

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

Cristiane Mori

**Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal do extrato hidroalcoólico
de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)**

Botucatu

2016

Cristiane Mori

**Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal do extrato hidroalcoólico
de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – UNESP, como requisito
parcial para obtenção do título de bacharela em
Ciências Biológicas**

Orientador: Prof. Titular Luiz Claudio Di Stasi

Botucatu

2016

Cristiane Mori

**Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal do extrato hidroalcoólico
de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae)**

**Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” – UNESP como requisito
parcial para obtenção do título de bacharela em
Ciências Biológicas**

Aprovado em __/__/__

Banca Examinadora

Prof. Titular Luiz Claudio Di Stasi

Dr^a. Ana Elisa Valencise Quaglio

Botucatu

2016

Dedicatória

Aos meus pais, Roberto e Célia, pelo amor, direção e apoio incondicionais.

Aos meus irmãos, Robertinho e Luciane.

Agradecimentos

À minha amiga de longa data, Rebecca, por manter-se tão presente apesar da distância

Aos amigos de graduação, pelas alegrias, pelo crescimento e caminho compartilhados: Júlia (A-ju-dá), Dianne (Fexaxota), Maysa (Interrada), Renan (Miudo), Vitor (Kangu) e Isabela (Lontra)

Aos colegas do FitoFarmaTec pelos cafés e risadas

Aos Lafits pelos ensinamentos, amizade, paciência e apoio no desenvolvimento deste projeto: Ana Elisa, Tainan, Luiz, Celso, Aline, Alexandre (Kita), Alexandre, Ellen, Vinícius e Lesvi

Ao orientador Luiz Claudio Di Stasi pela oportunidade, por compartilhar seus conhecimentos e pela confiança no meu trabalho

Resumo

Mori, C. **Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal do extrato hidroalcoólico de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae).** 2016. 25 f. Monografia – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2016.

Sob o termo doença inflamatória intestinal encontram-se duas doenças distintas, a Retocolite Ulcerativa (RCU) e a Doença de Crohn (DC), caracterizadas por inflamação crônica que compromete estrutural e funcionalmente o trato gastrointestinal. A etiologia permanece desconhecida e a terapêutica atual não proporciona cura permanente, além de trazer inúmeros efeitos colaterais, o que demonstra a necessidade de novas estratégias terapêuticas, sendo o uso de produtos naturais uma das mais promissoras. *Solanum paniculatum* L., família Solanaceae, popularmente conhecida como jurubeba, é uma planta com diferentes usos medicinais e ampla distribuição no Brasil, sendo popularmente usada no controle da artrite (processo inflamatório crônico) e de doenças hepáticas e digestivas. Extratos hidroalcoólicos de folhas da *S. paniculatum* foram administrados via oral em quatro doses: 62,5 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg e 500 mg/kg durante 5 dias consecutivos. Após esse tratamento, foi feita a indução do processo inflamatório através da administração via retal de 0,25 mL de uma solução de 10 mg de ácido TNBS em etanol a 50% (v/v). Passadas 48h da indução do processo inflamatório os animais foram mortos e os cólons retirados para análises macroscópicas (tamanho e escore da lesão, relação peso-comprimento colônico, aderência do cólon a órgãos adjacentes e diarreia) e bioquímicas (quantificação de glutathione total, e atividade das enzimas mieloperoxidase e fosfatase alcalina). Os resultados mostram que nas doses administradas o tratamento com o extrato hidroalcoólico das folhas de *Solanum paniculatum* L. não produziu efeito protetor sobre a inflamação colônica induzida por TNBS, sugerindo ausência de efeito anti-inflamatório nas doses avaliadas.

Palavras chave: Doença Inflamatória Intestinal, Planta medicinal, Jurubeba

Abstract

Mori, C. **Evaluation of intestinal anti-inflammatory activity of the hydroalcoholic extract of *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae).** 2016. 25 p. Monografia – Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2016.

