Etila (Fr), o-Quercetina (Qrc), Mesalazina (Mz), Mz+ EMSp, Mz + Fr, Mz + Qrc no índice de lesão, razão peso/comprimento colônico, incidência de diarreia e aderência, na fase crônica da colite induzida por TNBS em ratos.	63

RESUMO

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA INTESTINAL DE *Strychnos pseudoquina* ST. HIL (FALSA QUINA) EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE INFLAMAÇÃO INTESTINAL. Oliveira, C. R. Dissertação submetida à coordenação do curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, do Departamento de Ciências Básicas em Saúde da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Orientadora: Regilane Matos da Silva.

Doença Inflamatória Intestinal, como são conhecidas a doença de Crohn e a Colite Ulcerativa, compartilham uma série de características comuns, como por exemplo a epidemiologia, as complicações, etc. A etiologia é desconhecida, provavelmente multifatorial. Preconiza-se que indivíduos com predisposição genética, ao interagirem com fatores ambientais desencadeiem uma resposta imunológica descontrolada, originando um processo inflamatório crônico intestinal. A alteração na síntese e liberação de mediadores está implicada na manutenção e amplificação da resposta imune-inflamatória. Tanto os radicais livres como as enzimas proteolíticas dão lugar a formação de mais mediadores inflamatórios, aumentando a permeabilidade da mucosa, favorecendo a entrada de produtos bacterianos prejudiciais, como os lipopolissacarídeos estabelecendo-se um ciclo vicioso responsável pela instauração do prejuízo intestinal crônico que se traduz em um aumento no estresse oxidativo acompanhado da diminuição nas defesas antioxidantes fisiológicas, e compreender estes processos tem sido importante tanto para entender os processos inflamatórios crônicos intestinais quanto para a possibilidade de intervenção terapêutica. Entre as plantas selecionadas no laboratório de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT com atividade antiinflamatória e/ou antiulcerogênica, apenas *Croton urucurana*, *Strychnos pseudoquina*, *Simaba ferruginea* apresentaram resultados nas doses testadas para a diminuição de edema tecidual, verificado pela razão peso/comprimento do cólon, a *S. pseudoquina* apresentou melhor resultado na menor dose, também foram testados a fração acetato de etila e o isolado 3 metil o – quercetina, que foram submetidas a outros modelos de inflamação intestinal em ratos, e os resultados do pré-tratamento com estas substâncias demonstram significativos resultados. A injúria colônica dos animais foi caracterizada bioquimicamente, mediante dosagem dos níveis de Glutathione (GSH), Mieloperoxidase (MPO) e Malonaldeído (MDA). O grupo controle apresentou uma diminuição no conteúdo de GSH e um aumento significativo de MPO colônica assim como de MDA em relação ao grupo droga-padrão nos três modelos utilizados a saber: isquemia/reperfusão, colite induzida por ácido acético, colite induzida por trinitrobenzenosulfônico (TNBS). Ao contrário, os grupos tratados com EMSp (20, 60 e 100mg/kg) e prednisona (1 mg/kg) mantiveram os níveis de GSH, reduzindo a sua depleção de forma significativa ($p < 0,001$ a $p < 0,05$) quando comparados ao grupo controle, também diminuiu a atividade da MPO inibindo a migração de neutrófilos para o local das lesões diminuindo as lesões de membrana celular verificadas pela baixa concentração de MDA quando comparadas ao controle. Pelos resultados obtidos podemos sugerir que a *S. pseudoquina* é segura e possui propriedades antiinflamatórias intestinais e antioxidantes.

Palavras chave: 1. *Strychnos pseudoquina*. 2. Inflamação intestinal. 3. Experimental. 4. Ratos.

ABSTRACT

STUDY OF THE INTESTINAL ANTIINFLAMMATORY ACTIVITY OF *Strychnos pseudoquina* ST. HIL (FALSE QUINO) IN INTESTINAL INFLAMMATION OF EXPERIMENTAL MODELS. Oliveira, C. R. Dissertation Submitted to the Federal University of Mato Grosso, Cuiaba. In Partial Fulfilment for the Award of Masters Degree in Sciences of the Health. Guide: Regilane Matos da Silva.

Inflammatory bowel disease, are known as Crohn's disease and ulcerative colitis, that share a series of common characteristics, such as epidemiology, pathogenesis theories, complications, etc. The etiology is unknown, probably multifactor. It is profess that individual with genetic predisposition, to interact with environmental factors start an uncontrolled immune response, causing a chronic intestinal inflammatory process. The change in the synthesis and release of inflammatory mediators is involved in the maintenance and amplification of immune-inflammatory response. Both free radicals and proteolytic enzymes give rise to formation of more inflammatory mediators, increasing the mucosal permeability, favoring the entry of harmful bacterial products such as lipopolysaccharide setting up a vicious cycle responsible for the establishment of chronic intestinal injury these changes are reflected in an increase in oxidative stress accompanied by a decrease in antioxidant defenses. Understanding these processes is important for both, for understanding the chronic intestinal inflammatory processes and for the possibility of therapeutic intervention. Among the plants selected, in the laboratory of Pharmacology, Faculty of Medical Sciences, Federal University of Mato Grosso – UFMT, with antiinflammatory activity and / or anti-ulcer, only *Croton urucurana*, *Strychnos pseudoquina*, *Simaba ferruginea* performed at the doses tested for the reduction of tissue edema, verified by wet weight per milligram of tissue, and the *S. pseudoquina* showed better results in lower dose, was also tested the ethyl acetate fraction and the isolated methyl 3 - quercetin, which was subjected to other models of intestinal inflammation in rats, and results of pre-treatment with these substances show significant results. The animals colonic injury were biochemically characterized by determination of Glutathione (GSH), Mieloperoxidase (MPO) and malonaldehyde (MDA) levels. The control group showed a decrease in the GSH content and a significant increase in MPO and MDA colonic in the group on the standard drug used in three models namely: ischemia / reperfusion, induced colitis by acetic acid, by trinitrobenzenosulfonico colitis (TNBS). On the contrary, the treated groups with EMSp (20, 60 and 100mg/kg) and prednisone (1 mg / kg) maintained levels of GSH, reducing its depletion significantly ($p < 0,001$ $p < 0,05$) when compared the control group. In addition to the biochemical results obtained, its were also able to reduce both colonic injury macro and microscopically, and has no oral toxicity verified by lack of biochemical and hematological changes, from which we can suggest that *S. pseudoquina* is safe and intestinal anti-inflammatory properties and antioxidant.

Keywords: 1. *Strychnos pseudoquina*. 2. Intestinal inflammation. 3. Experimental. 4. Rats.

INTRODUÇÃO

1. Doença Inflamatória Intestinal

Doença Inflamatória Intestinal (DII) é um termo geral para designar um grupo de doenças inflamatórias crônicas de causa desconhecida envolvendo o trato gastrointestinal. Incluem-se nesta denominação dois grupos principais: colite ulcerativa (CU) e doença de Crohn (DC) que compartilham características comuns ou pelo menos semelhantes. ⁽¹⁻⁴⁾

A DII é um problema de saúde pública em muitos países. Sua prevalência aumentou rapidamente nos países industrializados na segunda metade do século XX, tendendo a se estabilizar posteriormente. A incidência da DC nestes países é de 5 a 8 casos/100 mil habitantes/ano nos Estados Unidos e Europa, com prevalência de 50 a 80/100 mil habitantes, enquanto na CU, esta é de 12/100 mil habitantes nos Estados Unidos. ⁽⁵⁻⁷⁾

Nos países em desenvolvimento, nos quais o estilo de vida ocidental vem ocorrendo, tais taxas estão em ascensão e apontam para a influência ambiental na gênese das DII. As taxas de prevalência, incidência e mortalidade no Brasil ainda são desconhecidas, apesar de relatos regionais, principalmente no Sul e Sudeste, descreverem um aumento no número de casos novos de DC, se comparados ao de CU, possivelmente fruto de um modelo econômico-industrial. ^(8;9)

São mais frequentes em brancos que em negros ou orientais, sendo os grupos mais afetados os anglosaxões dos Estados Unidos e Inglaterra, assim como canadenses e europeus do norte, em geral, com destaque para os judeus, que apresentam maior predisposição, sobretudo, se vivem nos países mencionados. Quanto à frequência de apresentação por sexo parece ser a mesma para os dois gêneros. ⁽⁵⁾

Quanto à idade de apresentação da DII, esta pode ser vista em qualquer momento da vida, porém, o pico de maior frequência se situa entre a segunda e a terceira décadas de vida, admitindo uma apresentação bi-modal, sobretudo na DC, com um segundo pico na sexta década. Em qualquer caso não é infrequente ver pacientes menores de 10 e maiores de 70 anos, com uma primeira manifestação tanto de CU quanto da DC. Há ainda um agrupamento familiar da doença, calculando-se que pelo menos 5% dos pacientes apresentam algum familiar também afetado. ^(5; 10)

Os principais sintomas da DII são dores abdominais, sangramento retal, diarreia severa, febre e perda de peso, variando unicamente a aparição de uns ou outros com a localização do processo inflamatório no intestino delgado ou no cólon, e dentro deste, segundo qual seguimento esteja afetado ⁽¹⁾. A histologia revela presença de elevado número de células polimorfonucleares (neutrófilos), monócitos e linfócitos no interstício delgado e colônico, extensos dano na mucosa, incluindo edema, diminuição na produção do muco, hiperplasia das células da cripta, erosões e ulcerações. ⁽¹¹⁾.

Para se chegar a um diagnóstico de DII, a suspeita clínica ainda é o principal fator diante de qualquer paciente apresentando diarreia, dor abdominal, febre, retorragia, malnutrição, fístulas, etc. Este se apoiará em dois grandes pilares: a endoscopia e a radiologia, com a colaboração da anatomia patológica quando, no curso de uma intervenção cirúrgica ou uma endoscopia, se hajam tomado amostras teciduais suficientes. A análise laboratorial, por outro lado, oferece somente informação complementar, porém específica, sobre a gravidade e repercussão da enfermidade naquele dado momento. ⁽¹²⁾

A inexistência de um exame único (*padrão ouro*) torna necessário associar dados clínicos, exames sorológicos, radiológicos, endoscópicos e histológicos para a realização do diagnóstico. ^(13; 14)

A etiologia da DII é desconhecida, provavelmente multifatorial. ⁽⁵⁾ Preconiza-se que indivíduos com predisposição genética, ao interagirem com fatores ambientais (prováveis gatilhos da doença) desencadeiem uma resposta imunológica descontrolada, originando um processo inflamatório crônico intestinal. ⁽¹¹⁾ Na progressão da doença podem surgir perfurações, obstruções e até tumores intestinais. As poucas modificações evolutivas da DII com o tratamento tende a provocar grande impacto na capacidade laboral, na qualidade de vida e nos aspectos sócio-econômicos dos pacientes e familiares. ⁽¹⁵⁾

Os últimos anos têm mostrado um imenso progresso na compreensão genética das DII. As primeiras descrições incluíam observações de possível fator familiar comum à doença ⁽¹⁶⁾, de modo que o aumento de casos descritos em membros de uma mesma família poderia ser devido a um fator genético ou então ao fato de compartilharem os mesmos fatores ambientais ⁽⁵⁾ porque não é incomum encontrar membros de uma família que são geneticamente independentes (especialmente cônjuges) em que os dois apresentam DII. ⁽¹⁷⁾

Estudos epidemiológicos têm caracterizado um risco aumentado para parentes consangüíneos de pacientes com DII, demonstrando que estes apresentam risco de oito a dez vezes maior de desenvolver a doença que o restante da população ⁽¹⁸⁾. Esta informação é consistente com a existência de genes de suscetibilidade específica para DC e CU, assim como de suscetibilidade comum a ambas. ^(18; 19; 20)

As coincidências genéticas assinaladas poderiam ser simplesmente devidas às exposições comuns a uma série de fatores ambientais não conhecidos, fortalecendo esta hipótese, estaria à frequência cada vez maior em certos países que mudaram o modelo de desenvolvimento, passando de um modelo rural a outro mais industrial e/ou urbano, especialmente na segunda metade do século XX. ⁽²¹⁾

Fatores ambientais que parecem estar envolvidos na patogênese das DII incluem: o tabagismo, a dieta, a situação social, o estresse, fármacos como antiinflamatórios não-

esteroidais (AINES) e microorganismos, porém, até o momento nenhum agente infeccioso ou fator ambiental isolados foram identificados. ^(22;23)

O melhor exemplo da influência do ambiente nas DII é o tabagismo. Este apresenta um efeito contrário na DC e na CU, apoiando a idéia de que mecanismos distintos estão implicados na patogênese em cada forma da DII. ⁽²⁴⁾ O tabagismo é um importante fator de risco para a DC, aumentando as recidivas e a necessidade de cirurgias, sendo que a interrupção do seu consumo melhora o andamento da doença ⁽²⁵⁾. Ao contrário, os pacientes com CU tabagistas apresentam risco aumentado de agravo do seu quadro clínico quando deixam de fumar, sugerindo o papel protetor do tabaco nesta doença. ^(24; 25;26)

Os mecanismos deste efeito diferencial do tabaco na DC e na CU não são claros, mas sabe-se que o tabagismo afeta tanto à imunidade sistêmica como à da mucosa intestinal, alterando numerosas funções imunes tanto inatas como adquiridas. ⁽²⁷⁾ Sendo provável que a nicotina seja o agente ativo mais importante entre os metabólitos gerados pelo tabaco, estudos mostraram que a nicotina transdérmica apresenta um efeito benéfico em pacientes com CU leve a moderada. ^(28; 29) Em distintos modelos experimentais de colite, observa-se que a administração de nicotina melhora a doença, coincidindo com uma diminuição local da concentração de várias citocinas pró-inflamatórias. ⁽³⁰⁾

Levando em consideração que a maior incidência das DII pode ser associada à mudança nos hábitos de vida nos países ocidentais e que o intestino é o alvo do processo inflamatório, seria possível que alguns nutrientes presentes na luz intestinal pudessem atuar como antígenos, influenciando os mecanismos imunes e reparadores da mucosa intestinal. ⁽³¹⁾

O consumo de gordura saturada está associado a uma piora na CU; por outro lado, estudo realizado por Barbosa et al. (2003), ³² com óleo de peixe rico em ômega-3, mostrou efeito antiinflamatório em pacientes com CU. O consumo de frutas, vegetais e fibras parecem reduzir o risco das DII. ^(32;33)

Outros fatores, como o uso dos anticoncepcionais orais e AINEs, têm sido muito estudados como fatores de risco para a DII. Alstead (1999)³⁴ sugere que o uso concomitante de anticoncepcionais orais com a DII ativa pode agravar a evolução da doença através do risco de tromboembolismo, embora os mecanismos fisiopatológicos sejam pouco conhecidos; por outro lado, pacientes em remissão clínica podem sofrer recaídas após a administração de AINEs. ⁽³⁴⁻³⁷⁾

Diferentes observações clínicas e estudos laboratoriais exibem evidências de que o estresse pode modular o rumo da DII provavelmente através de interações neuroimune. A duração do estresse pode estar envolvida com a exacerbação da DII, visto que somente o estresse prolongado parece agravar a doença. Embora os mecanismos específicos envolvidos sejam desconhecidos, vários fatores poderiam contribuir para a exacerbação, como o sistema nervoso, endócrino e imune. ⁽³⁸⁻⁴¹⁾

Outro fator ambiental que desde o principio se pensou estar associado à etiologia da DII são os agentes infecciosos intestinais, especulando-se como causa diferentes microorganismos dos gêneros: *Mycobacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Clostridium sp.*, *Yersinia sp.*, e recentemente partículas virais, sem poder demonstrar nunca uma verdadeira relação com nenhum destes pressupostos agentes. Porém, a maior incidência da doença se dá em países desenvolvidos, onde a taxa de infecções intestinais é irrefutavelmente menor que nos países subdesenvolvidos. ⁽⁴²⁾

Dentre todas as teoria etiológicas, a imune é a mais aceita até o momento, o mecanismo imunológico ficou em evidência quando se comprovou a associação da DII com manifestações extra-intestinais, principalmente artropatias e afetações oculares e hepáticas, interpretadas como fenômenos autoimunes, e que, ademais, respondiam terapêuticamente em muitas ocasiões a corticóides e imunossupressores. ^(43- 46)

Diferentes estudos têm mostrado que as células T auxiliaadoras tipo-1 (Th1) estão envolvidas na imunidade mediada por células contra alguns agentes infecciosos (bactérias, fungos e protozoários), e este tipo de resposta imune envolve também a ativação de macrófagos e outros linfócitos para a liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e IL-12, espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, tendo como resultado a o recrutamento de célula fagocíticas (macrófagos e neutrófilos) para o intestino, onde os antígenos invasores são fagocitados e destruídos. Este é o mecanismo primário pelo qual o lúmen do intestino se protege dos patógenos, sendo a falha deste mecanismo o evento chave envolvido na patogênese das DII (**Figura 1**).⁽⁴⁷⁻⁵⁰⁾

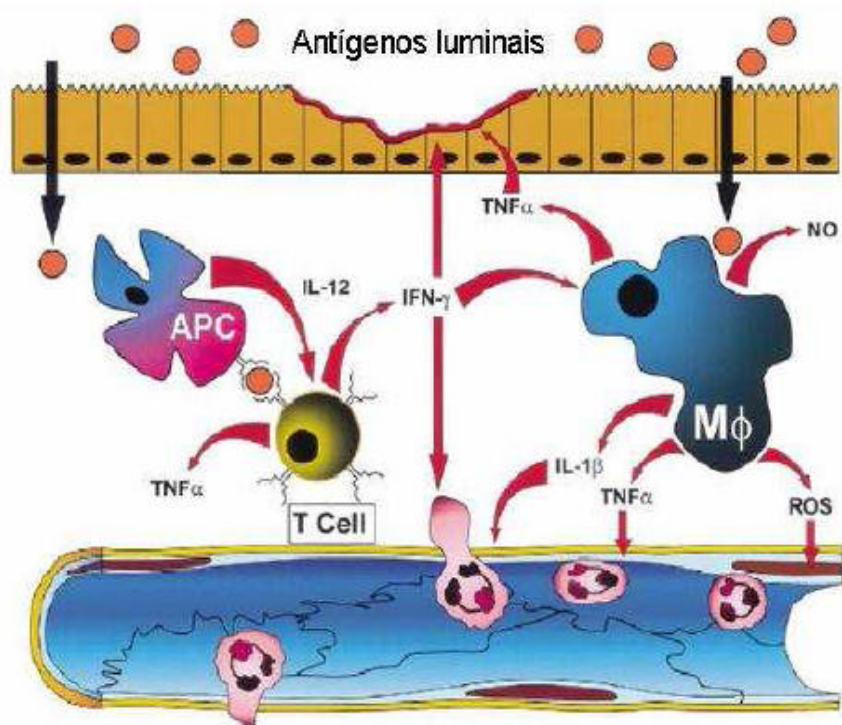


Figura 1. Respostas imunes mediadas por células no cólon. Células apresentadoras de antígenos (APCs) fazem endocitose, processam e apresentam antígenos luminiais que continuamente ganham acesso ao interstício da mucosa. A interação entre APCs e células-T (T cell) ativa estas a produzirem Interleucina 2 (IL-2) e interferon-gama (IFN-g), os quais ativam macrófagos teciduais a liberarem uma variedade de citocinas pró-inflamatórias e mediadores incluindo TNF- α , IL-1 β , IL-12, NO e ROS. IL-12 retroalimenta as células T efetoras a induzir diferenciação de células T auxiliaadoras-1 (Th-1). Citocinas e mediadores derivados de Th-1 e macrófagos ativam o endotélio microvascular para aumentar a expressão de moléculas de adesão, desse modo promovendo o recrutamento de leucócitos citotóxicos como polimorfonucleares. O resultado é a destruição de patógenos invasores. A resposta imune da mucosa descontrolada pode resultar em injúria tecidual (PAVLICK et al., 2002).

Um estudo funcional com macrófagos isolados de intestino normal revelou que estas células estimulam ainda mais a produção de IgG por células mononucleares, sugerindo a existência de uma correlação entre os macrófagos e a exacerbação da resposta imune local, pois durante uma reação inflamatória os monócitos do sangue periférico migram em grande número para os tecidos. ⁽⁵¹⁻⁵⁴⁾

A adesão de leucócitos circulantes no endotélio intestinal é outro fator importante no desenvolvimento de um processo inflamatório, e isto depende da expressão coordenada de moléculas de adesão nas células endoteliais, incluindo a molécula de adesão intracelular (ICAM-1) e selectina –E. ⁽⁵⁵⁾

Concentrações elevadas destas duas moléculas foram detectadas em biópsias de mucosas inflamadas de pacientes com DII, sugerindo alvos de ação imunofarmacológica na tentativa de conter o processo inflamatório. ⁽⁵⁶⁾

O fator de transcrição nuclear NF-KB é outro alvo imunofarmacológico, por sua capacidade de regular a expressão de vários genes envolvidos na modulação da resposta imunitária intestinal através da regulação de genes de citocinas, além de regular os genes que codificam outros fatores de transcrição e moléculas de adesão. ⁽⁵²⁾ E por ser encontrado em níveis elevados no epitélio e na lâmina própria da mucosa inflamada de pacientes com DII. ⁽⁵⁷⁾

1.1. Doença de Crohn (DC)

A doença de Crohn pode afetar qualquer segmento do tubo digestivo, incluindo o cólon, podendo fazê-lo de forma simultânea em vários deles, ainda que neste caso praticamente nunca de forma contínua. O processo inflamatório se estende por todas as camadas da porção intestinal afetada, inclusive a serosa, e em algumas ocasiões os gânglios regionais. ⁽⁴⁾

Na DC, os linfócitos T auxiliares ativados da mucosa intestinal geram uma resposta predominantemente do tipo Th1, manifestada pela produção de IFN- γ , ativação de macrófagos e amplificação da produção de citocinas pró-inflamatórias, favorecendo a resposta de hipersensibilidade tardia. ⁽⁴⁾

Macroscopicamente o mais característico é a possibilidade de comprometimento de todo o tubo digestivo, desde a boca até o ânus. ⁽⁵⁸⁾

Microscopicamente, o mais característico da DC é o comprometimento de praticamente todas as camadas do seguimento intestinal afetado, podendo comprometer o mesentério e gânglios regionais, com um processo inflamatório pouco específico, que ao atingir toda a espessura da mucosa, provoca-lhe espessamento, estenosando-lhe a luz. A mucosa perde suas pregas e aparecem ulcerações, que nesta patologia costumam ser mais irregulares, serpiginosas, e que penetraram profundamente a parede intestinal, chegando a perfurá-la, para produzir fístulas típicas. ^(2; 3;59;60)

1.2. Colite ulcerativa (CU)

A Colite ulcerativa, como o próprio nome diz, afeta somente o intestino grosso, sempre de forma confluenta, indo do reto (proctites) nos casos menos graves, até toda a longitude do cólon (pancolite ulcerativa) sendo que nesta doença o processo inflamatório se limita à mucosa e em ocasiões específicas à submucosa. ⁽⁵⁾

Predomina a resposta do tipo Th2, produção preferencial de IL-4 e IL-5, que favorece a imunidade humoral, estimulando a diferenciação de linfócitos B e a produção de anticorpos, sendo que a secreção de IL-10 e IL-13 pelos linfócitos Th2 ainda pode exercer efeito inibitório sobre a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos linfócitos Th1. ^(52,53)

A superfície comprometida pode apresentar-se ulcerada, hiperêmica e habitualmente hemorrágica, freqüentemente coberta de exsudato, friável e sem áreas de mucosa íntegras entre as ulceradas. As lesões costumam ser regulares com halo de eritema nas primeiras fases, por vezes indistinguíveis de processos infecciosos. À medida que o paciente melhora, observa-se a aparição de mudanças crônicas, sobretudo em forma de pseudopólipos (verdadeiros pólipos inflamatórios), que podem ser incontáveis, assim como pontes mucosas (expressão da regeneração da mucosa entre as úlceras) e processos de fibrose e retração. ⁽⁶¹⁾

O mais habitual na CU é a reação inflamatória do epitélio superficial e das criptas, com infiltração sobretudo de neutrófilos. A reação inflamatória na superfície da luz, à medida que progride, provoca erosão e logo a úlcera, podendo em algumas ocasiões chegar à submucosa e, muito raramente, penetrar até a serosa e perfurar o intestino. ^(62;63)

Quando a doença atinge o intestino grosso, os sintomas que se apresentam dependerão fundamentalmente do segmento implicado, de forma praticamente indistinguível em ambas as patologias, pois no caso da DC é comum denominar esta forma clínica de colite granulomatosa. ⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾

A retorragia é o sintoma mais freqüente, apresentando grandes variações tanto no aspecto do sangramento quanto em sua quantidade. A diarreia é o sintoma mais habitual da inflamação do cólon após a retorragia e a dor pode apresentar-se com cólicas características, localizada na metade inferior do abdômen ou periumbilical. Em alguns pacientes o principal sintoma é o tenesmo retal, indicando comprometimento da porção distal ⁽⁶⁷⁾. Outros sintomas que podem aparecer são a febre, que raramente será elevada (até 38°C); comprometimento do estado geral do paciente, com anorexia, perda de peso, astenia, etc. dependendo sempre da intensidade, duração e extensão do processo inflamatório. ^(66; 1)

1.3. Mediadores inflamatórios e a DII

A alteração na síntese e liberação de mediadores inflamatórios está implicada na manutenção e amplificação da resposta imune-inflamatória. Este pode ser desencadeado por vários mecanismos: após a ativação dos macrófagos e dos granulócitos, é liberada uma grande variedade de mediadores inflamatórios, que terminaram por levar o dano tecidual direto de diferentes maneiras. ⁽⁵⁶⁾

Wallace (1994) ⁶⁷ observou um grande aumento na síntese colônica de Leucotrieno B₄ (LTB₄) em pacientes com DII. Sabe-se que o LTB₄ é um agente pró-inflamatório com capacidade quimiotática e ativadora de neutrófilos, sendo um mediador característico nas lesões inflamatórias agudas, e possível responsável por grande parte da destruição celular e necrose que caracterizam a doença. ^(67; 68)

O dano tecidual ocorre devido à secreção de distintas proteases e de mieloperoxidase, assim como à geração de radicais livres derivados do oxigênio e do nitrogênio. Na DII, as espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas em excesso pelos leucócitos ativados na mucosa inflamada e desempenham um papel chave na gênese e manutenção da DII. ⁽⁷⁰⁻⁷³⁾