Inflammatory bowel disease is a term related to two distinct diseases, ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), both diseases are characterized by chronic inflammation that compromise structurally and functionally the gastrointestinal tract. Its etiology is unknown, current treatments do not provide ultimate healing and brings numerous side effects, demonstrating the need of new therapeutic strategies, and the use of natural products is one of the most promising. *Solanum paniculatum* L., family Solanaceae, popularly known as jurubeba, is a plant with different medicinal uses and wide distribution in Brazil, popularly used in controlling arthritis (chronic inflammation), liver and gastrointestinal disorders. Hydroalcoholic extracts of *S. paniculatum* leaves were administered orally in four doses: 62.5 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg and 500 mg/kg for 5 consecutive days. After this treatment, the induction of the inflammatory process was made by rectal administration of 0.25 ml solution of 10 mg TNBS acid in 50% ethanol (v/v). After 48 hours since induction of the inflammatory process, animals were killed and the colons were removed for macroscopic (lesion length and lesion score, colonic weight -length ratio, adherence to adjacent organs and diarrhea) and biochemical (total content of glutathione, myeloperoxidase and alkaline phosphatase enzyme activities) analyses. Results show that at the doses used the hydroalcoholic extract of *Solanum paniculatum* L. does not produced protective effect on the TNBS-induced colonic inflammation, suggesting no anti-inflammatory effect at the evaluated doses.

Key words: *Inflammatory Bowel Disease, Medicinal plant, Jurubeba*

Sumário

I – Introdução	p. 9
II – Objetivo	p. 13
III – Material e Métodos	p. 14
IV – Resultados e Discussão	p. 19
V – Conclusão	p. 23
VI – Referências	p. 24

I - Introdução:

1- Doença Inflamatória Intestinal (DII):

O termo Doença Inflamatória Intestinal (DII) engloba duas principais doenças que afetam o trato gastrointestinal: a Doença de Crohn (DC) e a Retocolite Ulcerativa (RCU). Ambas as doenças são caracterizadas por inflamação crônica que compromete estrutural e funcionalmente o trato gastrointestinal, e são marcadas por períodos intercalados de exacerbação e remissão dos sintomas, os quais incluem dor abdominal e alteração na atividade intestinal, podendo afetar a vida social e psicológica dos pacientes (BOUMA; STROBER, 2003; BIONDO-SIMÕES *et al.*, 2003).

Apesar de apresentarem algumas semelhanças clínicas, as doenças possuem importantes características que as distinguem. A DC é caracterizada por lesão transmural (da camada mucosa à serosa) e descontínua, com segmentos de tecido saudável entre as lesões, e pode afetar qualquer parte do trato gastrointestinal desde a boca até o ânus. Além disso, nota-se a infiltração de linfócitos, formação de fibrose e granuloma. A RCU caracteriza-se por lesão contínua restrita à mucosa do cólon, infiltração de linfócitos e granulócitos, perda de células caliciformes, formação de abscessos nas criptas e ulcerações (BOUMA; STROBER, 2003). Os principais sintomas da DC são dor abdominal, diarreia e perda de peso, enquanto na RCU o sintoma predominante é diarreia, acompanhada ou não de sangue nas fezes. Em ambas as doenças, os pacientes podem apresentar anorexia, mal-estar e febre, além de complicações como abscessos e fístulas (DEWULF, 2005). Em alguns casos podem existir manifestações extra-intestinais, principalmente nos músculos, olhos, pele, fígado e ossos, essas manifestações evidenciam o carácter sistêmico dessas doenças (PARK; PFEIL, 2015).

Com o intuito de fornecer tratamento eficaz, são necessários exames para diagnosticar as diferentes doenças, além de verificar a extensão e a gravidade das lesões, e apesar de possuir baixa taxa de mortalidade, a morbidade entre os pacientes permanece alta, sendo que em países ocidentais e desenvolvidos há maior incidência de DII (BIONDO-SIMÕES *et al.*, 2003; YAMAMOTO *et al.*, 2009; BAUMGART *et al.*, 2007).

2 - Etiologia:

A etiologia das DII permanece pouco elucidada, entretanto sabe-se que está relacionada a diversos fatores (FIOCCHI, 2012). Atualmente, uma das hipóteses mais aceita é que uma resposta imune desregulada a bactérias da flora intestinal e antígenos da dieta em indivíduos geneticamente susceptíveis desencadeia o processo inflamatório (XAVIER; PODOLSKY, 2007).

Camundongos com anormalidades genéticas distintas apresentam inflamação na mucosa de maneira espontânea, o que sugere que diferentes genes geram características clínicas similares à DII (BOUMA; STROBER, 2003). Além disso, genes associados ao surgimento da DII estão expressos em diferentes células do corpo, o que sugere que além do fator genético, a microbiota presente no intestino tem papel importante no desenvolvimento da doença no intestino (XAVIER; PODOLSKY, 2007).

O epitélio intestinal é exposto continuamente a antígenos endógenos e exógenos, e possui um sistema imune que é capaz de evitar a entrada de patógenos no organismo. Entretanto, esse sistema imune deve ser capaz de distinguir os patógenos dos agentes inofensivos, para evitar resposta desnecessária e exacerbada (PAVLICK *et al.*, 2002). Estudos mostram que ratos criados em ambientes livres de microrganismos não desenvolvem colite em modelos experimentais, o que sugere que a microbiota normal é necessária para iniciar ou manter o processo inflamatório, possivelmente por fornecer antígenos ou fatores estimuladores que levam à resposta imune desregulada do organismo (BOUMA; STROBER, 2003).

Alguns fármacos estão intrinsecamente relacionados ao desenvolvimento das DII, entre eles os contraceptivos orais e os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). No caso dos contraceptivos orais, acredita-se que esteja relacionada à sua atividade trombogênica, capaz de causar isquemia e afetar a integridade da mucosa, principalmente na Doença de Crohn; os AINES possuem comprovadamente efeitos colaterais como injúria na mucosa do trato gastrointestinal, além da alteração nos níveis de prostaglandina (SU *et al.*, 2009).

Dentre os fatores de risco, o tabagismo desempenha diferentes papéis nas duas doenças: na RCU está associada à diminuição dos níveis de incidência da doença, na DC está associado ao aumento da doença (CARTER *et al.*, 2004).

Finalmente, durante a inflamação intestinal, nota-se um aumento na produção de radicais livres, gerando estresse oxidativo (PAVLICK *et al.*, 2002). Este processo

ocorre em um tecido quando existe aumento na concentração de radicais livres, devido à incapacidade dos mecanismos antioxidantes diminuírem a sua concentração. Esses radicais em grandes concentrações causam peroxidação lipídica, pois alteram ligações insaturadas nos fosfolipídios de membrana, o que pode levar à alteração da fluidez da membrana, alinhamento dos receptores e morte celular; e interações com os ácidos nucleicos podem causar mutações (KARP; KOCH, 2006).

Devido ao desconhecimento da etiologia da DII torna-se difícil a busca por novos medicamentos e tratamentos (DI STASI *et al.*, 2015).

3 - Terapêutica atual

A terapêutica disponível induz à remissão dos sintomas, mas não fornece a cura permanente da DII. Em adição, promove o aparecimento de diversos efeitos colaterais, especialmente devido ao uso crônico destes fármacos, o que inviabiliza o tratamento por longos períodos (FIOCCHI, 2012). Várias classes de fármacos usadas na DII também não são efetivas para todos os pacientes. Em casos mais graves, nos quais o tratamento com drogas não fornece resposta, pode ser recomendada cirurgia no caso de pacientes com retocolite ulcerativa (BIONDO-SIMÕES *et al.*, 2003). No tratamento da DII são utilizados diversos fármacos, como os aminossalicilatos, corticosteróides, imunossupressores, imunomoduladores e a terapia biológica. Dentre esses, a primeira opção geralmente é o Ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), pertencente à classe dos aminossalicilatos, e seu uso é recomendado nos casos onde a doença é leve ou moderada. Os corticosteroides podem ser recomendados quando o tratamento com 5-ASA não é eficiente e o seu uso prolongado deve ser evitado devido a alguns efeitos colaterais como hipertensão arterial, diabetes e osteoporose (BIONDO-SIMÕES *et al.*, 2003). Os imunomoduladores são utilizados, na maioria das vezes, em pacientes cuja dose de corticosteroides não pode ser diminuída ou descontinuada, entretanto esse tratamento pode expor o paciente a doenças oportunistas (DEWULF, 2005).

A partir destas informações torna-se clara a necessidade de novas pesquisas voltadas para a descoberta e desenvolvimento de diferentes estratégias terapêuticas para o tratamento ou prevenção da DII. Dentre as várias possibilidades existentes, a pesquisa de plantas medicinais representa uma fonte rica de potenciais produtos ativos para esta doença.