As EROs são geradas a partir da redução parcial de oxigênio que ocorre nos sistemas biológicos e são potencialmente lesivas para proteínas, ácidos nucleicos e lipídeos. O peróxido de hidrogênio atravessa facilmente as membranas celulares e ao receber mais um elétron (normalmente do ferro ou do cobre) origina o radical hidroxila, altamente lesivo e capaz de reagir com quase todas as substâncias orgânicas. ^(74; 75)

O ataque dos radicais livres sobre os lipídeos de membrana gera o processo de peroxidação, dando lugar a uma reação em cadeia que perpetua o ciclo de formação destes agentes agressores, ao mesmo tempo em que origina uma desestruturação da membrana celular com a conseqüente morte da célula. Os radicais livres também podem reagir com

proteínas, dando lugar a alterações da funcionalidade normal da célula. Finalmente, quando os ácidos nucléicos são afetados pelos radicais livres, podem-se originar mutações no material genético celular, levando a uma síntese protéica defeituosa ou desenvolvimento de processos do tipo tumoral. Este último poderia justificar a maior incidência de câncer colo-retal descrito em pacientes com colite ulcerativa. ^(76;77)

Embora seja evidente que o óxido nítrico (NO) é um mediador chave nos processos de inflamação intestinal, há atualmente uma enorme controvérsia em relação ao papel deste mediador na fisiopatologia da inflamação intestinal. No entanto, tem-se observado que o sistema enzimático envolvido na síntese do NO é importante, mas depende também do estágio (agudo ou crônico) em que se encontra o processo inflamatório. ^(78;79)

A inibição na síntese de NO em modelo experimental de colite revelou uma diminuição significativa da lesão tecidual. Estes agentes pró-inflamatórios promovem, em primeiro lugar, a aderência dos fagócitos no endotélio vascular e o seu extravasamento para a mucosa intestinal e, em segundo lugar, a liberação de radicais livres, assim como de enzimas proteolíticas no espaço intersticial. ⁽⁸⁰⁻⁸²⁾

Lih-Brody et al., (1996) ⁽⁸³⁾ comprovaram a existência de alterações oxidativas em biopsias de mucosa de cólon procedentes de pacientes com DII. A inibição ou neutralização destes radicais livres, juntamente com ativação dos sistemas antioxidantes endógenos, tanto enzimáticos como não-enzimáticos, poderia ser benéfico no tratamento da DII. ^(56; 83)

1.3.1. Defesas antioxidantes e a DII

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que, em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, retardam ou previnem a oxidação desse

substrato. Deste modo, atuam como protetores contra a oxidação de biomoléculas por radicais livres e impedem a reação em cadeia provocada pelos mesmos. ⁽⁸⁴⁾

As principais defesas enzimáticas antioxidantes são: a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e Glutathione peroxidase (GPX); além disso, antioxidantes não enzimáticos, como a glutathione reduzida (GSH), tocoferol (vitamina E) e ácido ascórbico (vitamina C), entre outros, auxiliam no combate as EROs. Com exceção da vitamina E, que é um antioxidante estrutural de membrana, a maior parte dos agentes antioxidantes está no meio intracelular. ⁽⁸⁵⁻⁸⁷⁾

Por isso atualmente fármacos que possuem atividade antioxidante são usados no tratamento da DII, tais como os derivados do ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), cujas propriedades antioxidantes contribuem para seus efeitos benéficos no processo inflamatório colônico. Infelizmente, apesar de estes, representam a primeira opção terapêutica para o tratamento da DII ainda apresentam sérios efeitos colaterais, especialmente quando usados em altas doses ou durante longos períodos de tratamento, aspecto que limita seu uso, visto que a DII é um processo crônico. ^(11;88)

1.4. Tratamento da DII

Tratando-se de uma enfermidade de natureza crônica, com períodos de remissão e recidivas, é fundamental o controle periódico e o devido suporte emocional. Habitualmente não há necessidade de acompanhamento psiquiátrico e/ou psicológico concomitantemente, nem da utilização de agentes antidepressivos e ansiolíticos, porém, em certas situações, algumas destas medidas podem ser indicadas. ⁽⁸⁹⁾

Medicações antidiarréicas e anticolinérgicas devem ser administradas com cautela, pois podem desencadear o megacolon tóxico. Da mesma forma, o consumo de AINES,

mesmo os mais modernos, deve ser evitado, pois podem exacerbar a doença. Lembrar que, na DC, o tabagismo, ao contrario da CU, piora a doença e aumenta a frequência de recaídas pós-operatórias são medidas gerais que devem ser observadas. ⁽⁸⁹⁾

A sulfasalazina (SSZ) foi desenvolvida no final dos anos 30 para o tratamento da artrite reumatóide e, casualmente, mostrou-se eficaz na CU. Quando ingerida, a SSZ é desdobrada, no cólon, por ação bacteriana, em sulfapiridina (grandemente absorvida) e ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) (pouco absorvido), sendo que este último é o princípio ativo do medicamento, agindo de forma tópica. Entre os vários mecanismos de ação do 5-ASA estão a inibição da produção de leucotrienos e de anticorpos, e a capacidade de assimilação de radicais livres. ⁽⁹⁰⁾

Efeitos colaterais com SSZ têm sido relatados em até 45% dos pacientes, geralmente dose-dependentes e relacionados com altos níveis séricos de sulfapiridina e ocorrendo principalmente em indivíduos com baixa capacidade genética de acetilação hepática da droga. Menos frequentemente, os efeitos colaterais do tratamento com SSZ podem ser por hipersensibilidade: febre, *rash*, linfadenopatia, Síndrome de Stevens-Johnson, agranulocitose, hepatite, pancreatite, exacerbação da diarreia etc. Assim, em virtude dos efeitos colaterais da SSZ foram desenvolvidas estratégias farmacológicas para melhorar a liberação do 5-ASA. ^{(91;}
⁹²⁾

Os corticóides também fazem parte deste arsenal terapêutico e constituem os medicamentos de escolha para casos moderados e graves de DII, porém apresentam uma grande frequência de casos corticóide-resistentes e corticóide-dependentes, variando de 8 a 20% e de 15 a 36%, respectivamente. Na CU a frequência de resistência ao corticóide (29%) costuma ser maior que a da dependência (<10%). ⁽⁹³⁾

Além de apresentarem resistência e dependências em grande número dos pacientes, seus efeitos colaterais, bastante conhecidos são outro inconveniente, particularmente quando

usados por tempo prolongado, terminam levando a aumento do apetite e do peso, edema, insônia, labilidade emocional, psicose, acne, Síndrome de Cushing, osteoporose, osteonecrose, retardo do crescimento, supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, infecções, miopatias, cataratas, atrofia de pele, estria, equimose, diabetes, hipertensão, glaucoma e pancreatite aguda. ⁽⁸⁹⁾

Por este motivo foram desenvolvidos novos corticóides, na tentativa de diminuir estes efeitos. Dentre as novas opções terapêuticas, o mais estudado tem sido a budesonida, que é rapidamente metabolizada (cerca de 90%) em produtos inativos logo após sua primeira passagem pelo fígado diminuindo os efeitos colaterais sendo na CU ativa, equivalente ao 5-ASA tópico e melhor que os corticóides tópicos tradicionais. ⁽⁹⁴⁾

Nos casos onde se encontra resistência ou dependência aos corticoides os imunomoduladores, a azatioprina (AZA) e a 6-mercaptopurina (6-MP), a cloroquina, a ciclosporina e o metotrexato, mais recentemente, tacrolimus e micofenolato mofetil tem sido testados, facilitando a redução da dose do corticóide e sendo de grande utilidade para evitar recaída pós-operatório na DC. ⁽⁹⁵⁻⁹⁷⁾.

Sem dúvida, os imunomoduladores mais estudados e com os quais há considerável experiência acumulada são AZA e a 6MP, são potentes imunossuppressores, inibindo a atividade de linfócitos T e B, além das células NK, inibindo, em altas doses, a síntese de prostaglandinas. ^(96; 97)

Após a absorção, a AZA é rapidamente convertida em 6-MP nas hemácias, havendo geração de metabolitos ativos. ^(98; 99)

Os efeitos colaterais da AZA e 6MP ocorrem em torno de 15% e podem ser de natureza alérgica, como febre, *rash*, mal estar, náuseas, vômitos, dor abdominal, diarréia, hepatite e pancreatite ou não alérgica, como depressão medular (pancitopenia), infecções,

alterações de enzimas hepáticas e neoplasias. A leucopenia, segundo alguns autores, parece ser benéfica no tratamento e deve ser monitorada. ⁽¹⁰⁰⁾

A frequência de infecções e de neoplasias é semelhante à esperada na população com DII sem uso de AZA e 6-MP e, portanto o seu uso deve se contrapor às complicações, limitações, incapacitações e efeitos deletérios da DII em atividade. ^(101; 102)

O metotrexato (MTX), outro imunossupressor é um antagonista do folato e interfere na síntese de DNA, agindo sobre a atividade de mediadores inflamatórios, bloqueando a ligação da IL-1 ao seu receptor e reduzindo a síntese de IL-2, IL-6, IL-8, INF- γ e LTB₄. As reações adversas ocorrem em 10 a 25% dos pacientes e incluem: náuseas, diarreia, estomatite, leucopenia, alopecia, elevação de transaminases, pneumonia por hipersensibilidade, fibrose ou cirrose hepática, sendo as duas últimas as mais temidas e graves. A administração concomitante de ácido fólico ajuda na prevenção da estomatite, diarreia e toxicidade medular. O MTX é teratogênico e pode causar aborto sendo, portanto, contra-indicado em mulheres que desejam engravidar. ⁽¹⁰³⁻¹⁰⁵⁾

Tacrolimus é um antibiótico macrolídeo com propriedades imunomoduladoras e eficaz na prevenção de rejeição pós-transplante. Age de forma semelhante à ciclosporina, porém, sua ingestão oral é seguida de melhor absorção, mesmo diante de mucosa lesada. Diante de tantos agentes terapêuticos e uma diversidade de efeitos colaterais a terapia biológica constitui mais uma alternativa para este arsenal. ⁽¹⁰⁶⁾

Uma outra linha de pesquisa para o tratamento da DII, que tem como principal objetivo avaliar a eficácia do bloqueio seletivo de mediadores inflamatórios, bem como do incremento da imunidade inata, é genericamente denominada de terapia biológica, uma vez que age em mediadores e fenômenos naturais e fisiológicos. ⁽¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾

Seguindo esta linha de pesquisa temos os prebióticos, probióticos e simbióticos que modificam a microbiota intestinal e normalizam o conteúdo de *Bifidobacteria* e *Lactobacilli*, alterações estas que acabam por reduzir o contingente antigênico imposto às células imunológicas da lâmina própria intestinal. Além disso, estimulam a secreção de mucina e de TGF- β , melhorando a defesa do trato gastrointestinal. Os probióticos também apresentam ações imunomoduladoras, pela capacidade de reduzir citocinas pró-inflamatórias (p.ex.: IL-1, IL-8, TNF- α etc.) e aumentar citocinas antiinflamatórias como a IL-10. Recentemente, o probiótico *Lactococcus lactis*, foi capacitado para secretar IL-10 e fator trefoil por engenharia genética, fazendo com que além dos benefícios inerentes ao probiótico se obtenha ação direta antiinflamatória, imunomoduladora e reparadora sobre a mucosa inflamada. ^(110;111)

A administração do fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) é outra forma de melhorar a imunidade inata do organismo. Nos casos em que a imunidade adquirida está exacerbada, é possível bloquear a IL-12 (com o anti-IL-12 ou ABT-874), a IL-2 (com o anti-IL-2, daclizumabe e basiliximabe), o interferon- γ (com o anti-INF- γ , fontolizumabe ou HuZAF), os clones de células T CD4 positivas (com o anti-CD3, visilizumabe ou HuM291), as moléculas de adesão como a integrina $\alpha 4$, a integrina $\alpha 4 \beta 7$ e a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM 1) e finalmente, o fator de necrose tumoral (TNF- α) através do infliximabe, diminuindo desta forma o processo inflamatório. ⁽¹¹²⁾

Muitas dessas terapias ainda estão em fase experimental, entretanto, os resultados preliminares são encorajadores. A droga mais testada, e já comercializada no Brasil, é o infliximabe, com resultados favoráveis tanto na DC quanto na CU. ⁽¹¹³⁻¹¹⁵⁾

Outros anticorpos anti-TNF- α tem sido desenvolvidos, na maioria de origem humana, numa tentativa de reduzir os efeitos colaterais, tais como o certalizumabe e o adalimumabe. Estes anticorpos estão sendo testados, no que tange a sua capacidade de induzir apoptose, permitindo que o anti-TNF- α seja eficaz na DC. ⁽¹¹⁶⁾

A terapia biológica tem constituído um importante avanço no tratamento da DII, e as pesquisas neste campo certamente continuarão na busca de medicamentos mais eficazes e de fácil administração, com menos efeitos colaterais e com impacto sobre a história natural da doença. ⁽¹¹⁶⁾

Aliada a esta linha de pesquisa caminha os estudos com plantas medicinais, que vem sendo testadas ao redor do mundo, quanto suas inúmeras propriedades farmacológicas e terapêuticas.

2. Plantas Mediciniais e DII

Numa busca incessante de alternativas terapêuticas para a DII muitas plantas estão sendo testadas em diversos modelos animais de DII, algumas com excelentes resultados entre elas está o óleo-resina de *Copaifera langsdorffii* que demonstrou atenuar as injurias causadas pela isquemia/reperfusão intestinal induzida em ratos diminuindo as EROs , o óleo-resina também apresentou bom resultados no modelo de colite induzida por ácido acético no qual parâmetros bioquímicos de avaliação da doença diminuirão significativamente comparadas ao controle. ^(119; 120)

Muitas outras substâncias estão sendo utilizadas ao redor do mundo no intuito de produzir melhoras na clínica da DII. Um estudo proveniente da Grécia cita várias destas substâncias: *Mastic gum* (produto obtido de uma árvore que cresce exclusivamente na Grécia), *Glabridin* (componente funcional de um licor), extrato de *Scutellariae radix*, as propriedades antioxidantes do extrato de *Tormentil*, *Wormwood herb*, *Guggulsterone* um esteroide de origem natural demonstrou possuir propriedades antiinflamatórias, melhorando a qualidade de vida de pacientes com DII, todas estas testadas em estudo duplo-cego com 40 pacientes. Temos ainda o *Crataegifructus*, a *Aloe vera* e o *Triticum aestivum*, assim como os polifenóis da dieta, que são a maior fonte de antioxidantes consumida pelo ser humano. ⁽¹²¹⁾.

El-Abhar et al (2008) ⁽¹²²⁾ também puderam verificar que o extrato de gengibre diminuía os danos intestinais causados pela colite induzida em modelos animais, nos quais houve preservação tecidual e inibição na produção de EROs, frente ao pré-tratamento com o extrato de gengibre em diferentes concentrações. ⁽¹²²⁾

Neste sentido ao analisarmos a ação de um fitofármaco deve-se considerar que este é composto por diversos constituintes, dos quais os metabólitos secundários são os mais relevantes em termos de ação farmacológica, dentre os metabólitos secundários podemos citar os: ácidos carboxílicos fenólicos, fenóis simples, flavonóides, taninos e derivados de fenilpropanos, triterpenos, esteróides e sesquiterpenos. ⁽¹¹⁸⁾ Destes constituintes iremos nos ater aos flavonóides por ser o principal constituinte da *Strychnos pseudoquina*.

2.1. Flavanóides derivados de plantas

Os flavonóides são estruturas polifenólicas de baixo peso molecular encontradas naturalmente nas plantas. Esses metabólitos secundários são de grande importância na manutenção da saúde de muitos animais herbívoros, incluindo o homem. ⁽¹²³⁾

Nos últimos anos, o interesse pelas propriedades farmacológicas e bioquímicas destes compostos tem crescido bastante, principalmente pela sua atividade antiinflamatória. Para explicá-la tem-se estudado suas propriedades antioxidantes, tais como: sua ação inibitória de enzimas, sua excelente capacidade de quelar metais, como o ferro, e sua atuação como sequestrador de radicais de oxigênio (EROs), uma vez que a presença destes tem sido relacionada a evolução de doenças crônicas, torna o uso de antioxidantes uma promissora alternativa terapêutica para enfermidades de evolução crônicas. ⁽¹²³⁾

Estudos demonstraram que os flavonóides inibem a liberação de histamina e o aumento da permeabilidade capilar induzido por ela, assim como a anafilaxia observada em

cobaias, sendo que os flavonóides também atuam na inibição da enzima lipoxigenase que converte o ácido araquidônico em leucotrienos que são mediadores da asma, alergia e inflamação, por apresentar todas essas propriedades é um promissor agente no tratamento de doenças crônicas, como dito anteriormente. ⁽¹²⁴⁾

Os flavanóides mais eficientes na inibição dessas enzimas são a quercetina, a morina, a hesperidina, a rutina, a cianidina e a miricetina. Alguns flavonóides possuem efeitos anticancerígenos. Uma das hipóteses que melhor explica essa função é atividade antioxidante destas substâncias os quais inibem os danos oxidativos ao DNA evitando danos estruturais ao conteúdo genético. Sabe-se também que os flavonóides provenientes das plantas têm a função de protegê-las do ataque de microorganismos, através da inibição da germinação do esporo de patógenos. Dessa forma a ingestão dessas plantas está associada com uma conseqüente proteção contra esses microorganismos. ⁽¹²⁴⁾

Além disso, a capacidade citoprotetora dos flavonóides pode estar ligada com sua habilidade em ativar moléculas como as quinases, fosfatases e promotores gênicos, que ativam uma série de outras moléculas. ⁽¹²⁴⁾ Essas informações foram fundamentais para despertar interesse quanto as suas potencialidades na DII por ser também uma doença crônica e inflamatória, alguns estudos têm sido conduzidos na tentativa de verificar seus potenciais efeitos antiinflamatórios intestinais. ⁽¹²⁵⁾

2.2. *Strychnos pseudoquina* St. Hil

A família Loganiaceae pertence à ordem Gentianales constituindo um grupo com cerca de 30 gêneros e 600 espécies, que se encontram distribuídas predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. ⁽¹²⁶⁻¹²⁹⁾

Sendo muitas delas conhecidas pelo seu potencial medicinal e/ou tóxico, a mais conhecida destas substâncias é a estricnina, um dos alcalóides indólicos produzidos por plantas deste gênero. A grande maioria destas espécies ocorre na forma de cipós ou arbustos de pequeno porte e podem ser encontradas nas Américas do Sul e Central, na África, na Ásia e na Austrália, ⁽¹²⁸⁻¹³¹⁾

2.2.1. Fitoquímica e Farmacologia

As espécies *Strychnos* têm sido bastante estudadas durante as últimas décadas. Esses grupos de plantas apresentam propriedades: curarizantes, tetanizantes, antiplasmodiais ⁽¹³²⁻¹³⁵⁾, citotóxicas ^(135; 136), antibacterianas ⁽¹³⁷⁾, antifúngicas ⁽¹³⁸⁾ antidiarréicas ⁽¹³⁹⁾, diuréticas ⁽¹⁴⁰⁾, espasmódicas ⁽¹⁴¹⁾, hipotensoras. ^(142; 143)

Phillip, (2004) ⁽¹²⁸⁾ menciona que as espécies americanas produzem alcalóides derivados da estricnina e, por isso, causam efeitos tetanizantes; cita ainda que as espécies asiáticas produzem alcalóides que causam efeitos curarizantes. O curare é um veneno de origem vegetal preparado por algumas tribos de índios que vivem nas regiões montanhosas e cobertas de matas da América Equatorial, tendo aspecto de alcatrão, e possuindo sabor muito amargo. Pode ser produzido por dois grupos de plantas: as do gênero *Chondrodendron* (família Menispermaceae, *C. tomentosum*, *C. toxicofera* e *C. candicans*), cuja principal classe de alcalóides é a dos isoquinolínicos, e aquelas do gênero *Strychnos* (Loganiaceae), que produzem os alcalóides indólicos monoterpênicos. Por suas diversas propriedades tóxicas, o curare é usado pelos índios tanto na caça quanto na guerra. ^(128; 144; 145)

Várias espécies de *Strychnos* com propriedades tóxicas são usadas na elaboração do curare, como por exemplo: *S. amazonica*, *S. castelnaeana*, *S. divaricans*, *S. fendleri*, *S. froessi*, *S. gardneri*, *S. guianensis*, *S. macrophylla*, *S. melinoniana*, *S. mitscherlichii* var

mitscherlichii, *S. mitscherlichii* var *amapensis*, *S. panamensis*, *S. parvifolia*, *S. solimoesana*, *S. subcordata*, *S. tomentas*, *S. trinervis* e *S. toxifera*. Esta última é a mais potente dentre elas. (128)

Apesar de a estricnina ser isolada apenas da *S. panamensis* outras espécies também são tóxicas para o sistema nervoso central muito embora várias espécies venham sendo utilizadas popularmente para o tratamento de diversas afecções. (146; 147)

2.2.2. *Strychnos pseudoquina* St. Hil e a DII

A *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Figura 2), é uma espécie nativa da América do Sul, sendo uma árvore de médio porte, que pode alcançar de 3 a 5m de altura. Tem a casca do caule espessa, gretada e suberosa, de cor acinzentada, com a entrecasca mole, de cor amarelada. É a única árvore dentro do gênero *Strychnos*, pois as outras espécies encontram-se na forma de pequenos arbustos. (130)

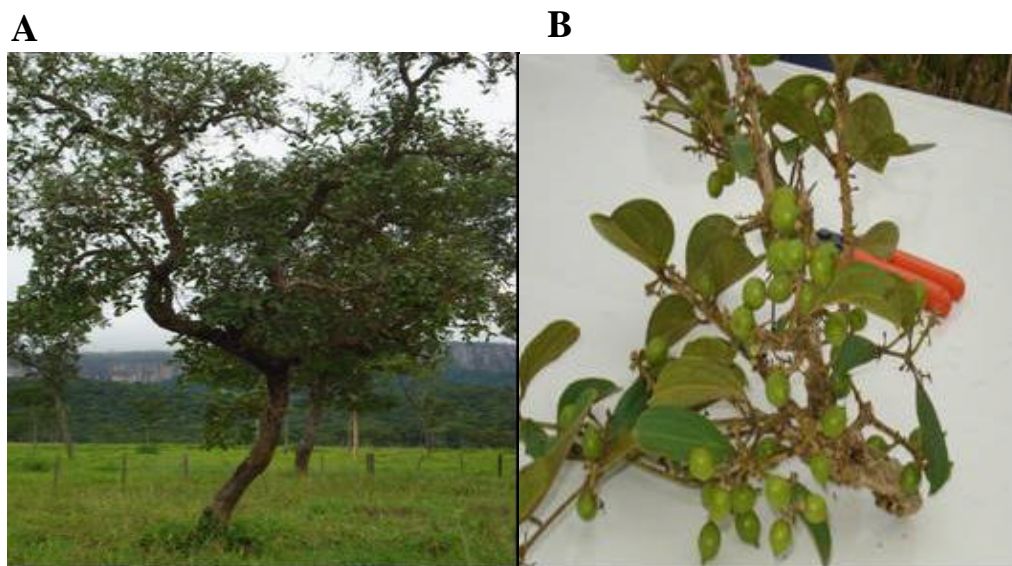


Figura 2. Árvore (A), folhas e frutos(B), *S. pseudoquina*.

Fotos cedidas por Marcondes A.B. Silva

A planta recebe diversas denominações populares: quina do mato grosso, quina branca, quina cruzeiro, quina da chapada, quina de mandá, quina do campo, quina do cerrado, quina de periquito. Quanto ao seu habitat, a espécie foi encontrada nas serras de Minas Gerais, onde foi colhida pela primeira vez em 1816 pelo botânico francês St. Hilaire; no Rio Doce (MG), foi colhida em 1830 pelo botânico Frederico Sellow; em Goiás, na fazenda Santa Maria, em 1818-20 pelo Dr. João Baptista E. Pohl e em diversas regiões de cerrado. ⁽¹⁴⁸⁾

Apesar da *S. pseudoquina* ser uma espécie muito utilizada na medicina popular brasileira, tem sido objeto de escassos estudos científicos. Com apenas uma análise da atividade gastroprotetora das folhas, análise toxicológica aguda e levantamento farmacognóstico também das folhas, e pesquisas feitas por Angenot et al. (1990) ⁽¹⁴⁶⁾, Delle Monache et al. (1969) ⁽¹⁴⁹⁾ e Nicoletti et al. (1984) ⁽¹⁵⁰⁾, citadas anteriormente, mais recentemente a entrecasca da *S. pseudoquina* foi objeto de estudo da equipe de química de produtos naturais da Faculdade de Química da UFMT, tendo este grupo identificado e isolado diversos compostos secundários oriundos deste material. ^(146; 149; 150; 153)

De acordo com Angenot et al. (1990) ⁽¹⁴⁶⁾, o chá das folhas ou casca do caule da *S. pseudoquina* é utilizado na medicina popular como estimulante, tônico, regulador digestivo, antipirético e antimalárico. ^(146; 147)

Nos primeiros trabalhos realizados com *S. pseudoquina* Delle Monache et al. (1969) ⁽¹⁴⁹⁾ e Nicoletti et al. (1984) ⁽¹⁵⁰⁾, isolaram os flavonóides isorhamnetina e estricnobilavona, e os alcalóides bisnordiidrotoxiferina, diabolina e 11-metoxidiabolina. ^(149; 150)

Estudos farmacológicos e fitoquímicos realizados recentemente com extratos das folhas dessa espécie, demonstraram atividade antiulcerogênica e foram detectados, através de fracionamentos cromatográficos, os flavonóides rutina, canferol-3-O-rutinosídeo e quercetina, e a mistura dos triterpenos a-amirina, b-amirina e lupeol, assim como um alcalóide indólico, a nordiidrofluorocurarina. ⁽¹⁵¹⁾

Devido ao uso de *S. pseudoquina* na medicina popular e à comprovada atividade antiulcerogênica em sua constituição, foram realizados novos estudos para avaliar a segurança na utilização desta espécie. Estes estudos avaliaram a atividade genotóxica dos extratos das folhas e frações que contêm alcalóides ou flavonóides em ensaios com *Salmonella typhimurium* e em micronúcleos em células de sangue periférico de camundongos Swiss tratados *in vivo*. O extrato metanólico das folhas apresentou resultados positivos para os dois testes, concluindo que os componentes desse extrato possuem propriedades mutagênicas. ⁽¹⁵²⁾

O interesse em analisar o potencial antiinflamatório de plantas do cerrado matogrossense em diversos modelos animais de inflamação intestinal, e o fato de não haver até o momento de início deste trabalho, nenhuma informação referente à utilização da *S. pseudoquina* em DII, justifica o interesse nesta pesquisa.

OBJETIVOS

1. Geral

Analisar o potencial antiinflamatório e antioxidante da *Strychnos pseudoquina* em diferentes modelos animais de inflamação intestinal.

2. Específicos

- Realizar a análise fitoquímica da *S. pseudoquina*.
- Realizar estudos de toxicidade pré-clínica da *S. pseudoquina*.
- Avaliar o efeito da *S. pseudoquina* em modelos experimentais de inflamação intestinal.
- Avaliar o extrato metanólico a fração acetado de etila e a quercetina 3-o metil éter nos modelos de inflamação intestinal induzida por ácido acético, TNBS e isquemia – reperfusão intestinal;
- Avaliar o efeito da *S. pseudoquina* sobre os grupos sulfidrílicos não protéicos (NP-SH), malonaldeído (MDA) e mieloperoxidase (MPO) da mucosa intestinal;
- Avaliar a presença de sinergismo entre a mesalazina e a *S. pseudoquina* na colite induzida por TNBS;
- Realizar o estudo histopatológico da mucosa intestinal dos animais submetidos a colite por TNBS.

MATERIAIS

1. Material biológico

1.1. Animais

Para os ensaios farmacológicos foram utilizados camundongos albinos, variedade Swiss, de ambos os sexos, pesando entre 25 e 30 g e ratos Wistar, albinos, machos, com pesos variando de 180-230 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso. Os animais selecionados ficaram alojados em gaiolas de polipropileno, com livre acesso a água e ração Purina[®] (Labinae) e mantidos em condições controladas de temperatura (25 ± 1 °C) e ciclos luz/escuro de 12 h para ambientação.

Todos os animais da presente pesquisa foram cuidados segundo as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e legislação nacional para vivis secção animal em vigor (Lei Arouca 11.794, de 8 de outubro de 2008), tendo sido o projeto da pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética na Pesquisa Animal (CEPA) da Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT sob o número 23108.004075/08-9 (**Anexo 1**).

1.2. *Artemia salina* Leach

Para o bioensaio de toxicidade foram utilizadas *Artemia salina* Leach em fase de náuplio.

2. Material botânico

A partir de análise de dissertações provenientes do Laboratório de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso, foram selecionadas plantas medicinais com atividade antiinflamatória e ou antiulcerogênica comprovada. As plantas selecionadas no levantamento bibliográfico foram: *Lafoensia pacari* St Hill (excicata nº 20.549), *Simaba Ferruginea* St. Hill (excicata nº 21.883), *Calophyllum brasiliense* Camb. (excicata nº 3767), *Hyptis crenata* Pohl ex Benth, *Croton urucurana* Baillon (excicata nº 21.881), *Echinodorus macrophyllus* Kunth (excicata nº 30486) e *Strychnos pseudoquina* St Hil (excicata nº 21.882).⁽¹⁵⁴⁻¹⁵⁸⁾

Planta	Parte utilizada	Solubilidade	Peso seco %	Identificador
<i>C. brasiliense</i>	Casca caule	Tween 80 3%	70,78	Cambess
<i>C. urucurana</i>	Casca caule	Água	94,73	Bailon
<i>E. macrophyllus</i>	Folhas/raízes	Água	90,60	Kunth
<i>H. crenata</i>	Planta inteira	Água	89,36	Pohl
<i>L. pacari</i>	Casca caule	Água	99,00	Saint-Hilaire
<i>S. ferruginea</i>	Raízes	Água	76,6	Bhrenb
<i>S. pseudoquina</i>	Entrecasca	Água	94,73	Saint-Hilaire

3. Drogas e reagentes

As drogas e reagentes utilizados durante a realização dos ensaios farmacológicos estão relacionados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Relação das drogas e reagentes utilizados.

Drogas / Reagentes / Corantes	Marca
Ácido 5,5'-Ditio-bis-2-nitrobenzóico – DTNB	SIGMA®
Ácido acético glacial P.A.	SYNTH®
Ácido tricloroacético P.A.	VETEC®
Acido trinitrobenzeno (TAB)	SIGMA®
Ácido Trinitrobenzeno Sulnico – TNBS	FLUCA®
Brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB)	SIGMA®
Cetamina	SIGMA®
Cloreto de potássio	VETEC®
Cloreto de sódio P.A.	INDEX®
Cloridrato de o-dianisidina	SIGMA®
Dextrana	SYNTH®
Eosina	VETEC®
Etanol absoluto P.A.	F. MAIA®
Éter etílico	PRO ANALYSIS®
Formol	RIOQUÍMICA®
Glutaciona reduzido	SIGMA®

Glutationa	SIGMA [®]
Hematoxilina	REAGEN [®]
Hidrato de cloral	SIGMA [®]
Lauril Sulfato de Sódio (LSS)	RIOQUÍMICA [®]
Mesacol [®]	ALTANA [®]
Mieloperoxidase	SIGMA [®]
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	RIOQUÍMICA [®]
NaHPO ₄ .H ₂ O	RIOQUÍMICA [®]
Peróxido de hidrogênio	GLAXO SMITH KLINE [®]
Reagente de Griess	SIGMA [®]
Sulfato de atropina	SIGMA [®]
Tampão fosfato	SIGMA [®]
Tampão tris (Trizma [®])	SIGMA [®]
Tetracetato de etilenodiamina dissódico – EDTA	SIGMA [®]
Trinitrobenzeno sulfônico – TNB	SIGMA [®]
Tween 80	GLAXO SMITH KLINE [®]
Tiopental sódico (Tiopentax [®])	CRISTÁLIA

4. Equipamentos

Os equipamentos e materiais permanentes utilizados durante a realização dos ensaios farmacológicos estão relacionados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Relação dos equipamentos e materiais permanentes a serem utilizados

Materiais Permanentes e Equipamentos	Marca
Balança analítica	FANEM [®]
Balança eletrônica de precisão modelo WA-205	CHYO
Banho-maria com prato de alumínio	FANEM [®]
Câmera fotográfica digital	SONY [®]
Centrifuga Excelsa 2	FANEN
Centrífuga refrigerada	ALC [®]
Destilador Q341-25	QUIMIS [®]
Espectrofotômetro UV-visível Gênesys 5	MILTON ROY
Estufa de secagem MA-037	FANEM [®]
Gaiolas metabólicas	TECNIPLAST
Geladeira vertical	CONSUL [®]
Homogeneizador automático MA-102	MARCONI
Lupa estereoscópica	CHYO [®]
Microcomputador Pentium 400Mhz	TCE [®]
Phmetro digital B-474	MICRONAL [®]
Vortex	PHOENIX [®]

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

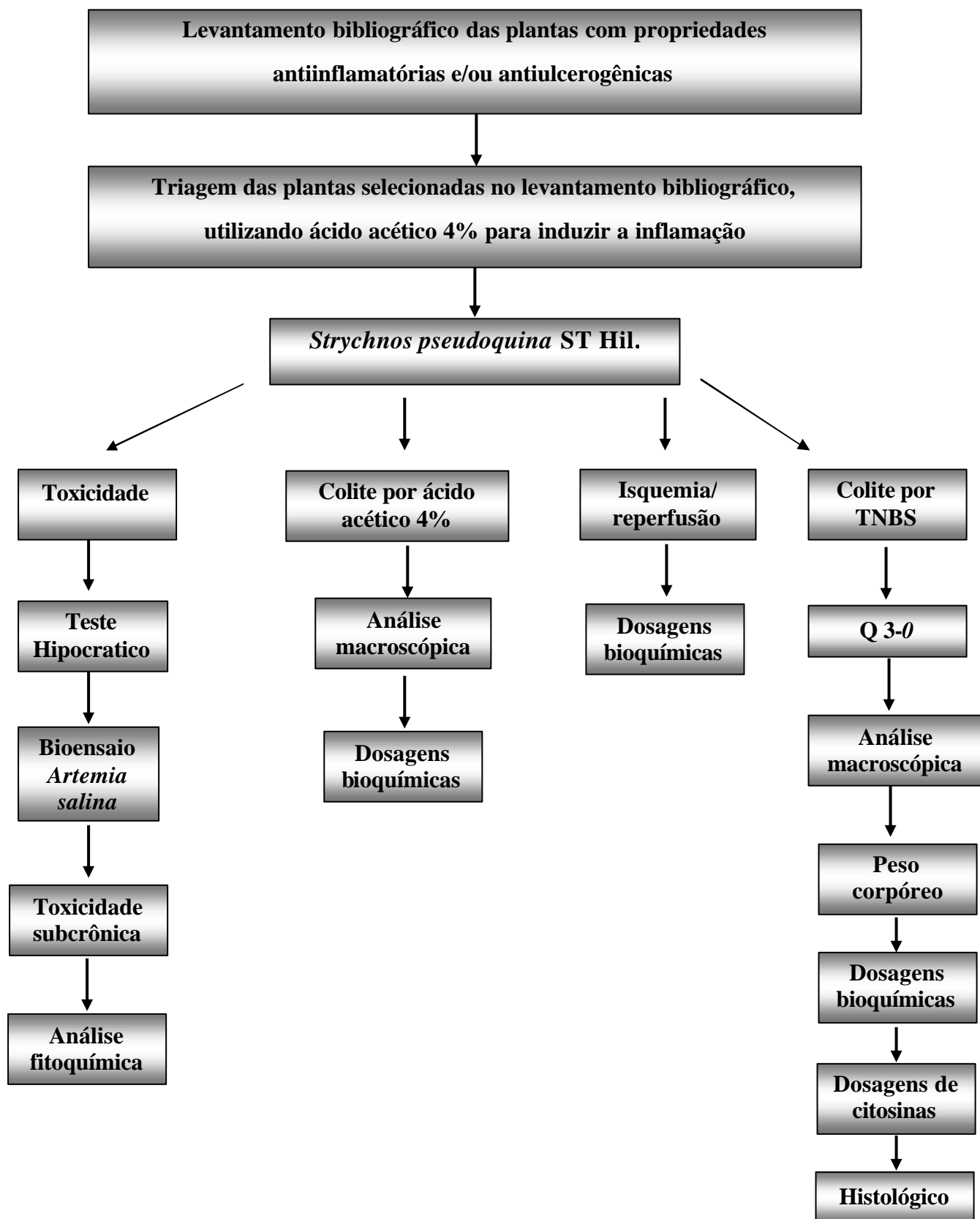


Figura 3. Fluxograma de desenvolvimento da pesquisa.

MÉTODOS

2. Triagem de plantas medicinais com atividade antiinflamatória intestinal

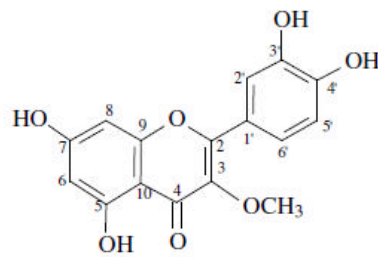
As espécies anteriormente citadas no material botânico foram testadas nas doses de 20, 100 e 500 mg/kg (dos respectivos extratos metanólicos) por via oral no modelo de colite induzida por ácido acético em ratos que será detalhada no item 1.5.1 deste capítulo.

2. Abordagem fitoquímica do extrato metanólico da entrecasca da *S. pseudoquina*

A análise fitoquímica foi realizada por via úmida, para o extrato metanólico da entrecasca da *Strychnos pseudoquina*. A abordagem do EMSp foi realizada nos Laboratórios de Farmacognosia e Farmacologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Cuiabá - UNIC, sob a supervisão da Profa. Ms. Ângela Márcia Selhorst e Silva Beserra, de acordo com o descrito por Matos et al. (1988).⁽¹⁶³⁾ O isolamento dos constituintes químicos da entrecasca do caule da *Strychnos pseudoquina*, a identificação da substância Z1, substância esta inédita neste gênero, e o ensaio da atividade antioxidante da mesma, posteriormente identificada como 5,7,3',4'-tetraidroxi-3-metoxiflavona (quercetina 3-O-metil éter) (**Figura 4**) foi realizada pelo aluno de graduação em química José Luiz Rodrigues sob a orientação da Profa. Dra. Virgínia Claudia da Silva no Laboratório de Química de Produtos Naturais, Faculdade de Química do Instituto de Ciências Exatas e da Terra da Universidade Federal de Mato Grosso.

(153)

A identificação da substância 5,7,3',4'-tetraidroxi-3-metoxiflavona encontrasse em anexo. (**anexo 2**)



Z1

Figura 4. Estrutura química de **Z1**: 5,7,3',4'-tetraidroxi-3-metoxiflavona

3. Avaliação Toxicológica

3.1. Teste Hipocrático

Foram utilizados 3 camundongos por grupo, tratados via oral (v.o.) com doses crescentes (100, 250, 500, 1000, 3000, 5000 mg/kg) do extrato metanólico da enreca *Strychnos pseudoquina* St Hill. (EMSp). Um animal controle foi utilizado para cada dose, recebendo veículo (água destilada 10 mL/kg, v.o.). Todos os animais foram observados individualmente em campo aberto, após a administração do extrato, nos tempos 0 (antes), 15 e 30 min., 1, 2, 4 e 8 h e, uma vez, a cada dia, durante quatorze dias. Os resultados das observações comportamentais gerais foram anotados em tabela adaptada do trabalho de Malone (1983).⁽¹⁵⁹⁾

3.2. Toxicidade para *Artemia salina* Leach

A toxicidade foi avaliada conforme a técnica modificada descrita por Meyer et al. (1982).⁽¹⁶⁰⁾ Os cistos de *Artemia salina* Leach foram acondicionados em um recipiente contendo água marinha artificial (sal marinho 3%), mantidos abrigados da luz à temperatura de 25 a 30 °C e com aeração contínua, por meio de uma bomba de ar de aquário. Decorridos 48 h, as larvas em estágio de náuplio, foram separadas dos cistos que não eclodiram, colocando-se em recipiente próximo a uma fonte de luz, e com a ajuda de pipeta automática de 10 µL, retirou-se aquelas larvas com bastante movimento, depositando-as em tubos de ensaio (10 larvas/tubo).⁽¹⁶⁰⁾

Foram preparados tubos de ensaio em triplicata, com concentrações crescentes do EMSp (1, 10, 50, 100 e 1000 µg/mL), usando-se como padrão positivo o sulfato de quinidina (1, 10, 50, 100 e 1000 µg/mL) e o sal marinho (3 %) como controle negativo. Após 24 h, com auxílio de uma lupa estereoscópica, foi realizada a contagem das larvas mortas (sem movimento) e vivas (com movimento), para o cálculo da porcentagem de mortalidade das larvas, usando a média de cada triplicata e assim obtendo-se a Concentração Letal 50 - CL₅₀ Miller & Tainter, (1944).⁽¹⁶¹⁾

3.3. Toxicidade Subcrônica

A toxicidade subcrônica foi determinada em ratos machos 6 animais por grupo através da administração oral, única e diária de três doses (20, 60 e 100 mg/kg) do extrato EMSp ou veículo(água destilada) por um período de 30 dias, conforme proposto por Chan et

al. (1982). Doses determinadas após triagem em modelo de colite por ácido acético no qual o melhor resultado para esta planta se deu na dose de 20 mg/kg e a dose de 500 mg/kg não apresentou resultado. ⁽¹⁶²⁾ O peso corporal, os consumos de água e ração, o volume de urina e a excreção fecal foram determinados a cada 3 dias, assim como a presença de sinais e sintomas de toxicidade, compreendendo alterações na pele, pêlos, mucosas, olhos, sistemas circulatório, gastrintestinal, respiratório, nervoso central e periférico. Cada um destes parâmetros foi anotado a cada três dias, mas para as análises estatísticas foram agrupados de 6 em 6 dias e expressos como D₀, D₆, D₁₂, D₁₈, D₂₄ e D₃₀.

Ao final do período, os animais foram anestesiados com éter etílico, coletado o sangue através da veia cava posterior, para a avaliação dos parâmetros hematológicos e de dosagens sorológicas (glicose, uréia, creatinina, transaminases oxalacética e pirúvica, colesterol total, triglicérides, fosfatase alcalina e proteínas totais). Em seguida, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, e o fígado, coração, pulmão, rins e baço, retirados, autopsiados e pesados para determinação do peso relativo [(peso do órgão/peso corporal) x 100] e acondicionados em formol 10% para uma posterior análise histológica.

4. Avaliação Antiinflamatória Intestinal

4.1. Colite Induzida por Ácido Acético (McPhersson & Pfeiffer, 1976) ⁽¹⁶⁴⁾

Após um período de cinco dias para ambientação ao laboratório os animais (ratos 8 animais por grupo) pesando entre 180 a 200 g foram submetidos a um período de jejum de 24 h e foram pré-tratados via oral com veículo, EMS_p nas doses de 20, 60 e 100 mg/kg ou Prednisona 1 mg/kg via oral sendo a primeira dose 24 e a segunda 2h antes da indução da

colite. Posteriormente, anestesiados com éter, o ácido acético 4% foi administrado via retal (intracolônica) com a ajuda de um catéter de teflon (diâmetro de 2 mm), o qual foi introduzido pelo ânus do animal até uma distância de 8 cm. Os animais foram mantidos em posição vertical (de cabeça para baixo) desde o momento da instilação do ácido acético até a recuperação da anestesia. Após 24h os animais foram anestesiados com éter etílico, sacrificado por deslocamento cervical e o intestino grosso retirado para análises macroscópica e bioquímica. Os animais foram divididos em:

- Controle Colite (CC):** animais colíticos que não receberam tratamento;
- EMSp (Sp):** animais colíticos que foram tratados com EMSp 20, 60 e 100 mg/kg;
- Prednisona (P):** animais colíticos que foram tratados com prednisona 1 mg/kg

4.2. Dano Intestinal Induzido por Isquemia-Reperfusão (Kimura et al, 1998) ⁽¹⁶⁵⁾

Neste modelo os animais (ratos 8 animais por grupo) pesando 150 a 180 g foram submetidos a jejum de 24 horas, divididos em grupos e tratados por via oral com veículo ou EMSp nas doses de 20, 60 e 100 mg/kg, durante o período de 18 e 2 horas antes da indução da isquemia.

Os animais foram anestesiados com tiopental 50 mg/kg + hidrato de cloral 300 mg/kg via subcutânea, foi realizada a laparotomia e clampeada a artéria mesentérica inferior por 45 min, após este período retirou-se o clampe e liberou-se a reperfusão por uma hora. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, ainda sob o efeito dos anestésicos. Após o sacrifício o intestino delgado foi retirado, lavado em solução salina gelada e o jejuno médio foi fracionado para as análises bioquímicas. Os animais foram divididos em:

- Controle isquêmico (CI):** animais isquêmicos que não receberam tratamento;
- EMSp (Sp):** animais isquêmicos que foram tratados com EMSp 20, 60 e 100 mg/kg;
- **Branco (B):** animais não isquêmicos sem tratamento.

4.3. Colite Induzida por Ácido Trinitrobenzeno Sulfônico (TNBS) (Morris et al., 1989) ⁽¹⁶⁶⁾.

A indução da colite foi realizada pelo método descrito por Morris et al, (1989) ⁽¹⁶⁶⁾, com pequenas modificações. Os animais foram submetidos a um período de jejum de 24 h e, posteriormente, anestesiados com éter. O ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico (TNBS) foi preparado a partir de um liofilizado obtido da solução aquosa comercial de origem a 1M, onde 0,25 mL de uma solução de 20 mg de TNBS em etanol a 50% (v/v), foi administrado via retal (intracolônica) com a ajuda de um catéter de teflón (diâmetro de 2 mm), o qual foi introduzido pelo ânus do animal até uma distância de 8 cm. Os animais foram mantidos em posição vertical (de cabeça para baixo) desde o momento da instilação do hapteno até a recuperação da anestesia. Os animais do grupo branco foram submetidos ao mesmo procedimento, mas com administração de solução salina em substituição ao TNBS. Os animais foram divididos em:

- Branco (B):** animais não-colíticos;
- Controle Colítico (CC):** animais colíticos e não-tratados;
- EMSp (Sp):** animais colíticos e tratados com EMSp 60 mg/kg;
- Fração (Fr):** animais colíticos e tratados com Fração rica em flavanóides 10 mg/kg;
- Quercetina 3-0 (Q-3):** animais colíticos e tratados com quercetina 1 mg/kg;
- Mesalazina (Mz):** animais colíticos tratados com mesalazina 20 mg/kg.

-Mesalazina + EMSp (Mz + Sp): animais colíticos e tratados com EMSp 60 mg/kg + mesalazina 20 mg/kg;

-Mesalazina + Fração (Mz + Fr): animais colíticos e tratados com Mesalazina 20 mg/kg + Fração 10 mg/kg;

-Mesalazina + Quercetina 3-0 (Mz + Q): animais colíticos e tratados com Mesalazina 20 mg/kg + Quercetina 1 mg/kg;

Os ratos receberam, via oral, 1 mg/kg de Quercetina 3-0 (Q1), 20mg/kg de mesalazina (M20), 60 mg/kg de EMSp (Sp60), as combinações (Q1+M20), (Sp60 + M20) ou veículo (V = água + Tween 80 a 2%), utilizando-se sonda esofágica. Os tratamentos foram realizados às 24 e 2 h antes da indução de colite, continuando o tratamento com duas administrações diárias por sete dias após a indução da colite. Como padrão de comparação utilizou-se o grupo controle, ao qual se induziu colite, mas sem tratamento farmacológico e um grupo branco, ao qual não se induziu colite. Todos os animais foram sacrificados sete dias após a indução da colite. Os animais foram anestesiados com éter etílico e sacrificados por deslocamento cervical, e uma porção de 8 cm do intestino grosso foi retirado a partir do ânus para análise macroscópica, bioquímica e histológica.

4.3.1. Avaliação macroscópica do processo inflamatório intestinal

Durante o desenvolvimento do experimento, os animais foram avaliados em diferentes parâmetros como variações de peso corporal, consumo alimentar, diarreia e lesão no cólon. Aos animais foram oferecidos 300 gramas de ração diariamente, sendo avaliado de consumo alimentar diário. Os animais foram pesados todos os dias da experimentação e seus pesos registrados em tabelas, para avaliação do peso após indução da colite. O peso dos animais utilizados para fazer os cálculos e plotar o gráfico foi o peso inicial e peso do final do

experimento. As fezes dos animais também foram observadas para verificar presença ou ausência de diarreia. Ao final do tratamento, os animais foram anestesiados com éter e mortos por deslocamento cervical, o cólon foi retirado, e eventuais ocorrências de adesões entre o cólon e órgãos adjacentes foram anotadas. O cólon foi colocado sobre uma placa de Petri com gelo, onde foi feita a limpeza de restos de gorduras e adesões mesentéricas e em seguida, foram determinados o peso (mg) e o comprimento do cólon (cm).

O cólon foi aberto longitudinalmente e a lesão macroscópica recebeu escore através de uma escala de 0-10, de acordo com uma escala descrita previamente por Bell et al., (1995)⁽¹⁶⁷⁾ (**Tabela 3**), que determina tanto a gravidade como extensão da lesão intestinal.

Tabela 3. Critério de determinação de escore de lesão colônica (Bell et al., 1995).

Escore	<i>Critério para avaliação dos danos macroscópicos colônicos</i>
0	Sem prejuízo;
1	Hiperemia, sem úlceras;
2	Úlcera linear sem inflamação significativa;
3	Úlcera linear com inflamação em um sítio;
4	Dois ou mais sítios de ulceração/inflamação;
5	Dois ou mais sítios de ulceração e inflamação ou um sítio de inflamação maior que 1 cm ao longo da extensão do cólon;
6-10	Se o prejuízo cobrir mais que 2 cm ao longo da extensão do cólon (o escore é aumentado em 1 ponto para cada centímetro adicional);

4.3.2. Avaliação dos parâmetros bioquímicos

Após a análise da lesão macroscópica, o cólon foi subsequentemente dividido em cinco fragmentos longitudinais, os quais foram pesados e congelados a -20°C para determinação de, mieloperoxidase (MPO) glutathiona total (GSH) e malonaldeído (MDA). O fragmento para determinar os níveis de GSH foi congelado em 1 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% (p/v), com o objetivo de inibir sua degradação pela gama-glutamiltanspeptidase, conforme descrito por Anderson (1985).⁽¹⁶⁸⁾

4.3.2.1. Determinação de Malonaldeído (MDA)

O teor de TBARS ($\mu\text{mol MDA/g}$ de tecido) foi quantificado pelo método de Zingarelli et al. (1999)⁽¹⁶⁹⁾ para estimativa da peroxidação lipídica. O cólon foi removido, pesado, picado com tesoura e homogeneizado com KCl frio 1,15% em uma proporção 1:5 (p/v) em homogeneizador automático. O homogenato foi então centrifugado a 9000 g a 4°C durante 10 minutos. Em um tubo de vidro com tampa se adicionou 100 μL de uma solução de lauril sulfato de sódio a 8,1%, 1,5 mL de ácido acético a 20% (pH 3,5), 1,5 mL de solução de ácido tiobarbiturico (TAB) a 0,8% em ácido acético a 20% e 700 μL de água destilada. Incubou-se durante uma hora a 95°C e centrifugou-se a 3000 g a 4°C durante 10 min. A absorbância do sobrenadante foi medida espectrofotometricamente a 532 nm. O cálculo do conteúdo de malonaldeído da amostra foi realizada por interpolação das absorbâncias na curva padrão. Os resultados são expressos em $\mu\text{mol MDA/g}$ tecidos fresco.⁽¹⁶⁹⁾

4.3.2.2. Determinação de Mieloperoxidase (MPO)

Amostras de tecido de (100 mg) foram após descongelamento, picadas com tesoura por 15 seg, homogeneizadas em uma solução de brometo de haxadeciltrimetilamônio 0,5% (HTAB) em tampão fosfato 50 mM (HTAB, pH 6,0, 1 ml por 50 mg de tecido). O homogenato foi submetido a três ciclos de congelamento (-70°C) e descongelamento (água a 37°C), após este ciclo as amostras foram então centrifugadas (4000 g, 15 min., 4°C) para remover o material insolúvel. A MPO contida no sobrenadante (0,1 mL) foi analisada em espectrofotômetro após a adição de 2,90 mL de tampão fosfato (50 mM, pH 6,0) contendo 0,167 mg/mL de hidrocloreto de *o*-dianisidine e 0,0005% de peróxido de hidrogênio. A absorbância foi medida em 460 nm. Os resultados são expressos por Umol MPO/g de tecido Krawisz et al., (1984) ⁽¹⁷⁰⁾.