4- *Solanum paniculatum* L.

Solanum paniculatum L. é uma espécie vegetal da família Solanaceae popularmente conhecida como Jurubeba, amplamente distribuída no Brasil, Paraguai, Bolívia e Argentina (VIEIRA JÚNIOR et al., 2014). A planta é um arbusto de até 3m de altura que apresenta espinhos curvos nos troncos e nos ramos. As folhas são alternas, lisas na face adaxial e com acúleos brancos na face abaxial. Apresenta inflorescência do tipo umbela, e o fruto do tipo baga redonda.

Seu emprego na medicina popular compreende a utilização como tônico, agente antipirético e no tratamento de doenças hepáticas e gástricas; em preparações como xaropes, infusões, elixires e extratos etanólicos (MESIA-VELA et al., 2002; VIEIRA JÚNIOR et al., 2014). A espécie *S. paniculatum* está inserida na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS), e está presente na composição da Ierobina®, um fitofarmacêutico utilizado para o tratamento de dispepsia (BOTION et al., 2005). Dentre os compostos dessa planta que apresentam atividades de interesse para a medicina, podemos salientar os alcaloides (jurubebina, jubebina e solanina), flavonoides, taninos, saponinas esteroidais, entre outros, que variam de acordo com a parte anatômica da planta (MESIA-VELA et al., 2002; VIEIRA et al., 2010; VIEIRA JÚNIOR et al., 2014).

Estudos prévios mostram o efeito protetor do extrato hidroetanólico das folhas de *S. paniculatum* em modelo experimental de úlcera induzida por etanol, possivelmente por aumentar as defesas antioxidantes das células (VIEIRA JÚNIOR et al., 2014). Entretanto, um estudo conduzido com extrato aquoso das folhas de *S. paniculatum* não mostrou efeito protetor em modelo experimental de úlcera induzida por ligação do piloro, o qual não reduziu a secreção gástrica (MESIA-VELA et al., 2002). Adicionalmente, foi verificada a atividade antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de *S. paniculatum* através do método do seqüestro do radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) (RIBEIRO et al., 2007).

Devido a essas características e aos resultados prévios estabelecidos, verificamos que a espécie *S. paniculatum* possui efeito promissor no tratamento da DII.

II - Objetivo:

Avaliar a atividade anti-inflamatória intestinal do extrato hidroetanólico de folhas de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae) no modelo de inflamação intestinal induzida por ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico (TNBS) em ratos.

III - Material e Métodos:

1 - Material vegetal:

O extrato hidroetanólico 70% de folhas de *Solanum paniculatum* L. foi fornecido pela Prof^a Dr^a Lourdes Maria Campaner dos Santos, professora do Instituto de Química da UNESP de Araraquara. Material fresco composto de folhas foi desidratado em estufa com circulação forçada de ar à temperatura de 40°C até secagem total das folhas. O material seco foi pulverizado em liquidificador gerando um pó fino que foi usado para o preparo do extrato hidroetanólico 70% por maceração a frio.

2 - Tratamentos:

O extrato obtido foi solubilizado em 8 ml de metil-celulose a 1% e 2ml de H₂O-destilada, nas concentrações de 62,5 mg/kg, 125 mg/kg, 250 mg/kg e 500 mg/kg. A solução obtida foi administrada por via oral, pelo método de gavagem.

3 - Animais:

Ratos da linhagem Wistar, machos e albinos pesando entre 180g e 220g, foram fornecidos e transportados do Anilab - Animais de Laboratório Criação e Comércio Ltda. até o Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu em veículo providenciado pela instituição. Todos os animais foram mantidos no biotério do Laboratório de Fitomedicamentos, Farmacologia e Biotecnologia do Instituto de Biociências da UNESP de Botucatu durante 5 dias antes do início dos procedimentos experimentais para aclimação. O biotério possui temperatura controlada de $21 \pm 1^\circ\text{C}$, ciclo claro-escuro 12 horas e estantes com sistema de ventilação-exaustão de ar filtrado que funcionam constantemente. Os ratos foram alojados em caixas (34 cm de largura x 40 cm de comprimento x 17 cm de altura), separados aleatoriamente e imediatamente após sua chegada ao biotério em 3 ou 4 animais por caixa; todos os animais tiveram livre acesso à água e o consumo de ração peletizada foi monitorado diariamente durante todo o período.