4.3.5. Determinação dos Grupos Sulfidrila não Protéicos (NP-SH)

A quantificação dos grupos sulfidrila não protéicos (NP-SH) foi realizada segundo o método de Sedlack e Lindsay (1968). ⁽¹⁷¹⁾ A amostra de intestino, após descongelamento foi homogeneizada com EDTA 0,02 M gelado, para preparar um homogenato a 10%. Uma alíquota de 4 mL de cada amostra foi retirada e adicionado 3,2 mL de água destilada e 0,8 mL de ácido tricloroacético - TCA 50% em solução aquosa. Os tubos de ensaio contendo a mistura foram centrifugados a 3000 g por 15 min. Um volume de 2 mL foi retirado do sobrenadante e adicionado 4 mL de Tris 0,4 M, pH 8,9 e 0,1 mL de DTNB 0,01 M. A absorbância deve ser medida dentro de 5 minutos a 412 nm. A concentração de GSH foi

calculada através de uma curva padrão de glutathiona reduzida (GSH) e os resultados expressos em μg de GSH/g de tecido.

5. Avaliação histopatológica

Com o objetivo de verificar alterações teciduais microscópicas do cólon, foram realizados cortes histopatológicos de todos os grupos tratados. O tecido foi fixado em formaldeído tamponado a 10% e incluídos em parafina, os cortes foram obtidos de micrótomo, corados em lâminas com hematoxilina-eosina e examinados a microscopia ótica, segundo método proposto por Millar et al. (1996).⁽¹⁷²⁾

6. Análise Estatística

Os dados experimentais obtidos foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). As médias experimentais foram comparadas utilizando a análise de variância (ANOVA) e a significância entre os grupos foi estabelecida pelo teste de múltipla comparação de Student Newman Keul e quando os dados assim exigissem o teste de Kruskal Wallis. Para os dados não paramétricos foi utilizado o teste de Dunn. A significância mínima foi aceita quando $p < 0,05$. Para realização das análises foram utilizados os programas Microsoft Office Excel 2003 e o pacote estatístico INSTAT. Os resultados com significância $p < 0,05$, $p < 0,005$ e $p < 0,001$.

RESULTADOS

1. Triagem de plantas medicinais com atividade antiinflamatória intestinal

Entre as plantas selecionadas no laboratório de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT com atividade antiinflamatória e/ou antiulcerogênicas, apenas *Croton urucurana*, *Strychnos pseudoquina*, *Simaba ferruginea* apresentaram resultados nas doses testadas para a diminuição de edema tecidual, verificado pelo peso úmido por miligrama de tecido, sendo que a *S. pseudoquina* obteve seu melhor resultado na menor dose (**Tabela 4 e 5**).

Tabela 4. Efeito dos extratos brutos das plantas sobre o peso úmido de intestino com colite induzida por ácido acético.

Tratamento	Peso úmido tecido (mg/cm)			
	Dose dos extratos (mg/kg, v.o.)			
	20	100	500	
Controle veículo	160,0 ± 0,004	---	---	---
<i>C. urucurana</i>	---	104,0 ± 0,004***	108,0 ± 0,004***	114,0 ± 0,004***
<i>S. pseudoquina</i>	---	121,0 ± 0,005***	135,0 ± 0,005**	140,0 ± 0,003
<i>S. ferruginea</i>	---	127,0 ± 0,050***	138,0 ± 0,080*	116,0 ± 0,030***
<i>L. pacari</i>	---	140,0 ± 0,070	140,0 ± 0,070	147,0 ± 0,080
<i>E. macrophyllus</i>	---	107,0 ± 0,060***	146,0 ± 0,030	106,0 ± 0,060***
<i>C. brasiliense</i>	---	174,7 ± 0,025	139,4 ± 0,006	124,6 ± 0,004*
<i>H. crenata</i>	---	147,8 ± 0,006	134,6 ± 0,002**	140,1 ± 0,005*
Prednisona (1mg/kg)	113,0 ± 0,003***	---	---	---

Os valores representam a média ± E.P.M para 10 animais. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 vs controle veículo. Teste de Student.

Tabela 5. Efeito dos extratos brutos das plantas nas lesões macroscópicas induzidas por ácido acético.

Tratamento	Análise macroscópica por escore			
	Dose dos extratos (mg/kg, v.o.)			
	20	100	500	
Controle veículo	4,80 ± 0,49	---	---	---
<i>C. urucurana</i>	---	2,10 ± 0,54*	1,50 ± 0,18**	3,60 ± 0,59
<i>S. pseudoquina</i>	---	1,50 ± 0,32***	3,50 ± 0,56	4,75 ± 0,16
<i>S. ferruginea</i>	---	3,25 ± 0,61	1,66 ± 0,42*	1,44 ± 0,44***
<i>L. pacari</i>	---	1,75 ± 0,49**	2,71 ± 0,71	4,28 ± 0,68
<i>E. macrophyllus</i>	---	2,10 ± 0,56*	3,10 ± 0,79	2,50 ± 0,61
<i>C. brasiliense</i>	---	5,12 ± 0,66	5,11 ± 0,65	2,44 ± 0,58
<i>H. crenata</i>	---	4,90 ± 0,79	4,30 ± 0,21	2,90 ± 0,65
Prednisona (1mg/kg)	1,20 ± 0,13***	---	---	---

Os valores representam a média ± E.P.M para 10 animais. *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001 vs controle veículo. Teste de Student.

2. Abordagem fitoquímica

A análise fitoquímica preliminar por via úmida do Extrato metanólico de *Strychnos pseudoquina* St Hill, de acordo com a marcha descrita por Matos et al. (1988), ⁽¹⁶³⁾ revelou a presença de alguns metabólitos secundários os quais estão representados na **Tabela 11**.

Tabela 6. Fitoquímica do extrato metanólico da entrecasca da *Strychnos pseudoquina*

Substância	Presente	Ausente
Saponinas		+
Esteroides livres	+	
Taninos	+	
Compostos fenólicos	+	
Flavanóides	+	
Flavanonas	+	
Catequinas	+	
Alcalóides	+	
Antraquinonas		+

3. Avaliação Toxicológica

3.1. Teste hipocrático

A administração oral do EMS_p nas doses de 100 a 5000 mg/kg não produziu alterações comportamentais em camundongos. Os animais tratados com 3000 e 5000 mg/kg apresentaram diarreia. Não ocorreram mortes em nenhuma das doses testadas (**Tabela 7**).

Tabela 7. Resultados da toxicidade aguda da *Strychnos pseudoquina*.

Planta	Dose (mg/kg)	Efeitos comportamentais	Mortes
<i>Strychnos pseudoquina</i>	100	Sem alteração	0/3
	250	Sem alteração	0/3
	500	Sem alteração	0/3
	1000	Sem alteração	0/3
	3000	Diarréia (3/3)	0/3
	5000	Diarréia (3/3)	0/3

2.2. Toxicidade para *Artemia salina* Leach

Através da utilização do método dos probitos determinou-se a CL_{50} (concentração letal para 50% das larvas) do EMS_p que foi de $1525,00 \pm 155,5 \mu\text{g/mL}$, sendo assim menos tóxico do que o sulfato de quinidina ($163,5 \pm 12,5 \mu\text{g/mL}$), conhecida substância tóxica para a *Artemia salina* utilizada como controle positivo.

2.3. Toxicidade subcrônica

O efeito do tratamento diário com veículo ou EMS_p (20, 60, 100 mg/kg, v.o) durante 30 dias, em ratos, sobre o peso corporal e ganho de peso acumulado, consumo de ração e água, e excreção de fezes e urina está apresentado na **Tabela 8**.

Houve diferença significativa no ganho de peso acumulado (g) no período de D₀ a D₁₈ nos animais tratados com EMS_p nas três doses e de D₀ a D₂₄ apenas nas doses de 20 e 60 mg/kg.

Houve significativo aumento no consumo de água (mL/animal) no período de D₀ a D₁₂ na dose de 20 mg/kg ($64,30 \pm 3,06^*$ mL; $p < 0,05$) e em D₁₈ nas doses de 20 mg/kg ($66,00 \pm 2,93^{**}$ mL; $p < 0,01$), 60mg/kg ($70,70 \pm 2,92^{***}$ mL; $p < 0,001$), comparado ao veículo ($52,60 \pm 3,80$ mL) coincidindo com o período de ganho de peso.

O consumo de ração (g/animal) foi alterado pela administração de EMS_p nas doses de 20 mg/kg ($44,10 \pm 1,35^{**}$ g; $p < 0,01$), 60 mg/kg ($45,10 \pm 1,18^{**}$ g; $p < 0,01$) e 100 mg/kg ($44,40 \pm 1,28^{**}$ g; $p < 0,01$) comparado ao veículo ($34,70 \pm 1,19$ g), também em D₁₈. Neste dia apenas os animais tratados com a dose 100 mg/kg apresentaram aumento na eliminação de fezes (g/animal) ($20,20 \pm 0,68^{**}$ g; $p < 0,01$) em comparação ao veículo ($16,00 \pm 4,06$ g). A eliminação de urina (mL/animal) elevou-se apenas em D₃₀ e somente na dose de 20 mg/kg ($30,60 \pm 2,81^*$ mL; $p < 0,05$) comparado ao veículo ($21,70 \pm 1,53$ mL).

Tabela 8. Efeito da administração oral subcrônica do Extrato metanólico da entrecasca da *Strychnos pseudoquina* sobre diversos parâmetros (peso corporal; consumo de água e ração; eliminação de fezes e urina).

Parâmetro Analisado	Período de Tratamento (dias)					
	D ₀	D ₆	D ₁₂	D ₁₈	D ₂₄	D ₃₀
Controle (Veículo)						
Peso Corporal (g)	109,6 ± 2,05	150,4 ± 3,53	189,4 ± 4,89	217,1 ± 2,96	238,3 ± 4,21	265,8 ± 4,00
Consumo Água (mL)	----	53,8 ± 2,77	52,8 ± 2,80	52,6 ± 3,80	62,8 ± 2,40	60,0 ± 3,08
Consumo Ração (g)	----	39,4 ± 1,17	35,0 ± 1,78	34,7 ± 1,19	39,8 ± 2,05	37,1 ± 1,88
Fezes (g)	----	20,7 ± 1,10	22,3 ± 4,06	16,0 ± 4,06	16,8 ± 1,43	19,1 ± 1,03
Urina (mL)	----	12,0 ± 1,36	11,6 ± 0,75	17,7 ± 1,28	19,4 ± 0,84	21,7 ± 1,53
Sp 20 mg/kg						
Peso Corporal (g)	111,8 ± 1,53	152,3 ± 2,19	198,1 ± 1,81	232,6 ± 0,61**	253,4 ± 3,57*	273,3 ± 4,65
Consumo Água (mL)	----	57,8 ± 1,48	64,3 ± 3,06**	66,0 ± 2,93**	64,1 ± 2,40	69,3 ± 4,68
Consumo Ração (g)	----	41,8 ± 0,67	37,0 ± 0,78	44,1 ± 1,35**	44,8 ± 2,52	44,4 ± 1,11
Fezes (g)	----	25,1 ± 0,88*	21,1 ± 1,07	19,8 ± 1,83*	19,7 ± 1,83	22,7 ± 1,44
Urina (mL)	----	14,6 ± 0,84	15,4 ± 0,94	20,6 ± 3,48	23,7 ± 1,01	30,6 ± 2,81*
Sp 60 mg/kg						
Peso Corporal (g)	115 ± 1,39	158,1 ± 1,62	199,5 ± 4,24	237,0 ± 4,29**	260,0 ± 2,86 **	278,5 ± 4,16
Consumo Água (mL)	----	60,0 ± 1,09	68,8 ± 3,10	70,7 ± 2,92***	62,8 ± 2,64	68,6 ± 2,47
Consumo Ração (g)	----	39,7 ± 0,60	40,1 ± 1,42	45,1 ± 1,18**	45,1 ± 1,22	43,7 ± 4,10
Fezes (g)	----	24,4 ± 1,41	19,4 ± 1,21	19,5 ± 1,41	18,6 ± 1,47	16,6 ± 1,21
Urina (mL)	----	16,0 ± 1,44	15,7 ± 1,76	23,3 ± 1,35	23,0 ± 1,20	26,8 ± 2,14
Sp 100 mg/kg						
Peso Corporal (g)	112,1 ± 0,88	153,0 ± 1,06	198,6 ± 2,25	233,1 ± 2,61**	249,4 ± 4,51	278,4 ± 3,23
Consumo Água (mL)	----	51,7 ± 2,23	55,0 ± 1,41	64,3 ± 2,29	53,0 ± 7,72	61,1 ± 3,10
Consumo Ração (g)	----	39,0 ± 1,27	35,5 ± 1,19	44,4 ± 1,28**	40,3 ± 3,2	38,4 ± 4,76
Fezes (g)	----	27,1 ± 1,19**	19,0 ± 1,06	20,2 ± 0,68*	20,1 ± 2,24	22,1 ± 0,91
Urina (mL)	----	13,7 ± 1,19	14,3 ± 0,52	19,7 ± 0,91	19,4 ± 2,08	22,4 ± 1,85

Os valores representam a Média ± E.P.M para 7 animais. ANOVA uma via, seguida do teste de Student Newman Keul. * p<0,05; ** p<0,01; ***p<0,001 vs controle.

Nenhuma alteração macroscópica foi observada no coração, pulmão, fígado, estômago, baço e rins. Não houve diferença significativa nos índices de peso relativo (%) desses órgãos nos animais tratados com EM Sp nas doses de 20, 60 e 100 mg/kg no período de 30 dias/(**Tabela 9**).

Tabela 9. Efeito da administração oral subcrônica do extrato metanólico da *Strychnos pseudoquina* sobre o peso relativo^a (%) de alguns órgãos vitais no final de 30 dias.

Órgãos	Veículo	<i>Strychnos pseudoquina</i> (mg/kg)		
		20	60	100
Coração	0,450 ± 0,001	0,390 ± 0,004	0,410 ± 0,004	0,380 ± 0,001
Pulmão	0,530 ± 0,010	0,550 ± 0,007	0,500 ± 0,002	0,520 ± 0,003
Fígado	3,400 ± 0,030	3,530 ± 0,039	3,040 ± 0,016	3,270 ± 0,035
Estômago	0,590 ± 0,003	0,610 ± 0,004	0,600 ± 0,008	0,510 ± 0,003
Baço	0,230 ± 0,001	0,250 ± 0,003	0,220 ± 0,001	0,230 ± 0,001
Rim D	0,390 ± 0,003	0,400 ± 0,004	0,380 ± 0,014	0,380 ± 0,002
Rim E	0,370 ± 0,002	0,380 ± 0,004	0,380 ± 0,001	0,380 ± 0,001

Peso relativo (peso órgão/peso corporal x 100). Os valores representam a Média ± E.P.M. ANOVA uma via, seguida do teste de Dunn.

A **Tabela 10** mostra a comparação entre os grupos quanto a vários parâmetros bioquímicos no plasma sanguíneo. O EM Sp nas doses de 20, 60 e 100 mg/kg não alterou os níveis plasmáticos de glicose, uréia, creatinina, transaminase oxalacética (TGO), transaminase pirúvica (TGP), fosfatase alcalina, triglicérides, proteínas totais e albumina. Os níveis plasmáticos de ácido úrico foram significativamente menores nas doses de 60 e 100 mg/kg ($4,28 \pm 0,21$ mg/dL; $p < 0,01$ e $4,67 \pm 0,54$ mg/dL; $p < 0,05$, respectivamente) em

comparação ao grupo veículo $6,35 \pm 0,46$ mg/dL). Na dose de 20 mg/kg o EMSp não alterou significativamente os níveis de ácido úrico ($5,75 \pm 0,18$ mg/dL). Já os níveis de colesterol total foram significativamente maiores nas doses de 20, 60 e 100 mg/kg ($153,00 \pm 4,64$; mg/dL ($p < 0,05$), $172,00 \pm 11,13$; mg/dL ($p < 0,01$), $160,00 \pm 7,67$; mg/dL ($p < 0,01$), respectivamente, comparado ao veículo ($121,00 \pm 8,37$ mg/dL).

Tabela 10. Efeito da administração oral subcrônica do extrato metanólico da entrecasca da *Strychnos pseudoquina* (EMSp) por 30 dias sobre alguns parâmetros bioquímicos.

Parâmetro	Veículo	<i>Strychnos pseudoquina</i> (mg/kg)		
		20	60	100
Glicose (mg/dL)	$105,7 \pm 2,72$	$111,8 \pm 4,20$	$93,2 \pm 5,74$	$92,9 \pm 5,38$
Uréia (mg/ dL)	$33,8 \pm 2,21$	$25,2 \pm 2,04$	$30,7 \pm 4,33$	$26,8 \pm 4,24$
Creatinina (mg/ dL)	$0,85 \pm 0,06$	$0,93 \pm 0,06$	$0,86 \pm 0,08$	$0,93 \pm 0,08$
Ác.Úrico (mg/ dL)	$6,35 \pm 0,46$	$5,75 \pm 0,18$	$4,28 \pm 0,21^{**}$	$4,67 \pm 0,54^*$
TGO (IU/L)	$18,28 \pm 1,91$	$23,28 \pm 3,22$	$20,14 \pm 1,20$	$21,57 \pm 1,70$
TGP (IU/L)	$13,41 \pm 1,46$	$16,14 \pm 2,36$	$17,00 \pm 2,20$	$18,85 \pm 2,36$
Fosf. Alcalina (IU/L)	$133,6 \pm 14,5$	$115,6 \pm 8,86$	$116,8 \pm 6,15$	$152,1 \pm 7,62$
Colesterol Tot.(mg/ dL)	$121 \pm 8,37$	$153 \pm 4,64^*$	$172 \pm 11,13^{**}$	$160 \pm 7,67^{**}$
Triglicérides (mg/ dL)	$185 \pm 26,3$	$186 \pm 10,8$	$200 \pm 14,5$	$177,0 \pm 8,62$
Proteínas Tot. (mg/ dL)	$7,05 \pm 0,25$	$7,14 \pm 0,38$	$7,47 \pm 0,25$	$7,00 \pm 0,34$
Albumina (g/ dL)	$4,68 \pm 0,18$	$4,85 \pm 0,28$	$4,55 \pm 0,32$	$4,51 \pm 0,30$

Os valores representam a Média \pm E.P.M. ANOVA uma via, seguida do teste de Dunn.

*** $p < 0,001$ vs veículo.

A **Tabela 11** apresenta o efeito do veículo e do EMSp 20, 60, 100 mg/kg sobre hemograma e leucograma. Nenhum dos parâmetros hematológicos observados foi significativamente diferente ($p > 0,05$) do grupo veículo.

Tabela 11. Efeito da administração oral subcrônica do extrato metanólico da entrecasca da *Strychnos pseudoquina* 30 dias sobre alguns parâmetros hematológicos.

Parâmetro	Veículo	<i>Strychnos pseudoquina</i> (mg/kg)		
		20	60	100
Hemáceas ($10^6/\text{mm}^3$)	$7,27 \pm 0,17$	$7,27 \pm 0,17$	$7,04 \pm 0,10$	$7,02 \pm 0,16$
Hemoglobina (g/dl)	$13,7 \pm 0,14$	$13,7 \pm 0,14$	$13,9 \pm 0,15$	$13,8 \pm 0,11$
Hematócrito (%)	$41 \pm 1,42$	$41 \pm 0,42$	$43 \pm 0,53$	$43 \pm 0,29$
VCM (fl)	$57 \pm 1,52$	$57 \pm 1,52$	$61 \pm 0,89$	$62 \pm 1,42$
CHCM (%)	$32 \pm 0,29$	$33 \pm 0,15$	$32 \pm 0,36$	$31 \pm 0,22$
Plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$)	$589 \pm 23,7$	$572 \pm 24,6$	$490 \pm 23,6$	$491 \pm 29,4$
Leucócito tot. ($10^3/\text{mm}^3$)	$10,5 \pm 0,55$	$8,6 \pm 0,91$	$8,8 \pm 0,73$	$8,0 \pm 0,67$
Segmentado				
Relativo (%)	$23 \pm 1,98$	$19 \pm 2,43$	$16 \pm 0,52$	$18 \pm 2,40$
Absoluto ($10^3/\text{mm}^3$)	$2,48 \pm 0,19$	$1,68 \pm 0,32$	$1,46 \pm 0,13$	$1,44 \pm 0,15$
Linfócito				
Relativo (%)	$72 \pm 2,82$	$77 \pm 2,21$	$81 \pm 1,05$	$79 \pm 3,42$
Absoluto ($10^3/\text{mm}^3$)	$7,76 \pm 0,52$	$7,76 \pm 0,52$	$7,12 \pm 0,57$	$6,28 \pm 0,66$
Eosinófilo				
Relativo (%)	$3 \pm 0,33$	$3 \pm 0,33$	$2 \pm 0,43$	$2 \pm 0,40$
Absoluto ($10^3/\text{mm}^3$)	$0,27 \pm 0,48$	$0,28 \pm 0,48$	$0,17 \pm 0,44$	$0,18 \pm 0,48$

Os valores representam a Média \pm E.P.M. ANOVA uma via, seguida do teste de Dunn.

2.3.1. Análise histopatológica da toxicidade subcrônica

A administração oral por 30 do EMS_p nas tres doses avaliadas não causou danos observáveis histologicamente, nenhum dos diferentes órgão submetidos a análise apresentou diferença significativa quando comparados ao grupo controle (imagens não apresentadas).

4. Avaliação Antiinflamatória Intestinal

4.1. Colite Ulcerativa Induzida por Ácido Acético (McPhersson & Pfeiffer, 1976)

4.1.1. Avaliação Macroscópica da Colite induzida por Ácido Acético

Obteve-se índice 5 (4-6) de úlcera produzida pela administração intracolônica de ácido acético 4% no grupo veículo (controle). A administração do EMS_p alterou este índice nas doses de 20 e 60mg/kg, diminuindo em 80 e 60%, respectivamente. Os animais tratados com prednisona (1 mg/kg) apresentaram um índice de lesão 60% (p<0,05) menor que o grupo veículo (**Figura 5**).

A razão peso/comprimento do cólon aumentou menos nos grupos pré-tratados com EMS_p nas três doses, porém a prednisona protegeu do edema mais significativamente, a diminuição do edema foi menos intenso que nos demais parâmetros (**Figura 6**).

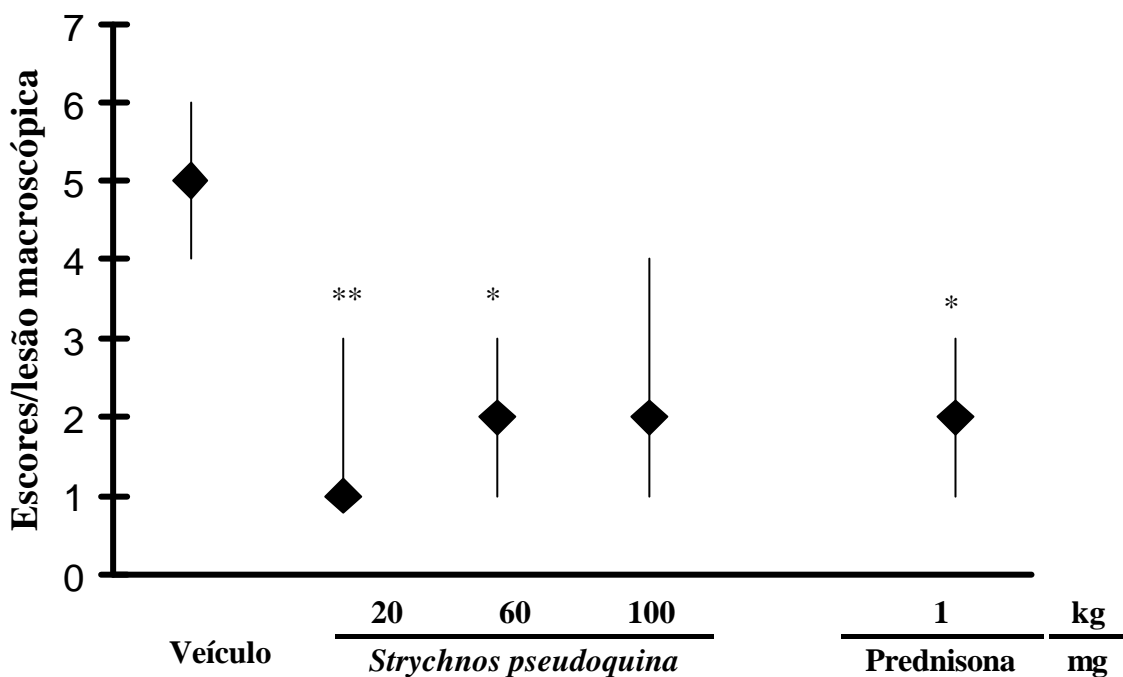


Figura 5. Efeito do Extrato Metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp) nas lesões intestinais induzidas por ácido acético 4% em ratos. Os animais foram tratados via oral com veículo (água destilada, 10mL/kg), EMSp (20, 60 e 100 mg/kg) ou Prednisona (1mg/kg) 24 e 2 hora antes da administração da solução de ácido acético 4% (intracolônica). Após 24 horas da aplicação do agente lesivo, os animais foram sacrificados para inspeção das lesões. Os valores representam a Mediana (Q₁;Q₃), onde Q₁ e Q₃ referem-se ao 1° e 3° quartis para 10 animais. ANOVA Teste de Kruskal Wallis seguida do teste de Dunn. **p<0,01; *p<0,05 vs Veículo.

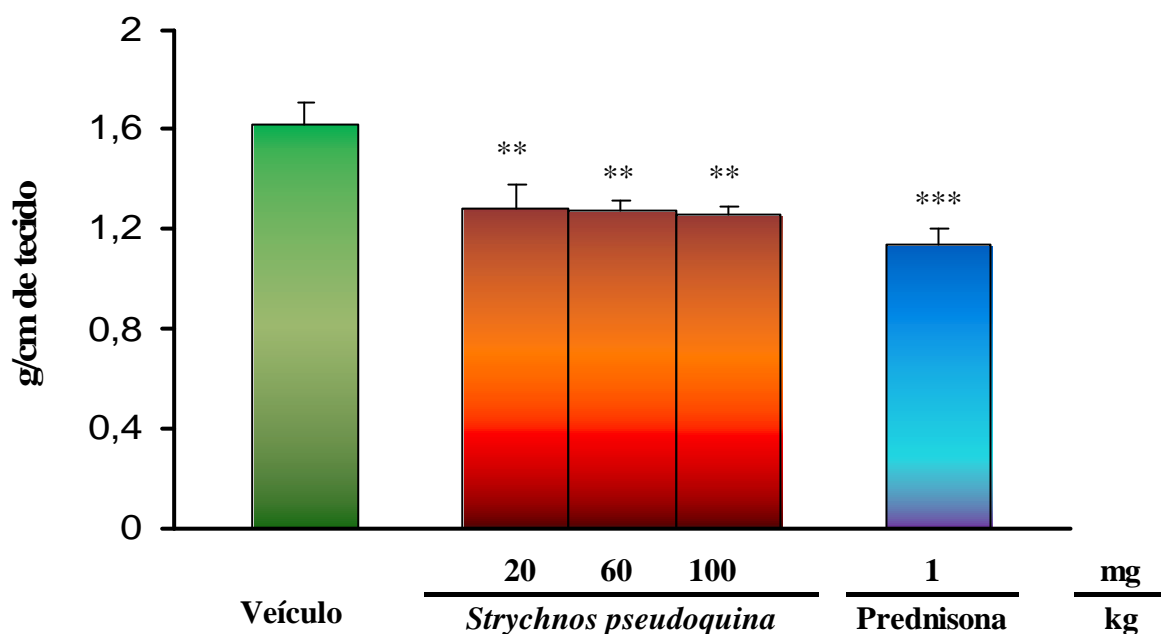


Figura 6. Efeito do Extrato Metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp) no edema intestinal induzido por ácido acético 4% em ratos. Os animais foram tratados via oral com veículo (água destilada, 10 mL/kg), EMSp (20, 60 e 100 mg/kg) ou Prednisona (1mg/kg) 24 e 2 h antes da administração da solução de ácido acético 4% (intracolônica). Após 24 horas da aplicação do agente lesivo, os animais foram sacrificados para verificação do processo inflamatório. Os valores representam a Média \pm E.P.M. para 10 animais. ANOVA uma via, seguida do teste de Student-Newman-Keul. *** $p < 0,001$; * $p < 0,05$ vs. Veículo.

4.1.2. Avaliação dos parâmetros bioquímicos

Os grupos tratados com EMSp (20, 60 e 100mg/kg) e prednisona (1 mg/kg) mantiveram os níveis de GSH, reduzindo a sua depleção de forma significativa ($320,84 \pm 22,35$ nmol $p < 0,001$; $260,15 \pm 32,13$ nmol $p < 0,001$; $229,02 \pm 17,79$ nmol $p < 0,01$ e $359,99 \pm 13,08$ nmol $p < 0,001$) nmol respectivamente quando comparados ao grupo controle ($92,548 \pm 24,97$ nmol (**Figura 7**)).

A infiltração de neutrófilos para o local da inflamação intestinal foi avaliada mediante a dosagem de MPO, a qual foi significativamente aumentada, após a indução de colite por ácido acético 4%, no grupo controle em relação ao grupo droga-padrão (**Figura 8**). Os grupos pré-tratados com EMSp e prednisona mostraram reduzida atividade da MPO colônica ($652,70 \pm 90,15$ Umol $p < 0,05$; $416,68 \pm 70,95$ Umol $p < 0,001$; $70162 \pm 95,35$ Umol $p < 0,05$ e $102,00 \pm 17,00$ Umol $p < 0,001$) respectivamente, quando comparados ao grupo controle ($985,12 \pm 86,17$ Umol).

O pré-tratamento com prednisona foi capaz de reduzir significativamente os níveis de MDA ($20,67 \pm 2,87$ nmol $p < 0,01$) quando comparados ao grupo controle ($37,62 \pm 3,72$ nmol) (**Figura 9**). O EMSp diminuiu os níveis de MDA com menor intensidade que a prednisona, porém de maneira estatisticamente significativa.

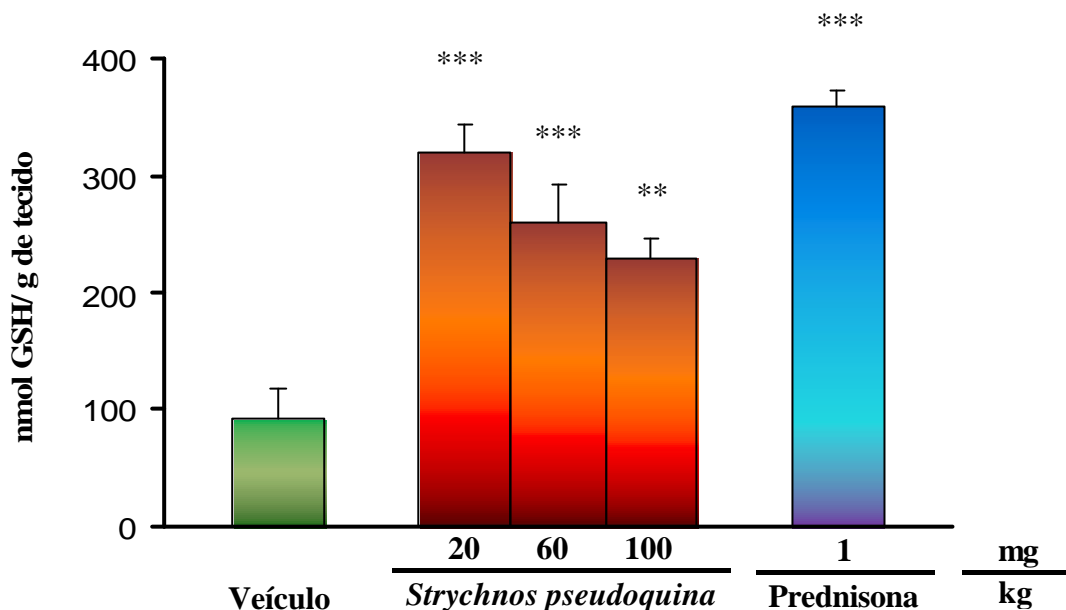


Figura 7. Efeito do Extrato metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp) sobre os níveis de glutathiona intestinal reduzida (GSH) na colite por ácido acético 4% em ratos. Os níveis de glutathiona intestinal reduzida (GSH) foram analisados 24 h após a administração intracolônica de ácido acético 4%. O veículo (água destilada, 10 mL/kg, v.o), EMSp (20, 60 e 100 mg/kg, v.o) e prednisona (1 mg/kg, v.o) foram administrados 24 e 2 horas antes da indução. Cada coluna representa a Média ± E.P.M de 10 animais. ANOVA seguida do teste Student-Newman-Keul. ***p<0,001; **p<0,01 vs. Veículo.

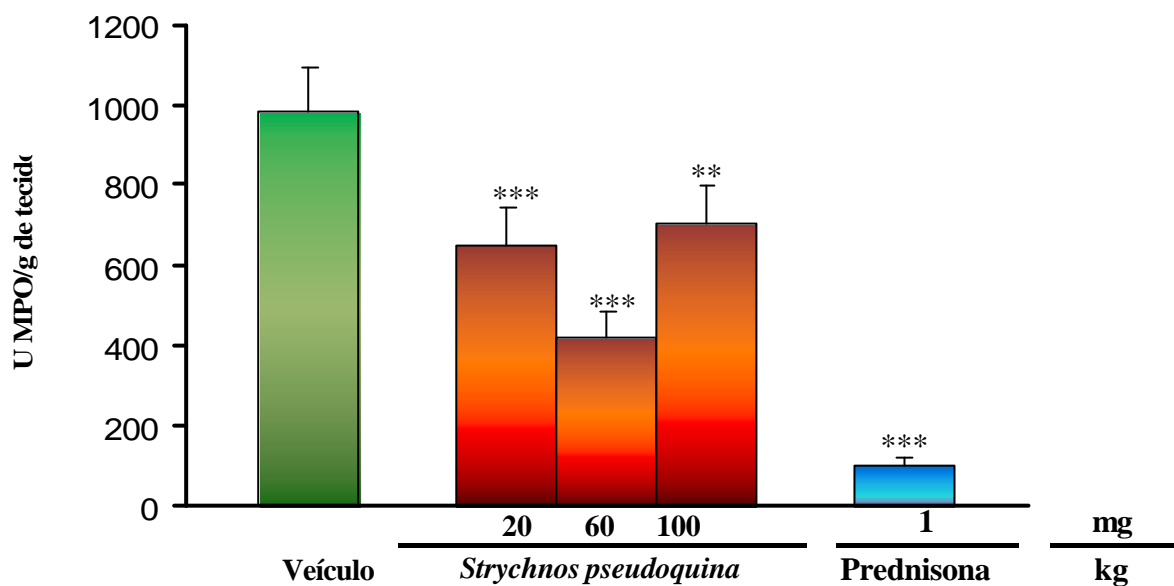


Figura 8. Efeito do Extrato metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp) sobre a atividade da mieloperoxidase (MPO) intestinal na colite por ácido acético 4% em ratos. Os níveis de MPO foram analisados 24 h após a administração intracolônica de ácido acético 4%. O veículo (água destilada, 10 mL/kg, v.o), EMSp (20, 60 e 100 mg/kg, v.o) e prednisona (1 mg/kg, v.o) foram administrados 24 e 2 horas antes da indução. Cada coluna representa a Média \pm E.P.M de 10 animais. ANOVA seguida do teste Student-Newman-Keul. *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$ vs. Veículo.

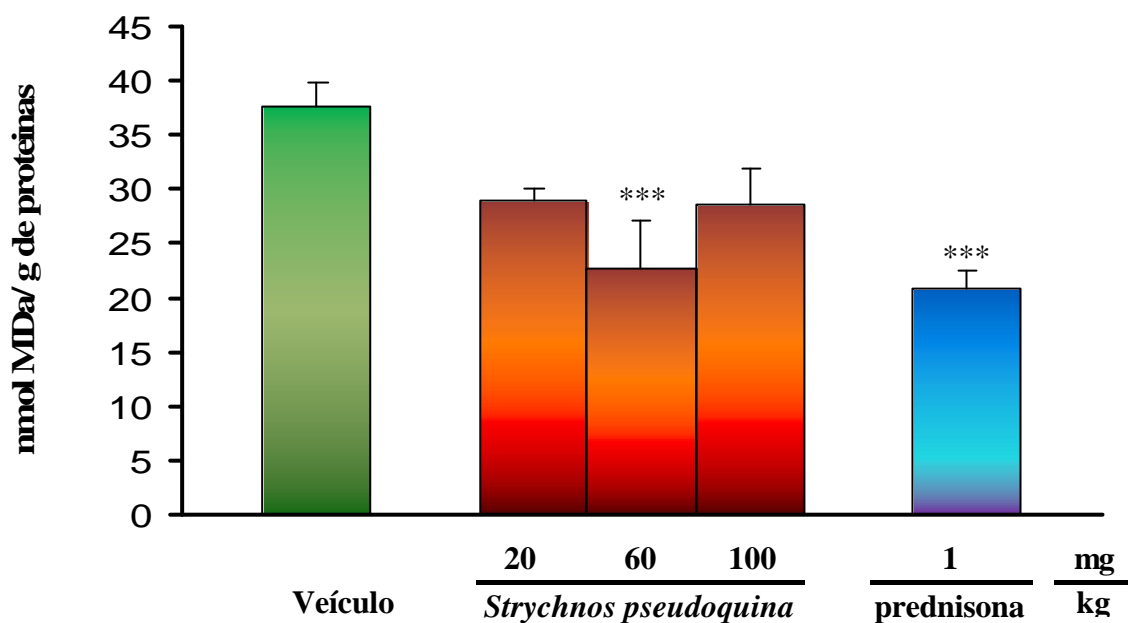


Figura 9. Efeito do Extrato metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp) sobre o malonaldeído intestinal na colite por ácido acético 4% em ratos. Os níveis de MDA foram analisados 24 horas após a administração intracolônica de ácido acético 4%. O veículo (água destilada, 10 mL/kg, v.o), EMSp (20, 60 e 100 mg/kg, v.o) e prednisona (1 mg/kg, v.o) foram administrados 24 e 2 horas antes da indução. Cada coluna representa a Média \pm E.P.M de 10 animais. ANOVA seguida do teste Student-Newman-Keul. *** $p < 0,001$; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ vs. Veículo.

4.2. Injria Intestinal Induzido por Isquemia-Reperfusão (Kimura et al, 1998).

4.2.1. Avaliação dos parâmetros bioquímicos

No modelo de isquemia - reperfusão intestinal em ratas, o pré tratamento com EMS_p demonstrou proteção diante do estresse oxidativo nas três doses administradas. Os valores de GSH nos grupos tratados ($291,81 \pm 12,77$; $296,65 \pm 26,76$ e $222,85 \pm 23,04$ nmolGSH/g tec) nas dose de 20, 60 e 100 mg/kg respectivamente, aumentaram de modo significativo ($p < 0,001$) quando comparados ao grupo veículo ($104,66 \pm 17,69$ nmols/g. tec) (**Figura 10**).

A migração leucocitaria avaliada indiretamente pela medida da atividade da enzima MPO, foi inibida significativamente apenas na dose de 60 mg/kg de EMS_p ($282,61 \pm 36,67$ Umol, $p < 0,01$) comparado ao grupo controle ($553,00 \pm 86,82$ Umol), sendo que o grupo Sham representou os valores médios em animais fisiológicos ($139,02 \pm 32,07$ Umol) (**Figura 11**).

Figura 12. Observou-se uma leve proteção contra a peroxidação lipidica de membrana celular, verificada mediante significativa diminuição das substancias reativas ao TBARS nas três doses ($41,92 \pm 4,55$ nmols, $p < 0,05$; $38,19 \pm 3,61$ nmols, $p < 0,05$; $40,12 \pm 3,74$ nmols, $p < 0,05$) comparados ao veículo ($54,96 \pm 7,70$ nmols).

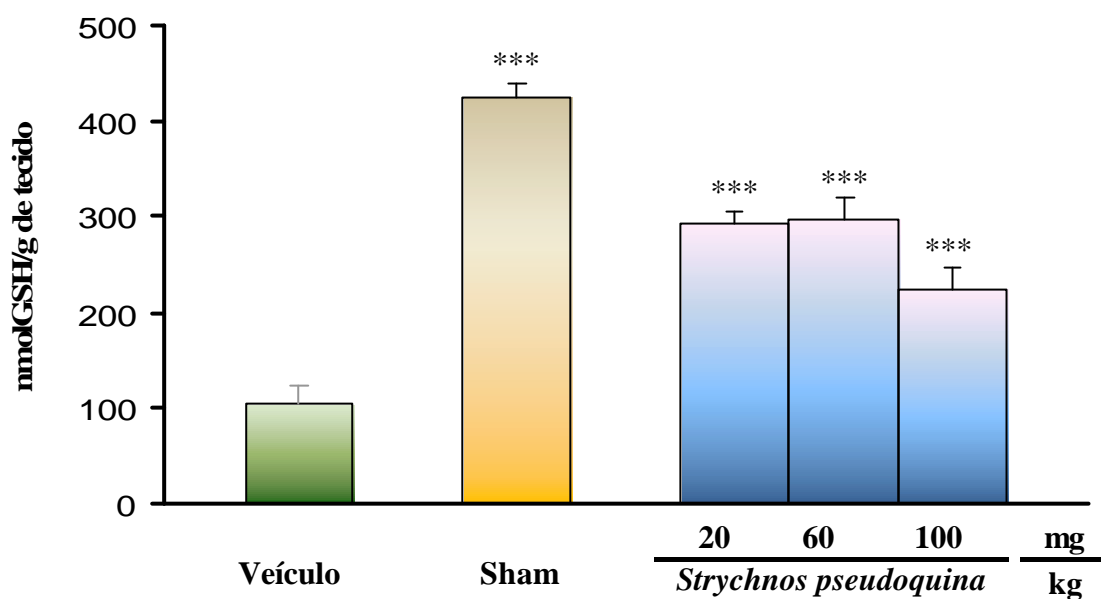


Figura 10. Efeito do Extrato Metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp) sobre os níveis de glutathiona (GSH) nas lesões celulares induzidas por isquemia -reperfusão em ratas. Os animais foram tratados por via oral com veículo (água destilada, 10 mL/kg), EMSp (20, 60 e 100 mg/kg) 18 e 2h antes da indução da isquemia por clampeamento da artéria mesenterica inferior por 30min e 1h reperfusão. Os dados estão expressos como Média ± E.P.M. para 10 animais. ANOVA uma via, seguida do teste de Student-Newman-Keul. ***p<0,001 vs. veículo.

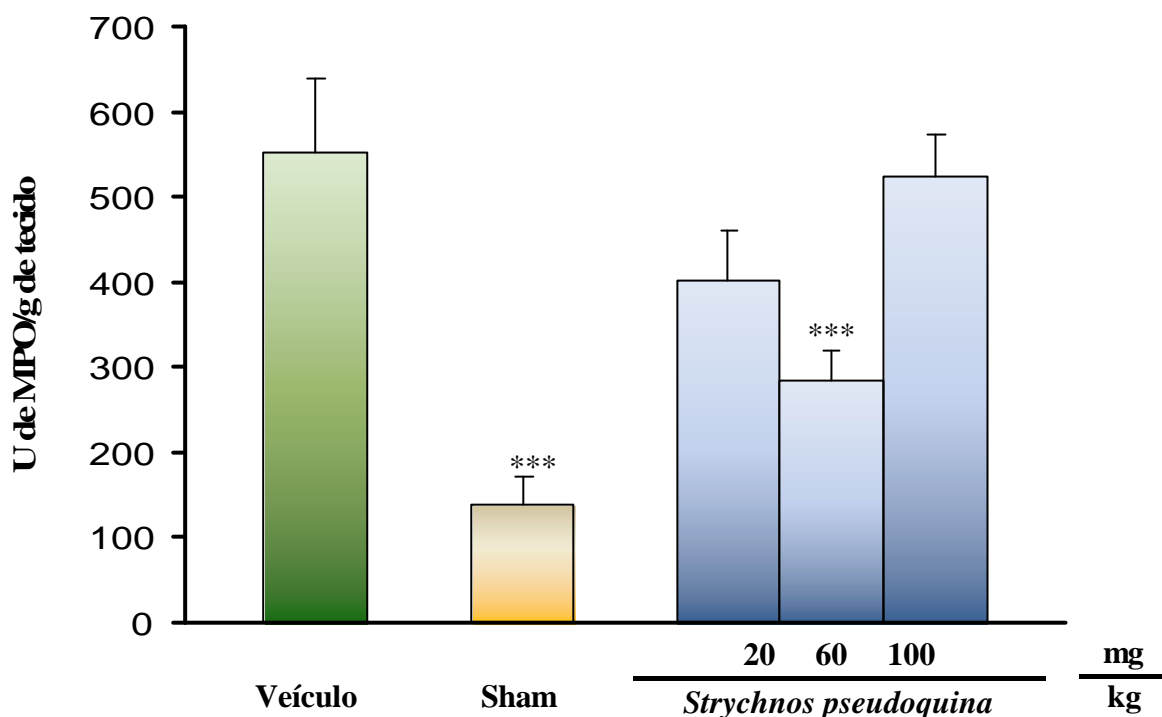


Figura 11. Efeito do Extrato Metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp) sobre a atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) nas lesões celulares induzidas por isquemia - reperfusão intestinal em ratas. Os animais foram tratados por via oral com veículo (água destilada, 10 mL/kg), EMSp (20, 60 e 100 mg/kg) 18 e 2 h antes da indução da isquemia por clampeamento da artéria mesenterica inferior por 30min. A atividade da mieloperoxidase está expressa como Média \pm E.P.M. para 10 animais. ANOVA uma via, seguida do teste de Student-Newman-Keul. *** $p < 0,001$ vs. veículo.

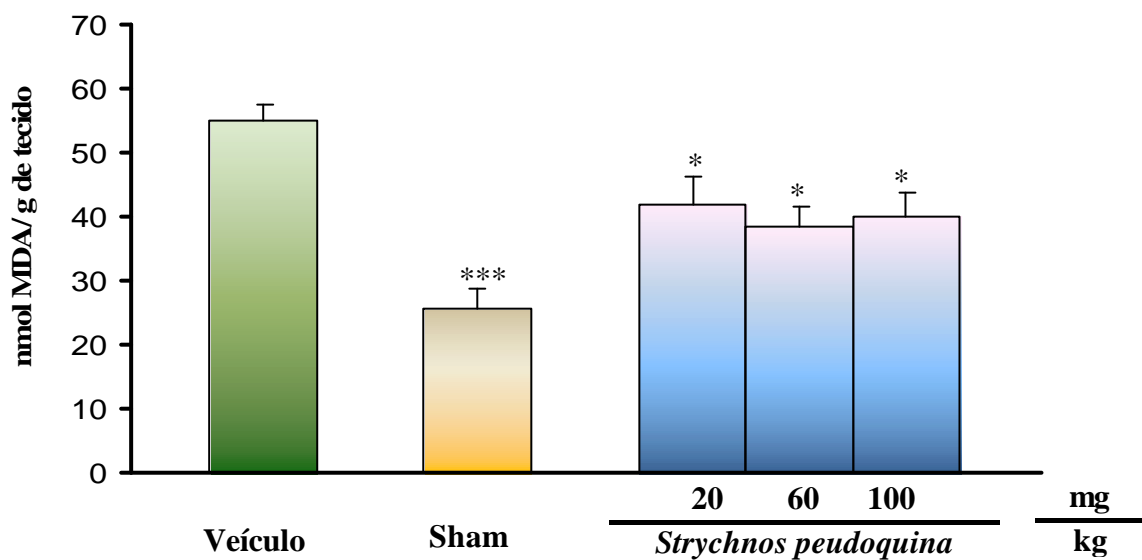


Figura 12. Efeito do Extrato Metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp) sobre o malonaldeído (MDA) nas lesões celulares induzidas por isquemia - reperfusão em ratas. Os animais foram tratados por via oral com veículo (água destilada, 10 mL/kg), EMSp (20, 60 e 100 mg/kg) 18 e 2 h antes da indução da isquemia por clampeamento da artéria mesenterica inferior por 30min e 1h de reperfusão. Os níveis de GSH estão expressos como Média \pm E.P.M. para 10 animais. ANOVA uma via, seguida do teste de Student-Newman-Keul. *** $p < 0,001$; * $p < 0,05$ vs. veículo.

4.3. Colite Aguda induzida por Ácido Trinitrobenzeno Sulfônico (TNBS)

4.3.1. Consumo alimentar e Peso corporal

Após a indução de colite por TNBS/etanol, somente os animais não-colíticos (branco) restabeleceram seu consumo, apresentando aumento no seu peso corporal no quinto e sexto dias (**Figuras 13 e 14**).

O consumo alimentar foi reduzido nos grupos colíticos tratados em torno de 40%, e em torno de 58% no grupo controle colítico. Porém, durante os últimos quatro dias do experimento, todos os animais aumentaram o consumo alimentar em 85%, embora o grupo colite controle continuasse perdendo peso.

Todos os grupos tratados com as associações terapêuticas ganharam peso, sendo que Mz20+Sp60 foi a associação que apresentou maior percentual de ganho (60%), bastante similar ao grupo não-colítico (branco). Dos animais tratados com terapêutica única apenas o grupo que recebeu a quercetina 3-O-metil éter não apresentou alteração no padrão corpóreo.

Os animais do grupo colítico controle, que receberam apenas água destilada, tiveram seu peso corporal reduzido em aproximadamente 60% (**Figura 14**).