O protocolo e delineamento experimental foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal deste Instituto, segundo o protocolo nº 764.

4 - Grupos experimentais:

Os animais foram divididos em 6 grupos, cada grupo contendo n=7.

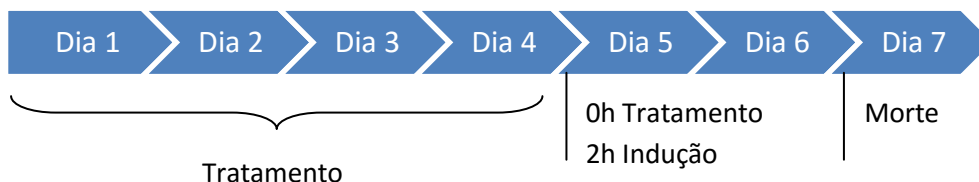
- a) Grupo branco: animais sem indução do processo inflamatório intestinal por TNBS e sem tratamento
- b) Grupo controle: animais com indução por TNBS e sem tratamento
- c) Grupo tratado 1: animais com indução por TNBS e tratado com extrato hidroetanólico de *Solanum paniculatum* L. na dose de 62,5 mg/kg.
- d) Grupo tratado 2: animais com indução por TNBS e tratado com extrato hidroetanólico de *Solanum paniculatum* L na dose de 125 mg/kg.
- e) Grupo tratado 3: animais com indução por TNBS e tratado com extrato hidroetanólico de *Solanum paniculatum* L. na dose de 250 mg/kg.
- f) Grupo tratado 4: animais com indução por TNBS e tratado com extrato hidroetanólico de *Solanum paniculatum* L. na dose de 500 mg/kg.

5 - Indução do processo inflamatório intestinal:

A indução do processo inflamatório intestinal foi feita através da administração intracolônica (via retal) de solução contendo 10 mg do ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico (TNBS) diluído em etanol a 50% (v/v). Os animais foram previamente mantidos em jejum por 12h, e após serem anestesiados, 0,25ml da solução foi administrada via retal. A solução foi administrada por cateter de 2 mm de diâmetro, e introduzidos por 8 cm através do ânus dos animais, até atingir o intestino na altura do cólon. Os animais foram mantidos de cabeça para baixo durante todo o procedimento, para assegurar que o líquido não retornasse pelo ânus.

6 - Cronograma:

Após o período de aclimação, os animais dos grupos tratados receberam o tratamento via oral. O tratamento foi feito por 5 dias consecutivos, e 2 horas após o último tratamento, foi realizada a administração intracolônica de solução contendo TNBS. Quarenta e oito horas após a indução do processo inflamatório intestinal, os animais foram mortos e seus cólons retirados para análises macroscópicas e bioquímicas.



7 - Análises macroscópicas:

Após a indução do processo inflamatório, foi verificada a presença ou ausência de fezes diarreicas. Após a morte dos animais foram aferidos os seguintes parâmetros: relação peso-comprimento colônico, aderência entre o intestino e órgãos adjacentes, tamanho da lesão e escore da lesão. O escore da lesão foi fornecido de acordo com escala descrita por BELL *et al.* (1995) (Tabela 1).

Tabela 1. Critério de avaliação da severidade e extensão da lesão colônica (BELL *et al.*, 1995)

Escala	Critério
0	Sem danos
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 dano cobrir mais que 2 cm ao longo da extensão do cólon (a escala é aumentada em 1 ponto para cada centímetro adicional)

8 - Análises bioquímicas:

Após as análises macroscópicas os cólons de cada animal foram divididos longitudinalmente em 7 tiras, cada tira foi armazenada separadamente em temperatura -80 °C para as seguintes análises bioquímicas: determinação do conteúdo de glutathiona total e determinação das atividades enzimáticas da mieloperoxidase e fosfatase alcalina. Após o descongelamento, as amostras de tecido foram homogenizadas em solução específica de cada protocolo.

a) Conteúdo de glutathiona total:

O protocolo utilizado segue o método descrito por ANDERSON (1985). As tiras utilizadas para esse procedimento foram previamente armazenadas em 1mL de ácido tricloro acético (TCA). O protocolo mede indiretamente a quantidade total de glutathiona presente na amostra através da oxidação da glutathiona em sua forma reduzida (GSH). A forma reduzida foi oxidada (GSSG) através da incubação da amostra com o ácido ditiobisnitrobenzóico (DTNB). Nessa reação, o DTNB foi reduzido, formando coloração amarelada que foi determinada por espectrofotômetro em comprimento de onda de 412 nm. Após a formação de GSSG, foi adicionada a enzima glutathiona redutase, que na presença de NADPH converte GSSG em GSH. Por sua vez, a GSH formada foi oxidada novamente, formando um ciclo, onde a velocidade de redução do DTNB é proporcional à quantidade de Glutathiona total (GSH+GSSG) presente no tecido.

b) Atividade de mieloperoxidase:

A determinação da atividade da mieloperoxidase em fragmentos de cólon de rato foi realizada pelo método de KRAWISZ *et al.*, (1984) e os resultados expressos como unidades de mieloperoxidase por grama de tecido, onde 1 unidade de atividade de MPO é definida como aquela que degrada 1 µmol de peróxido de hidrogênio por minuto a 25°C. A atividade da mieloperoxidase se utiliza como marcador da infiltração de neutrófilos, células relacionadas à resposta inflamatória.

c) Atividade da fosfatase alcalina:

A determinação do conteúdo de proteínas totais e da atividade da fosfatase alcalina foi realizada pelos métodos descritos por SMITH *et al.* (1984) e BESSEY *et al.* (1946), respectivamente. A determinação de proteínas foi

espectrofotometricamente determinada a 562 nm e realizada pela reação de ácido bicinchonínico e sulfato de cobre incubados a 37 °C por 25 minutos. A determinação de fosfatase alcalina foi realizada através do uso de p-nitrofenilfosfato dissódico como substrato na presença de tampão glicina 50 mM (pH 10,5) com 0,5 mM de $MgCl_2$ incubados a 37 °C por 25 minutos e detectada a 405 nm. O cálculo da fosfatase alcalina é baseado na quantidade de proteínas totais e expressa em mU/mg de proteína.

9 - Análise estatística:

Resultados paramétricos foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média. Diferenças entre as médias foram testadas por Análise de Variância (ANOVA) seguida por testes de significância. Dados não paramétricos foram expressos como mediana e analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. Dados descontínuos foram analisados pelo teste de Fisher. Significância estatística foi considerada para valores de $p \leq 0,05$.

IV - Resultados e discussão

Os parâmetros macroscópicos avaliam a severidade da lesão, além de suas conseqüências, como o encurtamento do comprimento colônico causado pela contração constante da camada muscular (PARK; PFEIL, 2015) e a aderência aos órgãos adjacentes. Quanto aos parâmetros macroscópicos, apesar de não haver diferença estatística significativa, os animais que receberam o extrato de 500 mg/kg apresentaram uma tendência em diminuir o escore, a extensão da lesão e a ocorrência de aderência em relação ao grupo controle TNBS. Os demais grupos não diferiram significativamente do grupo controle TNBS nos parâmetros avaliados (Tabela 2).

Tabela 2: Avaliação dos parâmetros macroscópicos

Grupo	Escore (0-10) ^a	Lesão (cm) ^b	Relação peso/comprimento (mg/cm) ^b	Diarreia (%)	Aderência (%)
Branco	0 *	0***	86,7 ± 3,6***	0***	0*
Controle	7 (6-9)	3,44 ± 0,41	143,7 ± 6,5	100	71,4
62,5 mg/kg	8 (7-9)	4 ± 0,38	142,4 ± 4,8	100	42,8
125 mg/kg	7 (6-9)	3,12 ± 0,56	140,4 ± 6,8	100	40*
250 mg/kg	8 (7-10)	4,15 ± 0,44	149,7 ± 4,5	100	14,3*
500 mg/kg	5 (4-7)	1,86 ± 0,52*	141 ± 16,4	100	20*

^aOs valores de escore estão expressos em mediana (intervalo), ^b extensão da lesão, relação peso-comprimento colônico estão expressos em média ± E.P.M. onde * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 comparados ao grupo controle

A glutathione é um importante mecanismo endógeno de defesa, reduzindo os níveis de radicais livres, responsáveis por causar estresse oxidativo na célula (KARP; KOCH, 2006). Na dosagem do conteúdo de glutathione total, os grupos tratados não apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle, indicando que o extrato hidroetanólico de *Solanum paniculatum* L. não foi capaz de evitar a depleção dos níveis endógenos de glutathione (Figura 1).