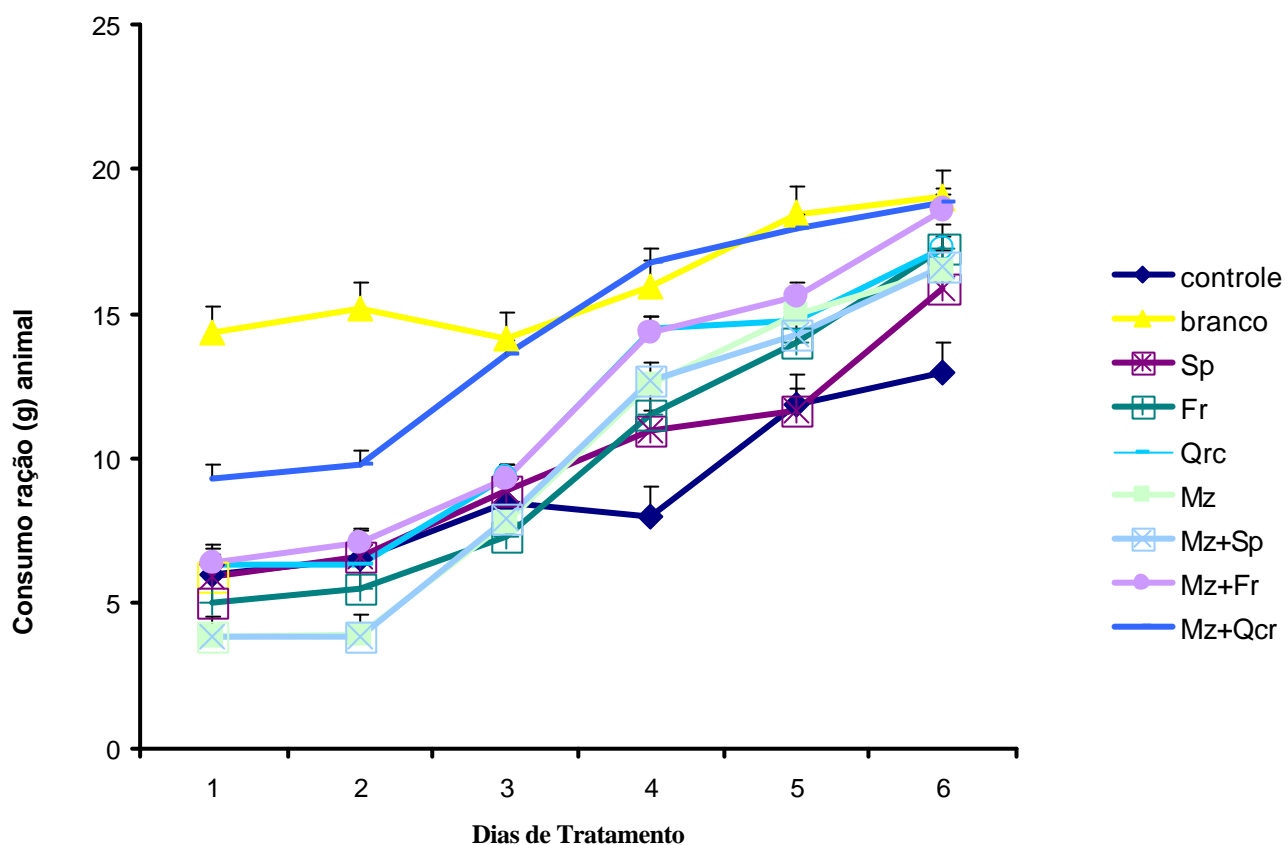


Figura 13. Consumo de ração dos animais após colite induzida por ácidotrinitrobenzeno sulfônico. Os valores representam a média \pm E.P.M. para 7-8 animais. Controle (Veículo), Sp (EMSp 60 mg/kg), FR (Fração acetato de etila 20 mg/gk), Qrc (quercetina 3-0-metil éter 1 mg/kg), Mz (Mesalazina 20 mg/kg) Mz+Sp (mesalizana 20 +EMSp60), Mz+Fr (mesalazina20 + Fração 20 mg/kg), Mz + Qrc (mesalazina20 + Quercetina 1 mg/kg)

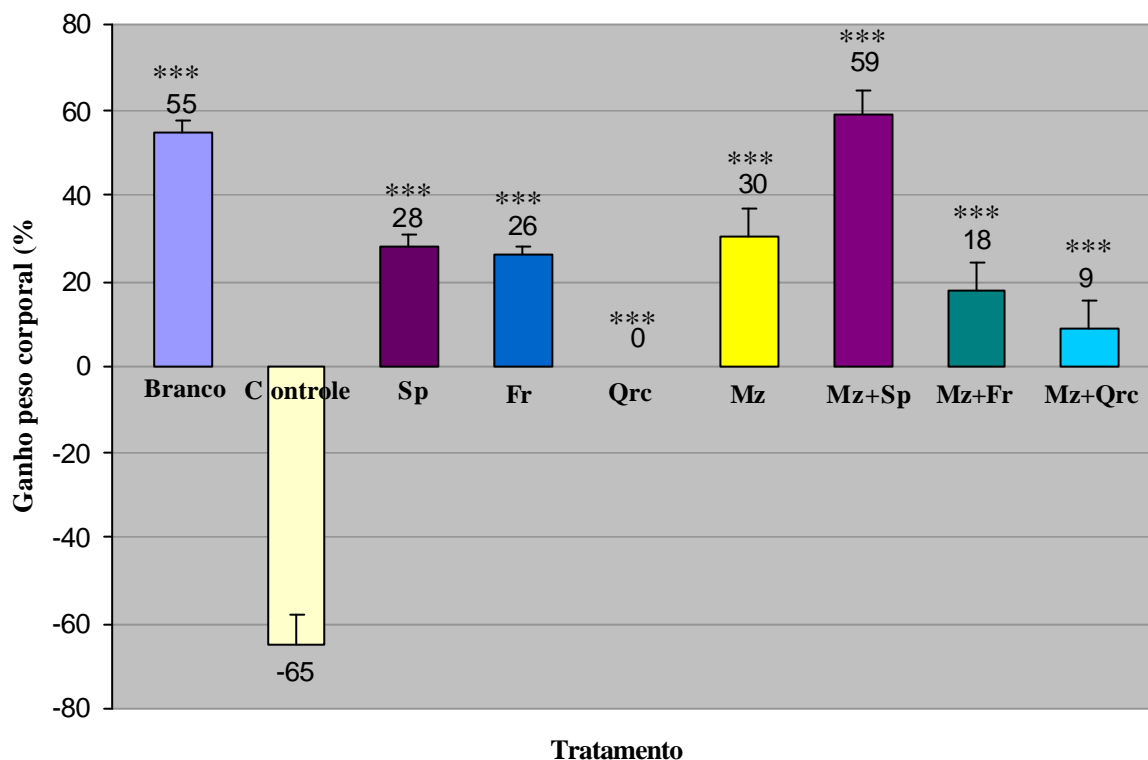


Figura 14. Ação da colite induzida por Ácidotrinitrobenzeno sulfônico sobre o ganho peso dos animais Média do peso corporal dos animais após 7 dias de experimento. Cada coluna representa a Média \pm E.P.M de 7-8 animais. Controle (Veículo), branco, Sp (EMSp 60 mg/kg), FR (Fração acetato de etila 20 mg/gk), Qrc (quercetina 3-0-metil éter 1 mg/kg), Mz (Mesalazina 20 mg/kg) Mz+Sp (mesalizana 20 +EMSp60), Mz+Fr (mesalazina20 + Fração 20 mg/kg), Mz + Qrc (mesalizana20 + Quercetina 1 mg/kg). Teste de Student.

4.3.2. Razão peso/ Comprimento do cólon (P/C)

O processo inflamatório, responsável pela lesão colônica, está associado a um aumento na razão peso-comprimento (mg/cm) do cólon. Dentre todos os tratamentos, apenas os grupos tratados com a fração acetato de etila e quercetina 3-O-metil éter foram capazes de produzir uma diminuição significativa na razão P/C do cólon ($180,47 \pm 10,71$ mg/cm $p < 0,01$; $175,47 \pm 10,51$ mg/cm $p < 0,01$) respectivamente, comparados ao grupo controle colítico ($276,31 \pm 31,61$ mg/cm) (**Tabela 12**).

4.3.3. Incidência de diarreia e aderências

A diarreia, decorrente do processo inflamatório induzido pelo TNBS/etanol, ocorreu no grupo controle e em todos os grupos tratados (**Tabela 12**). O processo inflamatório intestinal, produzido pela administração intracolônica TNBS/etanol, pode desencadear a aderência do intestino com os órgãos adjacentes. O grupo controle-colite (água destilada) apresentou diarreia e aderência em 100% dos animais, sendo que o grupo branco (não colítico) não apresentou nenhum sinal de inflamação. Todos os grupos com tratamento diminuíram os sinais de diarreia e aderência, com destaque para o grupo tratado com Mz20+Qrc1 que reduziu estes sinais em 71 e 58% respectivamente, quando comparados ao grupo controle.

A mucosa intestinal também foi avaliada macroscopicamente segundo os critérios estabelecidos por Bell et al (1995)⁽¹⁶⁷⁾: o grupo branco não apresentou alterações na mucosa recebendo índice 0; já o grupo controle colítico obteve índice 7 (6,5 – 8). Quando este parâmetro foi comparado entre os grupos pôde demonstrar-se que apenas os grupos Qrc1

(2[2-3,5] p<0,05) e Mz20 + Qrc1 (1[1-2] p<0,001) reduziram seus índices significativamente quando comparados ao grupo controle (**Tabela 12**).

Tabela 12. Efeito dos Tratamentos com Extrato Metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp), Fração Acetato de Etila (Fr), quercetina 3-O-metil éter (Qrc), Mesalazina (Mz), Mz+ EMSp, Mz + Fr, Mz + Qrc no índice de lesão, razão peso/comprimento colônico, incidência de diarreia e aderência, na fase crônica da colite induzida por TNBS em ratos.

Grupo	Escore^a (0-10)	P/C colônico^b (mg/c)	Diarreia^t (%)	Aderência^t (%)
Branco	0(0-0)***	105,76 ± 4,02***	0	0
controle	7(6,5-8)	276,31 ± 31,61	100	100
Sp60	4(2-6) #	228,16 ± 32,06##	86	86
Fr20	4(3-4,5)	180,47 ± 10,71** #	75	62
Qrc1	2(2-3,5)*	175,47 ± 10,51** #	50	38
Mz20	5(4-6) ##	239,54 ± 19,78	57	57
Mz20+Sp60	3(3-5)	238,68 ± 31,17##	58	58
Mz20+Fr20	5(2-6)	228,28 ± 20,88##	42	57
Mz20+Qrc1	1(1-2)***	202,21 ± 14,41##	29	42

^a escores representam a Mediana (Q₁; Q₃), onde Q₁ e Q₃ referem-se ao 1º e 3º quartis para 8 animais, ^b razão peso-comprimento colônico expressos em Média ± E.P.M. ANOVA seguida do teste Student-Newman-Keuls. * p< 0,05, ** p< 0,01, ***p< 0,001 vs controle; # P< 0,05, ## P< 0,01, ### P<0,001 comparado ao grupo branco. ^t percentual de incidência. Controle (Veículo), branco, Sp (EMSp 60 mg/kg), FR (Fração acetato de etila 20 mg/kg), Qrc (quercetina 3-0-metil éter 1 mg/kg), Mz (Mesalazina 20 mg/kg) Mz+Sp (mesalazina 20 +EMSp60), Mz+Fr (mesalazina20 + Fração 20 mg/kg), Mz + Qrc (mesalazina20 + Quercetina 1 mg/kg)

4.3.4. Avaliação Microscópica do tecido

A administração intracolônica de TNBS causou danos extensivos na superfície do epitélio da mucosa, variando a severidade entre os grupos tratados. Na avaliação histológica,

a mucosa e submucosa do cólon dos animais branco (não-colíticos) apresentaram estrutura do cólon normal, onde se podem observar a mucosa, com as glândulas tubulares retas com células califormes e lâmina própria não edemaciada e, a submucosa com tecido conjuntivo frouxo e também não edemaciada (**Figura 15A**). O grupo controle apresentou ulceração no epitélio da mucosa do cólon (**Figura 15B**) e os danos da mucosa foram acompanhados pela presença de células inflamatórias (monócitos e granulócitos) na lâmina própria e na submucosa atingindo a serosa. Os ratos tratados com Mesalazina 20 mg/kg mostraram a mucosa menos ulcerada e com menor infiltração de células inflamatórias (**Figura 15C**). O grupo EMSp 60 mg/kg apresentou a mucosa recuperada com leve infiltração celular na submucosa após indução da colite (**Figura 15D**). O grupo tratado com Fração acetato de etila 20 mg/kg apresentou leve destruição no epitélio da mucosa durante o experimento e moderada infiltração celular (**Figura 15E**), já o grupo Quercetina 1 mg/kg apresentou apenas leve infiltrato de células inflamatórias na lamina própria (**Figura 15F**). Os animais tratados com o fármaco de referência usada no estudo associado ao EMSp 60 (Mesalazina 20+ EMSp60 mg/kg) (**Figura 15G**) apresentaram ulceração no epitélio da mucosa com infiltração de células inflamatórias semelhantes ao grupo (Mz20) (**Figura 15B**), após a indução da colite no grupo Mesalazina 20 + Fração 20 mg/kg também houve ulceração epitelial com infiltração de submucosa (**Figura 15H**). O processo inflamatório nos animais colíticos também foi associado à hiperplasia e dilatação das criptas, com moderada depleção nas células caliciformes com aparente redução na produção de muco (**Figura 15B, 15C, 15D, 15F, 15G e 15H**). A depleção de células caliciformes foi menos severa no grupo tratado com Mesazina 20+Quercetina 1 mg/kg (**Figura 15I**) onde se observa o epitélio preservado e as demais camadas.

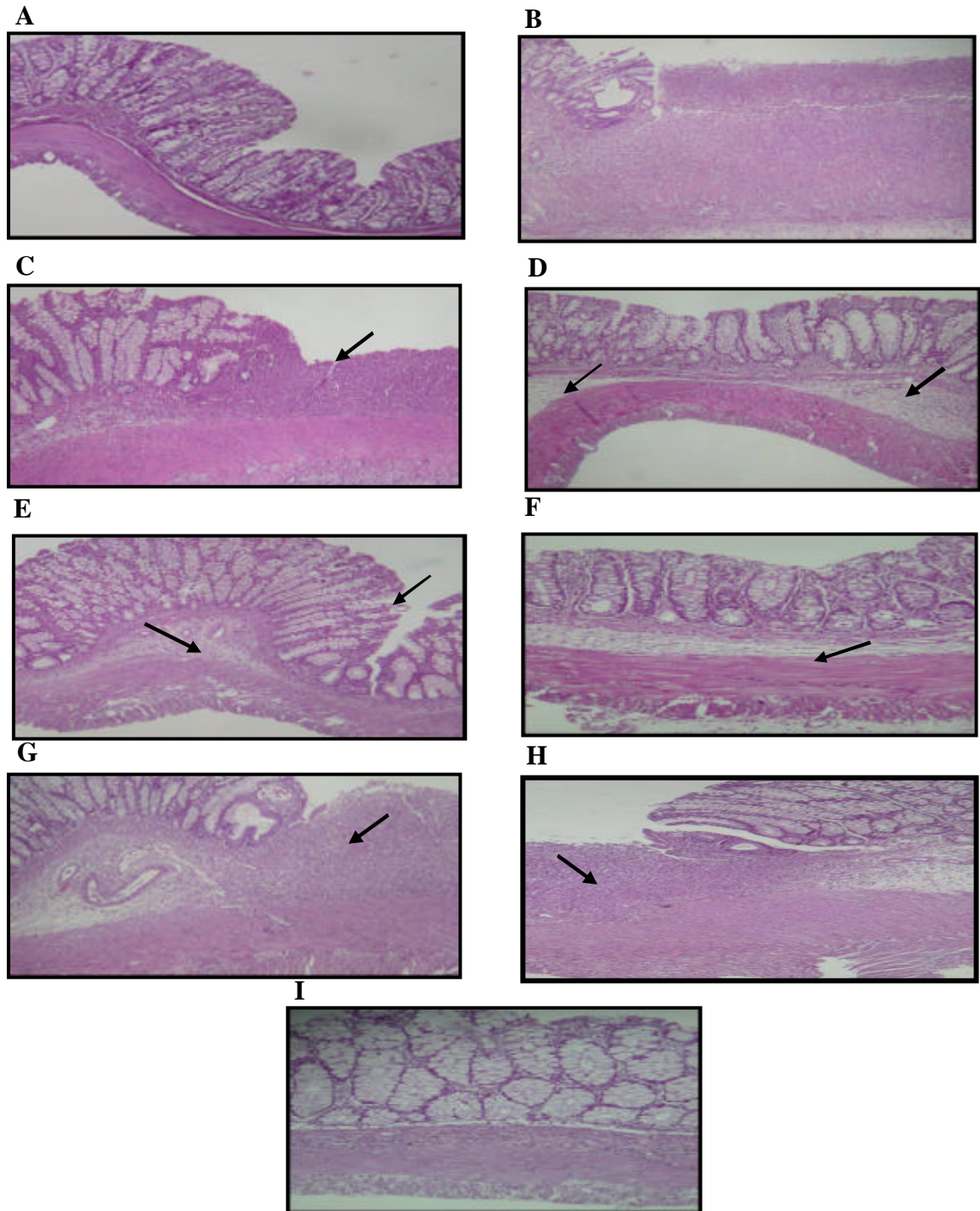


Figura 15: Fotomicrografias da mucosa do cólon de ratos após indução de colite por TNBS/etanol. (A) grupo não-colítico (branco), mostrando a histologia do cólon normal; (B) grupo controle, com ulceração severa, com destruição da camada epitelial e intenso infiltrado inflamatório da submucosa até a serosa; (C) grupo Mz20 ulceração moderada comprometendo apenas epitélio e lamina própria (Seta); (D) grupo Sp 60 intenso infiltrado inflamatório na submucosa promovendo edema moderado nesta camada (seta); (E) grupo Fr 20 desestruturação da camada epitelial com infiltração de células inflamatórias na lamina própria (mucosa) (seta); (F) grupo Qrc 1, leve infiltração celular na mucosa (seta); (G) grupo Mz20+Sp60, ulceração moderada com infiltração celular da camada mucosa (seta); (H) grupo Mz20+Fr20, ulceração moderada com leve infiltração celular da mucosa; (I) grupo Mz20+Qrc1. (Barra = 10 μ m).

4.3.5. Avaliação dos parâmetros bioquímicos

A progressão do processo inflamatório no grupo controle também foi observada bioquimicamente mediante a dosagem da MPO, que se mostrou aumentada sete dias após a instilação de TNBS quando comparada àquela dos animais não colíticos (branco). Os níveis de GSH também se mostraram reduzidos significativamente (**Tabela 13**).

O tratamento combinado Mz20 + Qrc1 manteve os níveis de GSH colônicos, obtendo melhores resultados que a Mz20 quando testada isoladamente. Estes níveis também foram mantidos mediante tratamento com Qrc1, Fr20 e Mz20 + Sp60 (**Tabela 13**). Já os níveis de MPO foram reduzidos em todos os tratamentos quando comparados ao grupo controle colítico.

Tabela 13. Efeito dos Tratamentos com Extrato Metanólico da *Strychnos pseudoquina* (EMSp), Fração Acetato de Etila (Fr), quercetina 3-O-metil éter (Qrc), Mesalazina (Mz), Mz+ EMSp, Mz + Fr, Mz + Qrc no conteúdo de Glutationa (GSH) e Mieloperoxidase (MPO).

Grupo	GSH (nmol/g tecido)	MPO (U/g tecido)
Branco	1312,2 ± 44,10 ^{***}	89,72 ± 5,27 ^{***}
Controle	703,49 ± 51,77 ^{†††}	643,27 ± 32,22 ^{†††}
Sp60	814,03 ± 73,31 ^{†††}	404,70 ± 30,04 ^{***†††}
Fr20	1010,0 ± 22,44 ^{***†}	234,67 ± 23,11 ^{***†††}
Qrc1	1154,3 ± 37,90 ^{***†}	182,81 ± 10,96 ^{***†††}
Mz20	849,26 ± 36,55 ^{†††}	326,52 ± 22,07 ^{***†}
Mz20+Sp60	964,00 ± 34,65 ^{***†††}	270,37 ± 28,06 ^{***†††}
Mz20+Fr20	1021,0 ± 45,09 ^{***†}	240,14 ± 39,02 ^{***††}
Mz20+Qrc1	1115,4 ± 47,38 ^{***†}	136,62 ± 13,41 ^{***}

Os níveis de GSH e MDA foram analisados 7 dias após a administração intracolônica de TNBS/etanol O veículo (água destilada, 10 mL/kg v.o), e todos os tratamentos foram administrados v.o diariamente por 7 dias. Os valores representam a Média ± E.P.M de 7-8 animais. ANOVA seguida do teste Student-Newman-Keuls. ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05 vs. Controle e †††p<0,001; ††p<0,01; †p<0,05 vs. Branco. Controle (Veículo), branco, Sp (EMSp 60 mg/kg), FR (Fração acetato de etila 20 mg/kg), Qrc (quercetina 3-O-metil éter 1 mg/kg), Mz (Mesalazina 20 mg/kg) Mz+Sp (mesalazina 20 +EMSp60), Mz+Fr (mesalazina20 + Fração 20 mg/kg), Mz + Qrc (mesalazina20 + Quercetina 1 mg/kg)

DISCUSSÃO

A Colite ulcerativa e a Doença de Crohn, constituem um processo inflamatório crônico do trato gastrointestinal de etiologia desconhecida e, até o momento, sem terapia efetiva em longo prazo. Apesar de não conhecermos a etiologia, teorias sugerem que a DII desenvolva-se a partir de uma resposta imunológica inapropriada ou exacerbada contra a microbiota de um indivíduo geneticamente susceptível⁽¹⁷³⁾; defeitos na função de barreira do epitélio intestinal e o sistema imune de mucosa contribuem para a patogênese da doença⁽¹⁷³⁾. Sabemos ainda que a infiltração de leucócitos no local da inflamação leva a elevação da síntese local de mediadores inflamatórios não-específicos, tais como citocinas, eicosanóides, óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (EROs), que aumentam a destruição tecidual e levam a manifestações clínicas da doença⁽¹⁸¹⁾. Apesar de todos estes conhecimentos, na atualidade dispõe-se apenas de agentes que simplesmente melhoram os sintomas e não tratam à causa. E ainda, devido ao longo período de tratamento, apresentam efeitos colaterais na maioria dos casos⁽¹⁷⁴⁾.

Neste sentido, para o desenvolvimento de aproximadamente 50% de todos os produtos farmacêuticos introduzidos no mercado nos últimos 20 anos, têm sido utilizadas substâncias presentes habitualmente na natureza⁽¹⁷⁵⁾. O desenvolvimento do ácido acetil salicílico ou Aspirina[®] é um exemplo típico e bem sucedido desta estratégia. Outros importantes medicamentos que tiveram a sua origem de fontes naturais são a sinvastatina, o enalapril, a ciprofloxacina, a ciclosporina, e o taxol entre outros. O uso de terapia complementar entre pacientes com DII, particularmente a fitoterapia, é bastante difundido tanto no mundo ocidental como em muitos países asiáticos, incluindo a China e a Índia.⁽¹⁷³⁾ Tem-se notado que o uso desta forma de terapia vem aumentando nos últimos anos, a despeito do pequeno número de estudos controlados delineando a segurança e a eficácia

destes produtos ⁽¹⁷⁵⁾. Contudo, têm surgido evidências de que muitas destas substâncias apresentem propriedades antiinflamatórias e moduladoras do sistema imune, através de uma variedade de mecanismos: efeitos antioxidantes, alteração da via de sinalização celular (em particular a via do fator nuclear Kappa B), expressão de citocinas e moléculas de adesão, etc. ⁽¹⁷⁶⁾. É importante enfatizar que as terapias “naturais” nem sempre são seguras, e que podem apresentar perigos potenciais, como problemas renais ou hepáticos, ou até interações com drogas da terapia convencional ⁽¹⁷⁷⁾.

O nosso interesse em verificar a segurança e a eficácia da *Stychnos pseudoquina* para o tratamento da DII parte do pré-suposto de que seja necessário primeiramente verificar sua segurança para só então testarmos sua eficácia. Esta planta pertence a um gênero já bastante estudado, mas, que conta com poucos dados referentes especificamente a ela na literatura.

A avaliação da toxicidade de um produto natural, mesmo quando este já é utilizado largamente por uma determinada população, é o primeiro procedimento a ser adotado quando se inicia um processo de validação científica. Sendo assim, testamos primeiro sua segurança através de estudos de toxicidade aguda, nos quais o EMS_p se mostrou seguro nas doses administradas por via oral. Esta foi escolhida por ser a via de utilização consagrada pelo uso popular, segundo levantamentos etnobotânicos ⁽¹⁵⁴⁾. Silva et al. (2005) ⁽¹⁵¹⁾ obtiveram resultados semelhantes quando avaliou a toxicidade aguda do extrato metanólico das folhas da *S. pseudoquina* nas doses de 250 e 1000 mg/kg ⁽¹⁵¹⁾.

Porém, estudos para avaliação de atividade genotóxica do extrato metanólico das folhas, concluíram a partir de ensaios com *Salmonella typhimurium* em micronúcleos de células de sangue periférico de camundongos Swiss tratados in vivo, que os componentes desse extrato possuem propriedades mutagênicas ⁽¹⁵²⁾. É importante ressaltar que esta investigação foi realizada com a entrecasca (e não as folhas) da mesma planta, não podendo,

portanto, afirmar que a mesma também seja mutagênica, o que torna necessários estudos complementares neste sentido.

Após análise da toxicidade aguda, foi testada a segurança sub-crônica demonstrando-se que o extrato aumentou significativamente os níveis de colesterol sanguíneo, especialmente nas doses mais elevadas. Alguns dos constituintes do EMS_p (entre eles flavonóides, esteróides livres, alcalóides entre outros) em conjunto poderiam estar contribuindo para este achado. ⁽¹¹⁸⁾.

O que nos faz questionar este resultado é o fato de os flavonóides estarem presente em maior percentagem neste extrato e sabermos que muitos deles apresentam propriedades antiinflamatórias e protetoras diante de radicais livres e capacidade de reduzir a hiperlipidemia ⁽¹¹⁸⁾, pois os flavonóides das raízes de *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz), eles são utilizados clinicamente no tratamento de hiperlipidemia e aterosclerose. O seu mecanismo de ação é explicado pela regulação dos receptores de LDL, pelo aumento do turnover da apolipoproteína B, pela diminuição do LDL e pela estabilização da membrana tecidual. ^(118; 178); e é esta ação que seria a esperada no EMS_p, pois seu constituinte majoritário é um flavonóide.

Porém, na literatura científica aparecem muitos medicamentos utilizados para fins específicos e que apresentam a dislipidemia como efeito colateral. Estas substâncias têm seus mecanismos de ação completamente estabelecidos, porém, desconhece-se o mecanismo que estaria conduzindo à dislipidemia como efeito secundário, especialmente após seu uso prolongado. Podemos citar como exemplos os diuréticos, os antiretrovirais, o propranolol e (os mais clássicos dentre eles) os corticóides. E neste caso devemos remarcar o fato do EMS_p apresentar também em sua constituição esteróides livres, como possíveis agentes indutores da dislipidemia verificada nesta análise ⁽¹¹⁷⁾.

Apesar do aumento de colesterol total, análises provenientes da mesma amostra mostraram níveis diminuídos de ácido úrico, possivelmente pela ação inibidora da xantina-oxidase pertinente aos flavonóides ⁽¹¹⁸⁾.

Após a análise toxicológica, e verificada a segurança da utilização desta planta, foram realizados testes para avaliar a eficácia na DII a partir de diferentes modelos de lesão intestinal buscando-se desta maneira um provável mecanismo de ação, o EMS_p foi testado então quanto a sua capacidade antioxidante e anti-radicaís livre pelo modelo de isquemia e reperfusão intestinal, considerado ideal neste estudo, pelo fato de diversos mecanismos estarem envolvidos na produção de lesões intestinaís ⁽¹⁷⁹⁾. Durante a fase isquêmica ocorre diminuição do aporte de oxigênio para o tecido, levando à inibição da fosforilação oxidativa mitocondrial e à queda da produção e estoque de adenosina trifosfato (ATP). No entanto, o estoque de ATP continua a ser consumido e degradado a adenosina difosfato (ADP) e a adenosina monofosfato (AMP) e, posteriormente, em adenosina, inosina e hipoxantina ⁽¹⁸⁰⁾.

Pela ação de uma protease citosólica, a xantina desidrogenase (XD) é convertida à xantina oxidase que diferentemente da XD, precisa de oxigênio para realizar a conversão da hipoxantina em xantina. Portanto, na fase isquêmica ocorreria o acúmulo dessas duas substâncias. ⁽¹⁸¹⁾. Com a reperfusão, a hipoxantina é então oxidada a xantina, e esta, a ácido úrico, tendo como subproduto um ânion superóxido instável, que se converte em peróxido de hidrogênio, e este em água por ação da catalase e da glutathiona peroxidase.

Devido ao acúmulo de hipoxantina e xantina oxidase durante a isquemia, a produção de radicaís livres na reperfusão termina sobrepujando a capacidade neutralizante dos antioxidantes endógenos, e esse excesso de radicaís livres podem lesar o sistema de homeostase celular, provocando oxidação de membranas e liberação de ácido aracdônico, que é metabolizado pelas cicloxigenases e lipoxigenases em mediadores inflamatórios.

Promovem lipoperoxidação adicional, retirando um hidrogênio do ácido graxo, dando origem a uma reação em cadeia, cujo produto final é o malonaldeído (MDA), cuja dosagem é utilizada como marcador de lesão de membrana celular ^(180; 182).

Os radicais livres, além de oxidarem os sistemas e membranas celulares, também atuam como fatores quimiotáticos, atraindo e ativando neutrófilos. Estes secretam enzimas proteolíticas (mieloperoxidases, elatases, proteases, etc.), sintetizam prostaglandinas e liberam mais radicais livres criando um ciclo vicioso ⁽¹⁸³⁾.

Pelos valores obtidos nas análises bioquímicas podemos confirmar as propriedades antiinflamatórias da *S. pseudoquina*, que já havia sido testada em nosso laboratório em pesquisas anteriores por Jesus et al (2007) ⁽¹⁵⁴⁾, o que se verificou agora foi sua capacidade de proteger contra um estresse oxidativo pela isquemia do intestino delgado, onde os níveis de glutathione foram preservados como consequência do pré-tratamento com o EMS*p*. O fato de a glutathione estar em níveis próximos aos dos animais não submetidos ao estresse (o EMSs estaria aumentando os níveis de GSH, ou teria ele mesmo a capacidade antioxidante), colaborou para a neutralização dos radicais livres gerados pela isquemia no momento da reperfusão, conseqüentemente tem-se menos fatores quimiotáticos sendo liberados na micro circulação por conseguinte menos neutrófilos migrando para o local da injúria; o que diminui a liberação de EROs e formação de radicais livres lesando menos o tecido comprometido.

O menor número de neutrófilos locais é verificado de forma indireta pela medida da atividade da enzima MPO, que se encontrou diminuída não só no modelo de isquemia e reperfusão, como nos demais modelos. Um fato curioso (e que pode ser explicado pela química de produtos naturais), é que a diminuição da atividade da MPO não se deu de forma dose-dependente, obtendo-se melhor resultado na dose de 60 mg/kg, provavelmente por ser nesta dose que os flavonóides estariam em sua concentração ótima de trabalho. Pois apesar

de serem hábeis antioxidantes, reduzindo radicais livres altamente oxidados, os flavonóides possuem o indesejável efeito pró-oxidante quando em altas concentrações⁽¹¹⁸⁾.

Resultados semelhantes foram encontrados por outros pesquisadores quando avaliaram a capacidade antiinflamatória de vários flavonóides como diosmina e hesperidina⁽¹⁸⁴⁾, quercitrina⁽¹⁹⁸⁾ e silimarina⁽¹⁸⁶⁾, e para a paepalantina⁽¹⁸⁷⁾, em baixas doses esses compostos se comportam como antioxidantes e antiinflamatórios e em altas doses, como pró-oxidantes e pró-inflamatórios.

Estes resultados foram semelhantes nos três modelos experimentais de inflamação intestinal, com ligeiras variações nos níveis das substancias analisadas e estas variações dependem principalmente da via de desenvolvimento da fisiopatologia em cada modelo. Porém os resultados do modelo de colite por TNBS serão discutidos separadamente por possuírem um desenho experimental diferente, voltado para elucidação das propriedades do principal constituinte da *S. pseudoquica*.

Uma vez diminuída a atividade de MPO e com níveis de GSH preservados, a peroxidação de lipídios de membrana oriundos da lesão celular também se encontrou reduzida, revelando níveis significativamente baixos de MDA em relação ao controle veículo. El-Abhar et al. (2008)⁽¹⁸⁸⁾ obtiveram resultados semelhantes ao analisar o extrato de *Zingiber officinales* Roscoe em colite induzida por ácido acético em ratos. Paiva et al (2004)^(132; 133) também observaram a diminuição nos níveis de MDA quando experimentaram o óleo-resina de *Copaifera langsdorffii* contra colite por ácido acético e na isquemia e reperfusão, resultados que determinaram o menor dano da mucosa colônica.

Neste trabalho, ao avaliar macroscopicamente a mucosa intestinal dos ratos após colite por ácido acético podemos constatar que os animais pré-tratados com EMS_p apresentaram menos dano de mucosa e estes resultados se aproximaram aos resultados obtidos pelo pré-tratamento com prednisona um potente antiinflamatório esteroide que atua

diminuindo a migração e ativação de neutrófilos e macrófagos devido à redução da transcrição de genes responsáveis pela produção de fatores de adesão e citocinas pró-inflamatórias, também reduz a expressão de cicloxigenase-2 (COX-2) com conseqüente redução de prostanóides ⁽¹⁸⁹⁾, o que sugere que além das propriedades antioxidantes do EMSp estaria presente outras propriedades mais complexas, ou ainda uma soma de mecanismos de ação que daria a este extrato capacidade antiinflamatória.

A diminuição do edema verificado neste modelo é mais uma propriedade deste extrato no qual catequinas estão presentes. Já foi demonstrado que estas são capazes de diminuir o edema por carragenina (que desencadeia o processo inflamatório por prostaglandina), por dextrana (que desencadeia o processo por liberação de serotonina e histamina) e por formalina ⁽¹¹⁸⁾.

A colite induzida por TNBS em animais se assemelha a DC tanto no aspecto clínico quanto no histológico de forma que os resultados obtidos neste desenho experimental ajude na compreensão da DII em humanos, sendo que além do EMSp, também foram testados a fração acetato de etila, o isolado 5,7,3',4'-tetraidroxi-3-metoxiflavona (quercetina 3-O-metil éter) e a mesalazina um metabólito ativo da sulfassalazina que esta classificada como fármaco antireomatóide modificador da doença (ARMD), fármaco este que apresenta inúmeros efeitos colaterais e um elevado custo no tratamento da DII ⁽¹⁹⁰⁾.

Conforme estabelecido por Slinker (1998) ⁽¹⁹¹⁾, o sinergismo entre drogas deverá incluir no mínimo 4 grupos experimentais (controle, grupo com um fármaco, grupo com um segundo fármaco, grupo com os fármacos associados). Como neste modelo foram testadas mais de duas drogas, considerou-se pertinente avaliar a existência de sinergismo entre elas.

A sulfassalazina é o fármaco de primeira escolha no Reino Unido para o tratamento desta doença, não tem seu mecanismo de ação completamente elucidado, porém estudos sugerem que o ácido 5-aminossalicílico aja bloqueando a cicloxigenase diminuindo a

produção de prostaglandinas e removendo os metabólitos tóxicos oriundos do processo inflamatório ⁽¹⁹²⁾.

Estas substâncias, testadas em associação e isoladamente diminuíram a perda de peso corporal observada neste modelo como consequência principalmente dos altos níveis plasmáticos de TNF- α . Estes são produzidos após o enema de TNBS/etanol que lesa a barreira epitelial expondo a mucosa intestinal a estes haptenos que estimulam uma resposta inflamatória imunogênica com perfil predominantemente Th1 ⁽¹⁹³⁾.

O TNF- α é produzido principalmente por macrófagos, mas também por uma ampla variedade de outras células, incluindo células [linfóide](#), [mastócitos](#), [células endoteliais](#), [miócitos cardíacos](#), [tecido adiposo](#), [fibroblastos](#), e tecido [neuronal](#). Grandes quantidades de TNF são liberadas em resposta ao [lipopolissacarídeo](#), produtos [bacterianos](#) e [Interleucina-1](#) (IL-1), e age em vários sistemas orgânicos, em geral juntamente com a IL-1 e [Interleucina-6](#) (IL-6) ⁽¹⁹⁴⁾.

Dentre as ações desenvolvidas pelo TNF- α a que mais interessa neste caso é o efeito sobre o hipotálamo onde esta citocina estimula o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal a liberar o hormônio liberador de corticotropina, suprime o apetite e provoca febre, levando a quadro de caquexia quando em níveis elevados ou mesmos níveis baixos por longo período, o que explicaria a perda de peso nestes animais. Além disso, o TNF- α promove a resposta inflamatória induzindo a migração celular que amplifica este processo inflamatório transmural atingindo em alguns casos o mesentério levando a aderência dos órgãos adjacentes ao intestino ^(195;196).

Aderências foram verificadas em todos os grupos colícticos com maior ou menor intensidade sendo que os grupos que receberam a quercetina 3-O-metil éter isolada ou em associação com mesalazina foram os que apresentaram menor porcentagem de aderência entre os órgãos.

Quanto a perda de peso corporal podemos verificar que o EMS_p preservou melhor este parâmetro que a quercetina 3-O-metil éter. A avaliação dos parâmetros bioquímicos neste modelo não diferiu em termos gerais (aumento da proteção e diminuição do fator agressor) dos resultados obtidos nos modelos de inflamação intestinal discutidos anteriormente, o que vale ressaltar quando avaliamos a estes mesmos parâmetros neste desenho experimental é a possibilidade de sinergismos ou não entre as drogas testadas, já que na colite por TNBS elas foram testadas também em associações.

Como dito anteriormente a sulfasalazina e seu metabólito ativo a mesalazina atuam como antiinflamatório e antioxidante, e espera-se deste fármaco a capacidade de preservar a GSH e/ou diminuir a atividade da MPO, capacidade que foi demonstrada após os resultados obtidos nas dosagens bioquímicas destas substâncias (GSH e MPO).

Como a capacidade anti-oxidante do EMS_p, fração acetado de etila e quercetina 3 – O metil éter também foi avaliada, nós podemos comparar estes resultados quando testados isolados e quando testados em associação, e os resultados não mostraram haver sinergismos estatisticamente significativo (a pesar de apresentarem resultados superior quando testados em associação) entre a droga comercialmente estabelecida e as partes testadas da *Strychnos pseudoquina*. Reifen. et al (2003) ⁽¹⁹⁷⁾ obtiveram resultados similares quando avaliou a capacidade terapêutica do 5-ASA associada ao licopeno, nos quais estas substância juntas apresentavam resultados superiores aos resultados das substâncias isoladas ⁽¹⁹⁷⁾.

Ali Siddiqui et al (2005) ⁽¹⁹⁸⁾ também verificaram melhores resultados nos tratamento da colite por TNBS em ratos, com diminuição do escore macroscópicos e microscópicos das lesões da mucosa colônica e menor atividade da MPO, quando associava N-Acetilcisteína com mesalamine[®]. ⁽¹⁹⁸⁾

Estes resultados confirmam a capacidade antioxidante dos flavonóides e capacidade antiinflamatória e neutralizadora de radicais livres, através da diminuição de edemas e lesão tecidual das mucosas analisadas.

Posteriormente outros estudos devem complementar essas descobertas, através de análises moleculares da produção de algumas citocinas presentes no processo inflamatório e que podem indicar a direção do mecanismo de ação destas substâncias.

CONCLUSÃO

Com base na análise dos resultados obtidos e fundamentação teórica podemos concluir que:

- Dentre as plantas selecionadas a *Strychnos pseudoquina* apresentou melhor atividade antiinflamatória intestinal determinada após triagem utilizando o modelo de colite por ácido acético;
- Após análise da toxicidade aguda e subcrônica, a *Strychnos pseudoquina* (EMSp), não exibiu alterações nos parâmetros bioquímicos, histológicos e fisiológicos analisados;
- O EMSp apresentou atividade antiinflamatória intestinal nos diferentes modelos experimentais de inflamação intestinal;
- A fração acetato de etila deste extrato e a Quercetina 3-o-metil éter, no modelo de colite por TNBS apresentam maior potencial antiinflamatório que o EMSp;
- Tanto o EMSp, Fração acetato de etila quanto a Quercetina 3-o-metil éter aumentam grupos sulfidrílicos não protéicos (NP-SH), o MDA e diminuem a MPO da mucosa intestinal em graus variados, demonstrando possuir uma atividade antioxidante;
- EMSp, Fração acetato de etila quanto a Quercetina 3-o-metil éter são capazes de acelerar o processo de reparo da mucosa intestinal após injúria induzida por TNBS/etanol;
- Reduziu a ulceração da mucosa intestinal dos animais submetidos à colite por TNBS, sendo que os animais tratados com o EMSp, Fração acetato de etila e Quercetina com diminuição da ulceração e da infiltração de células da submucosa até a serosa que no

caso do grupo controle estava comprometida, confirmando seu potencial antiinflamatório intestinal;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bruce E. Sands. Inflammatory Bowel Disease: past, present, and future. *Rev Jour Gastroenterol* 2007; 42:16–25
2. Sartor RB. Current concepts of the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 1995; 24(3):475-507.
3. Scaldaferrri F, Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: Progress and current concepts of etiopathogenesis. *J Dig Dis.* 2007; 8: 171–178.
4. Kugathasan S, Fiocchi C. Progress in basic inflammatory bowel disease research. *Semin Pediatr Surg.* 2007; 16(3): 146-153.
5. Karlinger K, Györke T, Makö E, Mester A, Tarján Z. The epidemiology and the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Eur J Radiol.* 2000; 35(3):154-67.
6. Gismera CS, Aladrén BS. Inflammatory bowel diseases: a disease (s) of modern times? Is incidence still increasing? *World J Gastroenterol...* 2008; 14(36):5491-8.
7. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, van Blankenstein M. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut.* 1996; 39(5): 690-7
8. Brullet E, Bonfill X, Urrútia G, Ruiz Ochoa V, Cueto M, Clofent J, Martínez Salmerón JF, Riera J, Obrador A. [Epidemiological study on the incidence of inflammatory bowel disease in 4 Spanish areas. Spanish Group on the Epidemiological Study of Inflammatory Bowel Disease]. *Med Clin.* 1998; 110(17): 651-6.
9. Letamendia A A, Celaya F B, Paternain M J B, Martínez C P, A M, Apestegui I E, Izquierdo M L, Mendizábal El M, Moso P T, Valverde F S. Altas tasas de incidencia de enfermedad inflamatoria intestinal en Navarra. Resultados de un estudio prospectivo y poblacional. *Gastroenterol Hepatol* 2008; 31:111-6.
10. Shen B, Remzi FH, Hammel JP, Lashner BA, Bevins CL, Lavery IC, Wehkamp J, Fazio VW. Family history of Crohn's disease is associated with an increased risk for Crohn's disease of the pouch. *Inflamm Bowel Dis.* 2009; 15(2): 163-70.
11. Pavlick KP, Laroux FS, Fuseler J, Wolf RE, Gray L, Hoffman J, Grishan MB. Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in Inflamm Bowel Dis. *Free Radic Biol Med.* 1995; 33(3): 311-322.

12. Santos Jr JCM. Retocolite ulcerativa- aspectos clínicos, Diagnóstico e tratamento – parte III. Revista Brasileira de Coloproctologia, 1999; 19(2): 204-213.
13. Santos Jr JCM. Retocolite ulcerativa - aspectos clínicos, Diagnóstico e tratamento – parte III. Rev Bras Coloproctol, 1999; 19(2): 204-213.
14. Dubinsky MC, Ofman JJ, Urman M, Targan SR, Seidman EG. Clinical utility of serodiagnostic testing in suspected pediatric Inflammatory Bowel Disease, Am J Gastroenterol. 2004; 96 (3): 758 – 765.
15. Podolsky D K. Inflamm Bowel Dis. N Engl J Med. 2002; 6(347):417-429.
16. Crohn BB. Broadening concept of regional enteritis. Am J Dig Dis. 1934; 1:97-9.
17. Mayberry JF, Rhodes J, Newcombe RG. Familial prevalence of Inflammatory Bowel Disease in relatives of patients with Crohn’s disease. BMF, 1980; 280:84.
18. Orholm M, Munkhoholm P, Langholz E .Familial occurrence of Inflamm Bowel Dis. N Engl J Med. 1991; 324:84-8.
19. Ahmad T, Satsangi J, McGovern D. Review article: the genetics of Inflammatory Bowel Disease. Aliment Pharmacol Ther. 2001; 15:731-48.
20. Danze PM, Colombel JF, Jacquot S. Association of HLA class II genes with susceptibility to Crohn’s disease. Gut. 1996; 39:69-72.
21. Wills-Karp M, Santeliz J, Karp CL. The germless theory of allergic diseases: revisiting the hygiene hypothesis. Nat Rev Immunol. 2001; 1:69–75.
22. Knigge KL, Inflammatory Bowel Disease. Review Article. Clin Cornestone. 2002; 4(4): 49- 60.
23. Danese s, Sans M, Fiocchi C. Inflamm Bowel Dis: the role of environmental factors. Autoimmune Rev.2004; 3(5):394-400.

24. Thomas GA, Swift GL, Green JT, Newcombe RG, Braniff- Mathews C, Rhodes J, Wilkinson S, Strohmeyer G, Kreuzpainter G. Controlled trial of antituberculous chemotherapy in Crohn's disease: a five year follow up study. *Gut*, 1998; 42(4): 497-500.
25. Rubin DT, Hanauer SB. Smoking and Inflamm Bowel Dis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2000; 12(8): 855-862.
26. Bridger S, Lee JC, Bjarnason I, Jones JE, MacPherson AJ. In siblings with similar genetic susceptibility for Inflamm Bowel Dis, smokers tend to develop Crohn's disease and non-smokers develop ulcerative colitis. *Gut*, 2002; 5(1): 21-25.
27. Sopori M. Effects of cigarette smoke on the immune system. *Nat. Rev. Immunol*, 2002; 2(5):372-377.
28. Pullan RD, Rhodes J, Ganesh S, Mani V, Morris JS, Williams GT, Newcombe RG, Russel MA, Feyerabend C, Thomas GA, Sawe U. Transdermal nicotine for active ulcerative colitis. *N Engl J Med*. 1994; 330(12): 811-815.
29. Guslandi M, Tittobello A. Pilot trial of nicotine patches as an alternative to corticosteroids in ulcerative colitis. *Am. J. Gastroenterol*. 1996; 31(40): 627-629.
30. Agrawal A, Rhodes JM. Smoking and IBD. *IBD Monitor*. 2003; 4:114-119.
31. Danese S, Sans M, Fiocchi C. Inflammatory Bowel Disease: the role of environmental factors. *Autoimmun Rev*. 2004; 3(5): 394-400.
32. Barbosa DS, Cecchini R, El Kadri MZ, Rodriguez MAM, Burini RC, Dichi I. Decreased colitis supplemented with fish oil w-3 fatty acids. *Nutrition*, 2003; 19: 837-842.
33. Reif S, Klein I, Lubin F, Farbstein M, Hallak A, Gilat T. Pre-illness dietary factors in Inflammatory Bowel Disease. *Gut*, 1997; 40 (6): 754-760.
34. Alstead EM. The pill: safe sex and Crohn's disease? *Gut*, 1999; 45(2): 165-166.

35. Evans JM, McMahon AD, Murray FE, McDevitt DG, MacDonald TM. Non-steroidal anti-inflammatory drugs are associated with emergency admission to hospital for colitis due to Inflammatory Bowel Disease. *Gut*, 1997; 40(5): 619-622.
36. Hanauer SB, Sadborn W. Management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol*, 2001; 96(3): 635-643.
37. Godet PG, May GR, Sutherland LR. Meta-analysis of the role of oral contraceptive agents in Inflammatory Bowel Disease. *Gut*, 1995; 37(5): 668-673.
38. Theis MK, Boyko EJ. Patient perceptions of causes of Inflamm Bowel Dis. *Am J Gastroenterol*, 1994; 89(10):1920.
39. Collins SM. Stress and the gastrointestinal tract IV. Modulation of intestinal inflammation by stress: basic mechanisms and clinical relevance. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2001; 280(3): G315-G318.
40. Levenstein S, Prantera C, Varvo V, Scribano ML, Andreoli A, Luzi C, Arca M, Berto E, Milite G, Marcheggiano A. Stress and exacerbation in ulcerative colitis: a prospective study of patients enrolled in remission. *Am J Gastroenterol*, 2000; 95(5): 1213-1220.
41. Hart A, Kamm MA. Review article: mechanisms of initiation and perpetuation of gut inflammation by stress. *Aliment Pharmacol Ther*, 2002; 16(12): 2017-2028.
42. Knösel T, Schewe C, Petersen N, Dietel M, Petersen I. Prevalence of infectious pathogens in Crohn's disease. *Pathol Res Pract*. 2009; 205(4):223-30.
43. Schreiber S, Raedler A, Stenson WF, MacDermott RP. The role of the mucosal immune system in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 1992; 21(2):451-502.

44. MacDermott RP. Alterations of the mucosal immune system in Inflammatory Bowel Disease. *J Gastroenterol*. 1996; 31(6):907-16.
45. Orchard T R, Wordsworth B P, Jewell D P. Peripheral arthropathies in Inflamm Bowel Dis: their articular distribution and natural history. *GUT*. 1998; 42:387-391.
46. Veloso FT, Carvalho J, Magro F. Immune-Related Systemic Manifestations of Inflamm Bowel Dis: A Prospective Study of 792 Patients [Clinical Studies]. *J Clin Gastroenterol*. 1996; 23(1): 29-34.
47. Fiocchi C. Inflammatory Bowel Disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology*. 1998; 115(1): 182-205.
48. Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of Inflammatory Bowel Disease. *Nat Rev Immunol*. 2003; 3(7):521-33.
49. Powrie F, Leach MW, Mauze S, Menon S, Caddle LB, Coffman RL. Inhibition of Th1 responses prevents Inflammatory Bowel Disease in scid mice reconstituted with CD45RBhi CD4+ T cells. *Immunity*. 1994; 1(7):553-62.
50. Powrie FT. Cells in Inflamm Bowel Dis: protective and pathogenic roles. *Immunity*, 1995; 3: 171-174.
51. Pavlick KP, Laroux FS, Fuseler J, Wolf RE, Gray L, Hoffman J, Grishan MB, Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in Inflamm Bowel Dis. *Free Radic Biol Med*. 2002; 33(3): 311-322.
52. Elia CCS, Souza HSP. *Imunologia da mucosa intestinal: da bancada ao leito*. São Paulo: Atheneu, 2001; 18.
53. MacDermott RP, Nahm MH. Expression of human immunoglobulin G sub classed in Inflamm Bowel Dis. *Gastroenterology*. 1987; 93:1127-1129.

54. Wu KC, Mahida YR, Priddle JD, Jewell DP. Effect of human intestinal macrophages on immunoglobulin production by human intestinal mononuclear cells isolated from patients with Inflammatory Bowel Disease. *Clin Exp Immunol.*1990; 79: 35-40.
55. Panés J, Ranger DN. Leukocyte-endothelial cell interactions: Molecular mechanisms and implications in gastrointestinal disease. *Gastroenterology.* 1998; 114:1066-1090.
56. Nielsen OH, Rask-Madsen J. Mediators of inflammation in chronic Inflammatory Bowel Disease. *Scand. J Gastroenterol.* 1996; 31- suppl.216:149-159.
57. Rogler G, Brand K, Vogl D, Page S, Hofmeisterr R, Andus T, Knuechel R, Baeuerle PA, Schölmerich J, Gross V. Nuclear factor kappa β is activated in macrophages and epithelial cells of inflamed intestinal mucosa. *Gastroenterology.* 1998; 115(2): 357-369.
58. Morson BC. Histopathology of Crohn's Disease. *Section of Medicine.*1968; 61: 79.
59. Frequently Asked Questions of Inflamm Bowel Dis. Disponível em: <http://www.womenshealth.gov/faq/inflammatory-bowel-disease.cfm#f>. Acessado em 02/02/2009.
60. Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH. Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Clin Microbiol Rev,* 2002; 15(1): 79-94.
61. Nostrant TT, Kumar NB, Appelman HD. Histopathology differentiates acute self-limited colitis from ulcerative colitis. *Gastroenterology.*1987; 92(2):318-28.
62. Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH. Clinical aspects and pathophysiology of inflammatpry bowel disease. *Clin Microbiol Rev.* 2002; 15(1): 79-94.
63. Knigge KL. Inflammatory Bowel Disease. [Review]. *Clinical Cornestone.* 2002; 4(4): 49-60.

64. Inflammatory Bowel Disease. In: 1995-2009 The Nemours Foundation. Disponível em: <http://kidshealth.org/parent/medical/digestive/ibd.html>. acessado em 02/02/2009.
65. Inflamm Bowel Dis. Em The Nemours Foundation. Disponível http://kidshealth.org/teen/diseases_conditions/digestive/ibd.html KidsHealth > Teens > Diseases & Conditions > Digestive System >.acessado em 02/02/2009.
66. Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory Bowel Disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet*. 2007; 369(9573):1641-57.
67. Wallace JL. Eicosanoids. In: Targan SR, Shanahan F. (Eds.). *Inflammatory Bowel Disease: from bench to bedside*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994: 123- 132.
68. Nielsen OH, Ahnfelt-Rønne I, Elmgreen J. Abnormal metabolism of arachidonic acid in chronic Inflammatory Bowel Disease: enhanced release of leucotriene B4 from activated neutrophils. *Gut*, 1987; 28(2):181–185.
69. Middleton SJ, Shorthouse M, Hunter JD. Increased nitric oxide synthesis in ulcerative colitis. *Lancet*. 1993; 341: 465-466.
70. Grisham MB. Oxidants and free radicals in Inflammatory Bowel Disease. *Lancet*. 1994; 344(8926):859-861.
71. Babbs CF. Oxygen radicals in ulcerative colitis. *Free Radic Biol Med*, 1992; 13:169-181.
72. Simmonds NJ, Allen RE, Stevens TRJ, Van Someren RNM, Blake DR, Rampton DS. Chemiluminescence assay of mucosal reactive metabolites in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 1992; 103: 186-196.
73. Repine JE, Eaton JW, Anders MW, Hoidal JR, Fox RB. Generation of hydroxyl radical by enzymes, chemicals and human phagocytes in vitro. Detection with the anti-inflammatory agent dimethyl sulfoxide. *J Clin Invest*. 1979; 64(6): 1642-1661.

74. Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metals ions in human disease: an overview *Methods Enzymol.* 1990; 186:1-85.
75. Rover Junior L, Höehr NF, Vellasco AP. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova.* 2001; 24(1): 112-119.
76. Obrador A, Riera J. Definitions. In: Gassull MA, Obrador A, Chantar C. (Eds.). *Management of Inflammatory Bowel Disease.* Barcelona: Prous Science. 1994; 1-6.
77. Gitnick G. Inflammatory Bowel Disease: a new assessment. *Scand. J Gastroenterol.* 1996; Suppl. 220: 83-86.
78. Miller MJS, Grisham B. Nitric oxide as a mediator of inflammation? You had better believe it. *Mediators Inflamm* 1995; 4: 387-396.
79. Kubes P, Wallace JL. Nitric oxide as a mediator of gastrointestinal mucosal injury? Say it ain't so. *Mediators Inflamm.* 1995; 4(6): 397-405.
80. Rachmilewitz D, Karmeli F, Okon E, Bursztyn M. Experimental colitis is ameliorated by inhibition of nitric oxide synthase activity. *Gut.* 1995; 37: 247-255.
81. Shanahan F, Targan SR. Mechanisms of tissue injury in Inflammatory Bowel Disease. In: Targan SR, Shanahan F. (Eds.). *Inflammatory Bowel Disease: from bench to bedside.* Baltimore: Williams & Wilkins, 1994: 78-88.
82. Loguercio C, D'Argenio G, Delle Cave M, Cosenza V, Della Valle N, Mazzacca G, Del Vecchio Blanco C. Direct evidence of oxidative damage in acute and chronic phases of experimental colitis in rats. *Dig Dis Sci.* 1996; 41(6): 1204-1211.
83. Lih-Brody L, Powell SR, Collier KP, Reddy GM, Cerchia R, Kahn E, Weissman G, Katz S, Floyd RA, McKinley MJ, Fisher SE, Mullin GE. Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of Inflammatory Bowel Disease. *Dig Dis Sci.* 1996; 41(10):2078-2086.

84. Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 2002; 18(10): 872-879.
85. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 1995; 41:1819-1828.
86. Kayatekin BM, Gönenç S, Açıkgöz O, Uysal N, Dayi A. Effect of sprint exercise on oxidative stress in skeletal muscle and liver. *European Journal of Applied Physiology*. 2002; 87: 141-144.
87. Hebbel RP. Erythrocyte antioxidants and membrane vulnerability. *J Lab Clin Med*. 1986; 107: 401-404.
88. Ransford RA, Langman MJS. Sulfasalazine and mesalazine: serious adverse reactions re-evaluated on the basis of suspected adverse reaction reports to the Committee on Safety of Medicines. *Gut*. 2002; 51: 536-539.
89. Steinhart AH. Conventional therapy. In: Bernstein C, editor. *The Inflammatory Bowel Disease*, Yearbook 2003. Winnipeg: Canada; 2003. p. 1-24.
90. Kaiser GC, Yan F, Polk DB. Mesalamine blocks tumor necrosis factor growth inhibition and nuclear factor kappa beta activation in mouse colonocytes. *Gastroenterology* 1999; 116: 602-609.
91. Bantel H, Berg C, Vieth M, Stolte M, Kruis W, Schulze-Osthoff K. Mesalazine inhibits activation of transcription factor NF-kappa beta in inflamed mucosa of patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3452-3457.
92. Damião AOMC, Sipahi AM. Derivados salicílicos no tratamento da doença inflamatória intestinal: novas perspectivas. *Rev Hosp Clín Fac Méd de São Paulo* 1989; 44: 271-278.
93. Jani N, Rugeiro MD. Medical therapy for ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2002; 31: 147-166.

94. Greenberg GR, Feagan BG, Martin F, Sutherland LR, Thomson AB, Williams CN, Nilsson LG, Persson T. Oral budesonide for active Crohn's disease. *The N Engl J Med.* 1994; 331(13):836-41.
95. Reichheld JH, Peppercorn MA. "Agents commonly used in the treatment of Inflamm Bowel Dis". In: Friedman G, Jacobson ED, McCallum RW (ed.). *Gastrointestinal pharmacology and therapeutics.* Filadélfia: Lippincott-Raven, 1997; pp. 327-347.
96. Sandsa BE. Therapy of Inflamm Bowel Dis. *Gastroenterology.* 2000; 118(2): S68-S82.
97. Pearson DC, May GR, Fick GH, Sutherland LR. REVIEW Azathioprine and 6-Mercaptopurine in Crohn Disease A Meta-Analysis. *Annals of internal Medicine.* 1995; 123(2): 132-142
98. Achkar JP, Hanauer SB. Medical therapy to reduce postoperative Crohn's disease recurrence. *Am J Gastroenterol* 2004; 95(5): 1139 – 1146.
99. Cuillerier E, Lémann M, Bouhnik Y, Allez M, Rambaud JC, Modigliani R. Azathioprine for prevention of postoperative recurrence in Crohn's disease: a retrospective study [Original Articles: Inflammatory bowel disease] *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13(11): 1291-1296.
100. Colonna T, Korelitz BI. The role of leukopenia in the 6-mercaptopurine-induced remission of refractory Crohn's disease. *The Am J Gastroenterol.* 1994; 89(3):362-6.
101. Hanauer SB, Stathopoulos G. Risk-benefit assessment of drugs used in the treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Drug Safety.* 1991; 6(3):192-219.
102. Korelitz BI, Mirsky FJ, Fleisher MR, Warman JI, Wisch N, Gleim GW. Malignant neoplasms subsequent to treatment of Inflammatory Bowel Disease with 6-mercaptopurine. *Am J Gastroenterol.* 2004; 94(11): 3248-3253.

103. Feagan BG, Rochon J, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, Greenberg GR, Gillies R, Hopkins M, et al. Methotrexate for the treatment of Crohn's disease. *The N Engl J Med.* 1995; 332(5):292-7.
104. Alfadhli AA, McDonald JW, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005; (1):CD003459.
105. Feagan BG, Fedorak RN, Irvine EJ, Wild G, Sutherland L, Steinhart AH, Greenberg GR, Koval J, Wong CJ, Hopkins M, Hanauer SB, McDonald JW. A comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn's disease. North American Crohn's Study Group Investigators. *The N Engl J Med.* 2000; 342(22):1627-32.
106. Ruddock B. Tacrolimus for Crohn's disease. *Issues Emerg Health Technol.* 2006; (88):1-4.
107. Cominelli F. Cytokine-Based Therapies for Crohn's Disease — New Paradigms. *N Engl J Med.* 2004; 351: 2045-2048.
108. Sandborn WJ. What's new: innovative concepts in Inflammatory Bowel Disease. *Colorectal Dis.* 2006;8 (Suppl 1): 3-9.
109. D'Haens G, Daperno M. Advances in biologic therapy for ulcerative colitis and Crohn's disease. *Gastroenterol Report.* 2006; 8(6):506-12.
110. Ghosh S, Heel D van, Playford R J. Probiotics in Inflamm Bowel Dis: is it all gut flora modulation? *Gut.* 2004; 53(5): 620–622.
111. Sheil B, Shanahan F, O'Mahony L. Probiotic Effects on Inflamm Bowel Dis. Supplement: Effects of Probiotics and Prebiotics. *J Nutr.* 2007; 137:819S-824S.
112. Barclay L. Immune-Enhancer GM-CSF Helpful in Crohn's Disease. *Lancet* 2002; 360:1478-1479

113. Sands BE, Anderson FH, Bernstein CN, Chey WY, Feagan BG, Fedorak RN, Kamm MA, Korzenik JR, Lashner BA, Onken JE, Rachmilewitz D, Rutgeerts P, Wild G, Wolf DC, Marsters PA, Travers SB, Blank MA, Deventer SJ. Infliximab Maintenance Therapy for Fistulizing Crohn's Disease. *N Engl J Med.* 2004; 350(9): 876-885
114. Hommes DW, Oldenburg B, van Bodegraven AA, van Hogezaand RA, de Jong DJ, Romberg-Camps MJ, van der Woude J, Dijkstra G; Dutch Initiative on Crohn and Colitis (ICC). Guidelines for treatment with infliximab for Crohn's disease. *Neth J Med.* 2006; 64(7): 219-29.
115. Rutgeerts P, Van Assche G, Vermeire S. Review article: Infliximab therapy for Inflammatory Bowel Disease-seven years on. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 23(4):451-63
116. Peyrin-Biroulet L, Laclotte C, Roblin X, Bigard MA. Adalimumab induction therapy for ulcerative colitis with intolerance or lost response to infliximab: An open-label study. *World J Gastroenterol...* 2007; 13(16): 2328-2332.
117. Niero R, Malheiros A, Bittencourt CMS, Biavatti MW, Leite SN, Cechinel Filho V. Aspectos químicos e biológicos de plantas medicinais e considerações sobre fitoterápicos. In: Bresolin TMB, Cechinel Filho V. *Ciências farmacêuticas: Contribuição ao Desenvolvimento de novos fármacos e Medicamentos.* Univali. Itajaí: Santa Catarina; 2003; 9-56.
118. Carvalho JCT. Constituintes de plantas com atividade antiinflamatória. In: Carvalho JCT. *Fitoterápicos antiinflamatórios, Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas.* Ribeirão Preto, SP: Tecmed, 2004; 69-78.
119. Paiva LAF, Gurgel LA, Campos AR, Silveira ER, Rao VSN. Attenuation of ischemia/reperfusion-induced intestinal injury by oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. *Life Sci.* 2004; 75(16):1979-1987.
120. Paiva LAF, Gurgel LA, De Sousa ET, Silveira ER, Silva RM, Santos FA, Rao VSN. Protective effect of *Copaifera langsdorffii* oleo-resin against acetic acid-induced colitis in rats. *J Ethnopharmacol.* 2004; 93(1):51-6.

121. Triantafillidis JK. The use of natural products in the treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Annals of Gastroenterology*. 2008; 21(1):14-16.
122. El-Abhar HS, Hammad LN, Gawad HS. Modulating effect of ginger extract on rats with ulcerative colitis. *J Ethnopharmacol*. 2008; 118(3):367-72.
123. Kanashiro A, Polizello ACM,; Lopes JLC,; Valim YML. Produção de radicais de oxigênio por neutrófilos ativados por diferentes estímulos: função de flavonóides, Departamento de Física e Química: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto–Universidade de São Paulo <http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/1150-1/index.html>, acessado em 10/04/2009.
124. Flavonóides Descrição geral: t-BOC-L Laboratório de química bio-orgânica teórica: núcleo de pesquisas de produtos naturais UFRJ <http://acd.ufrj.br/~tbocl/tbocl-flavonoides.php>, em 10/04/2009
125. Luchini AC, Rodrigues-Orsi P, Cestari SH, Seito LN, Witaicenis A, Pellizzon CH, Di Stasi LC. Intestinal anti-inflammatory activity of coumarin and 4-hydroxycoumarin in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Biol Pharm Bull*. 2008; 31(7):1343-50.
126. Nurit k, Agra MF, Basílio IJLD, Baracho GS. Flora da Paraíba, Brasil: Loganiaceae. *Acta bot bras*. 2005; 19(2): 407-16.
127. Joly AB. Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal. 12 ed. São Paulo: Nacional, 1998.
128. Phillippe G, Angenot L, Monique T, Michel F. About the toxicity of some *Strychnos* species and their alkaloids. *Toxicon*. 2004; 44: 405-16.
129. Thongphasuk P, Suttisri R, Bavovada R, Verpoort R. Alkaloids and a pimarane diterpenoid from *Strychnos vanprukii*. *Phytochemistry*, 2003; 64: 897–901.

130. Lorenzi H. *Árvores brasileiras: Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil*. 2 ed., Nova Odessa, SP: Plantarum, 1998.
131. Aimi N, Sakai SI, Ban Y. Alkaloids of *Strychnos* and *Gardneria* species. In: *The Alkaloids*. California: Academic Press, INC, 1989; 1-69.
132. Frederich M, Hayette MP, Titis M, de Mol P, Angenot L. In vitro activities of *Strychnos* alkaloids and extracts against *Plasmodium falciparum*. *Antimicrob Agents Chemotherapy*. 1999; 43: 2328–31.
133. Frederich M, Jacquier MJ, Thepenier P de Mol P, Tits M. Philippe G Delaude C, Angenot L, Zaches-hanrot M. Antiplasmodial activity of alkaloids from various *Strychnos* species. *J. Nat. Prod.* 2002; 65: 1381–86.
134. Rasoanaivo P, Ratsimamanga-Urverg S, Milijaona R, Rafatro H., Rakoto-Ratsimamanga A, Galeffi C, Nicoletti M. In vitro and in vivo chloroquine-potentiating action of *Strychnos myrtoides* alkaloids against chloroquine-resistant strains of *Plasmodium malaria*. *Planta Med.* 1994; 60:13–16.
135. Frederich M, Bentires-ALJ M, Tits M, Angenot L, Greimers R, Gielen J, Bours V, Merville MP. Isostrychnopentamine, an indolomonoterpenic alkaloid from *Strychnos usambarensis*, induces cell cycle arrest and apoptosis in human colon cancer cells. *J Pharmacol ExpTherap.* 2003; 304:1103–10.
136. Bassleer R., Depauw-Gillet MC, Massart B, Marnette JM, Wiliquet P, Caprasse M., Angenot L. Effets de trois alcaloïdes extraits du *Strychnos usambarensis* sur des cellules cancéreuses en culture. *Planta Med.* 1982; 45:123–6.
137. Caron C, Hoizey MJ, Men-Olivier L, Massiot, G, Zeches M, Choisy C, Le Magrex E, Verpoorte R. Antimicrobial and antifungal activities of quasi-dimeric and related alkaloids. *Planta Med.* 1988; 54: 409–12.
138. Quetin-Leclercq J, Favel A, Balansard G, Regli P, Angenot L. Screening for in vitro antifungal activities of some indole alkaloids. *Planta Med.* 1995; 61: 475–77.

139. Thomas G, Diniz MDFM, Mukherjee R. Further-studies on the antidiarrheal activity of bisnordihydrotoxiferine, a tertiary indole alkaloid in rodents. *Phytotherapy Research*. 1992; 6: 84–88.
140. Biswas S, Murugesan T, Maiti K, Ghosh L, Pal M, Saha BP. Study on the diuretic activity of *Strychnos potatorum* Linn. seed extract in albino rats. *Phytomedicine* 2001; 8: 469–71.
141. De Medeiros CLC, Thomas G, Mukherjee R. The source of Ca²⁺ for the spasmolytic actions of longicaudatine. A bisindole alkaloid isolated from *Strychnos trinervis* (Vell) Mart (Loganiaceae). *Phytother. Res*1991; 5: 24–28.
142. Kapoor VK, Sharma SK, Chagti KK, Singh M. Synthesis and hypotensive activity of diaboline. *Ind J Chem Org Med Chem*. 1988; 27: 641–44.
143. Oliveira EJ, Medeiros IA, Mukherjee R. Hypotensive and spasmolytic effects of normacusine B from *Strychnos atlantica* root. *Phytomedicine*. 1996; 3: 45–9.
144. Bruneton J. Monoterpenoid indole alkaloids. In: *Pharmacognosy, phytochemistry and medical plant*. 2 ed. France: Lavoisier Publishing. 1999; 1000-43.
145. Biocaa E. Pesquisa sobre o método de preparação do curare pelos índios. *Revista do Museu Paulista N.S.* 1954; 8: 164-26.
146. Angenot L, Querti-Leclercq J, Bisset NG. South american *Strychnos* species. Ethnobotany (except curare) and alkaloid screening. *J Ethnopharmacol*1990; 28: 1-52.
147. Frederich M, De Pauw MC, Llabres G, Tits M, Hayette MP, Randt V, Penelle J, Demol P, Angenot L. New antimalarial and cytotoxic sungenine derivatives from *Strychnos icaja* roots. *Planta Med*. 2000; 66: 262-9.
148. Corrêa MP. *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Ministério da Agricultura – IBDF, Imprensa Nacional: Rio de Janeiro, 1984: 1: 224.

149. Delle Monache F, Aldo PT, Bettolo GBM. Occurrence of nordihydrotoxiferine in *Strychnos pseudoquina* St. Hil. *Tetrahedron Lett*, 1969; 25: 2009-12.
150. Nicoleti M, Goulart MOF, Delima RA, Goulart AE, Delle Monache F, Bettolo GBM. Flavonoids and alkaloids from *Strychnos pseudoquina*. *J Nat Prod*. 1984; 47: 953-7.
151. Silva MA, Rafacho BP, Hiruma-Lima CA, Rocha LRM, Brito ARMS, Vilegas W. Evaluation for *Strychnos pseudoquina* St. Hil. leaves extract on gastrointestinal activity in mice. *Chem Pharm Bull* . 2005; 53(8): 881–5.
152. Santos FB, Colus IMS, Silva MA, Vilegas W, Varanda EA. Assesment of DNA damage by extracts of *Strychnos pseudoquina*, a Brazilian medicinal plant with antiulcerogenic activity. *Food Chem Toxicol*. 2006; 44: 1585-89.
153. Rodrigues JL, Silva VC. Estudo Químico das Cascas do Caule de *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (LOGANIACEAE). Trabalho de Conclusão de Curso. Cuiabá, Universidade Federal de Mato Grosso. Instituto de Ciências Exatas e da Terra. 2008.
154. Jesus NZT, Lima JCS, Martins DTO. Levantamento etnobotânico e triagem antiúlcera e antiinflamatória de plantas medicinais do distrito de pirizal-mt: avaliação da atividade antiúlcera do extrato metanólico de *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke [Dissertação de Mestrado]. Cuiabá: Universidade Federal de Mato grosso, Curso de Medicina. Departamento de Pós-graduação, 2007.
155. Sartori NT, Martins DTO. Triagem de plantas medicinais popularmente utilizadas como anti-úlcera em mato grosso e avaliação do efeito anti-úlcera da fração diclorometânica (dcm2) de *Calophyllum brasiliense* Camb. (guanandi). Dissertação de mestrado. Cuiabá. Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Saúde Coletiva. 1997.
156. Mattos PEO, Martins DTO. Validação pré-clínica das atividades antinociceptiva, antiinflamatória, cicatrizante e avaliação da toxicidade do látex de *Croton Urucurana*

Baillon (Sangra D'água). Dissertação de mestrado. Cuiabá, Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Saúde Coletiva. 2001.

157. Tamashiro Filho P, Martins DTO. Validação pré-clínica da atividade antiúlcera do extrato bruto metanólico de *lafoensia pacari* st. Hil. (mangava-brava). Dissertação de mestrado. Cuiabá. Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Saúde Coletiva. 1999
158. Marcello CM, Martins DTO. Triagem antiúlcera de plantas medicinais usadas popularmente em Mato Grosso para afecções gastrintestinais e validação pré-clínica de *Simaba ferruginea* St. Hil (calunga), como antiúlcera. Dissertação de mestrado. Cuiabá, Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Saúde Coletiva. 2001.
159. Malone MH. Pharmacologica approaches to natural product and evaluating. In: Wasner H, & Walff LP. Natural products and plant drugs with pharmacological, biological or terapeutical activity. Sring Verlag, Berling; 1983. p.23 – 56.
160. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam LB, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *J Med Plant Res* 1982; 45:31-4.
161. Miller LCL & Tainter ML. Estimation of the ED₅₀ and it's error by means of logarithimic probit graph paper. *Proc. Soc. Exp. Med.* 1944; 57: 261-264.
162. Chan PK, Ohara GP, Hayes AW. Principles and methods for acute and subchronic toxicity. In: Hayes, A.W. Principles and methods of toxicology. Ed. New York, Raven Press, 1982. p. 1-51.
163. Matos FJA. Introdução à Fitoquímica Experimental. Fortaleza: CE. UFC. 1988.
164. McPherson BR, Pfeiffer CJ Experimental production of diffuse colitis in rats. *Digestion* 1978; 17: 135-50.
165. Kimura Y, Okuda H. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 105, 1090 (1985).

166. Morris GP, Beck PL, Herridge W, Depew W, Szewczuk M, Wallace JL. Hapten induced mode of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 1989; 96: 795-803.
167. Bell CJ, Gall DG, Wallace JL. Disruption of colonic electrolyte transport in experimental colitis. *Am J Physiol* 1995; 268: G622-G630.
168. Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol* 1985; 113: 548-555.
169. Zingarelli B, Szabo B, Salzman AL. Blockade of Poly (AND-ribose) synthetase inhibits neutrophil recruitment, oxidant generation, and mucosal injury in murine colitis. *Gastroenterology* 1999; 116: 335-45.
170. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in the rat and hamster model. *Gastroenterology*, 1984; 87:1344-1350.
171. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*. 1968; 25(1):192-205.
172. Millar AD, Rampton Ds, Chander CL, Claxson AWD, Blades A, Coumbe A, et al. Evaluating the antioxidant potential of new treatments for inflammatory bowel disease using a rat model of colitis. *Gut* 1996; 39: 407-15.
173. Brant SR & Okazaki T. The genetics of IBD. In: Bernstein C, editor *The Inflamm Bowel Dis yearbook 2003*. Remedica, Winnipeg, Canada. 2003; p79-128.
174. Jackson LN, Zhou Y, Qiu S, Wang Q, Evers BM. Alternative medicine products as a novel treatment strategy for Inflamm Bowel Dis. *Am J Chin Med*. 2008; 36(5): 953–965.
175. Marachin M, Verpoote R. In: *Plantas medicinais sob a ótica da química moderna* (Eds. Calixto Jb, Yunes RA). 2001. Chapecó: Editora Argos. P. 147.

176. Clarke JO, Mullin GE. A review of complementary and alternative approaches to immunomodulation. *Nutr Clin Pract.* 2008; 23:49-62.
177. Langmead L, Rampton DS. review article: Complementary and alternative therapies for Inflamm Bowel Dis. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23:341-9.
178. Aldin MN, Barros HH, Mattos RC, Nunes MS, Oliveira PGR, Fernanda P, Savoy PM, Jaime PC. Eficácia dos flavonóides na dislipidemia / Efficacy of Flavonoids in Dyslipidemias. *Mundo saúde.* 2001;25(2): 149-52.
179. Ribeiro ME, Yoshida WB. Artigo de revisão: Lesões intestinais decorrentes de isquemia e reperfusão: fisiopatologia e modelos experimentais. Reperfusion injury after intestinal ischemia: pathophysiology and experimental models. *J Vasc Br* 2005; 4(2):183-94.
180. Yoshida WB. Fisiopatologia da isquemia e reperfusão. In: Maffei FHA. Doenças vasculares periféricas. Rio de Janeiro: MEDSI; 2002. 253-8.
181. Grace PA. Ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg.* 1994; 81: 637-47.
182. Schoenberg MH, Berger HG. Reperfusion injury after intestinal ischemia. *Crit Care Med* 1993; 21:1376-86.
183. Welborn CR, Goldman G, Peterson JS, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Pathophysiology of ischemia-reperfusion on injury: central role of the neutrophil. *Br J Surg* 1991; 78:651-5.
184. Crespo ME, Gálvez J Cruz T, Ocete MA, Zarzuelo A. Antiinflammatory activity of diosmin and hesperidin in rats colitis induced by TNBS. *Planta Med.* 1999; 65 (7): 651-653.
185. Sánchez de Medina F, Martínez-Augustín O, González R, Ballester I, Nieto A, Gálvez J, Zarzuelo A. Induction of alkaline phosphatase in inflamed intestine: a novel

pharmacological target for Inflamm Bowel Dis. *Biochem Pharmacol.* , 2004; 6(12): 2317- 2326.

186. Cruz T, Gálvez J, Crespo E, Ocete MA, Zarzuelo A. Effects of silymarin on the acute stage of the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Planta Med.* 2001; 67(1): 94-96.
187. Di Stasi LC, Camuesco D, Nieto A, Vilegas W, Zarzuelo A, Gálvez J. Intestinal anti-inflammatory activity of Paepalantine, an isocoumarin isolated from the capitula of *Paepalanthus bromelioides*, in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Planta Med.* 2004; 70(4): 315-320.
188. El-Abhar HS, Hammad LNA, Gawad HAS. Modulating effect of ginger extract on rats with ulcerative colitis. *J Ethnopharmacol.* 2008; 118:367-372.
189. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. *Farmacologia*, Tradução 6ª ed Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.p. 432.
190. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. *Farmacologia*, Tradução 6ª ed Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.p. 239.
191. Slinker BK. The Statistics of Synergism. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1998; 30: 723–31.
192. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. *Farmacologia*, Tradução 6ª ed Rio de Janeiro: Elsevier, 2007.p. 240.
193. Baldaia C, Portela F, Andrade P, Leitão M. C, Freitas D. Artigo de Revisão: Doença de Crohn: tnf- α e outras citocinas. Serviço de Gastrenterologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra, Coimbra. 2002; 187-195.
194. Leon AJ, Garrote JA, Arranz E. Citocinas en la patogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal= Cytokines in the pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Med Clin.* 2006; 127 (4): 145-152.

195. DeWys WD. Anorexia as a general effect of cancer. *Câncer*. 1972; 45: 2013-19.
196. Moley JF, Aamodt R, Rumble W, Kaye W, Norton JA. Body cell mass in cancer bearing and anorexia patients. *J Parenter Enteral Nutr* 1987; 11:219-22.
197. Reifen R, Nur T, Matas Z, Halpern Z. Lycopene supplementation attenuates the inflammatory status of colitis in a rat model. *Int J Vitam Nutr Res*. 2001; 71(6): 347-51.
198. Siddiqui A, Ancha H, Tedesco D, Lightfoot S, Stewart CA., Harty RF. Antioxidant therapy with n-acetylcysteine plus mesalamine accelerates mucosal healing in a rodent model of colitis. *Dig Dis Sci*. 2006; 51(4): 698–705.

ANEXO

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)