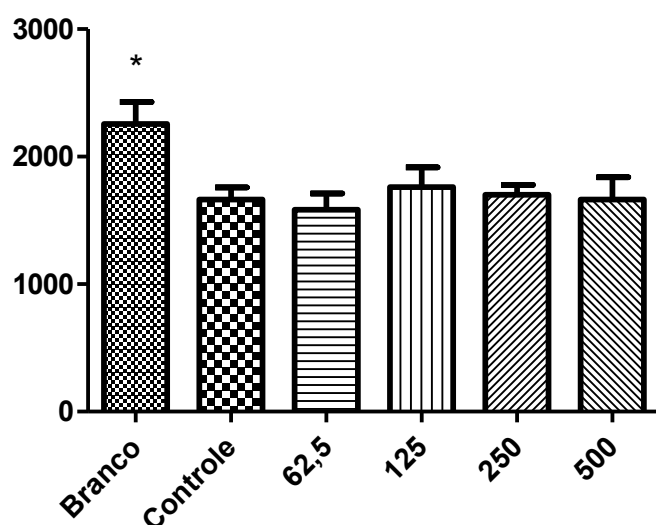


Figura 1. Avaliação do conteúdo de glutathione total (GSH). Dados expressos em média $\pm$ E.P.M. com $*p<0,05$, analisados por ANOVA seguido de teste Dunnett vs. grupo controle-TNBS.

Os neutrófilos, células ligadas à resposta inflamatória, circulam livremente pelos vasos sanguíneos. Na presença de um processo inflamatório, o epitélio dos vasos deve se tornar mais permeável para a passagem dos neutrófilos, para a chegada ao sítio de inflamação (VAN DER VLIET, 1992). Esse fluxo intenso de neutrófilos da circulação para o tecido é caracterizado pelo aumento da atividade da enzima mieloperoxidase (SMITH; CASTRO, 1978), sendo os níveis de mieloperoxidase diretamente proporcionais à inflamação presente no tecido. Dentre os grupos tratados, a dose de 250 mg/kg aumentou o nível de atividade da enzima mieloperoxidase. Dentre os demais, nenhum se diferenciou significativamente ao grupo controle, indicando que o extrato não foi capaz de reduzir a atividade da enzima mieloperoxidase (Figura 2).

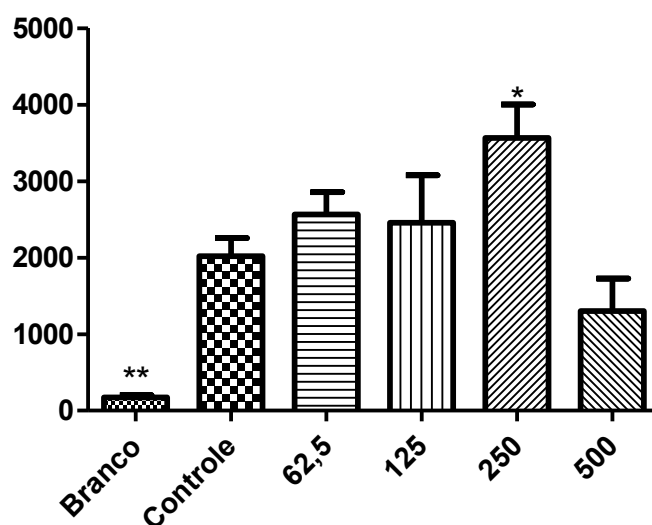


Figura 2. Avaliação da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO). Dados expressos em média $\pm$ E.P.M. com $*p < 0,05$ e $**p < 0,01$, analisados por ANOVA seguido de teste Dunnett vs. grupo controle-TNBS.

A enzima fosfatase alcalina é considerada uma marcadora do processo inflamatório intestinal. Os grupos tratados não apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle, indicando que o extrato hidroetanólico de *S. paniculatum* não foi capaz de reduzir a atividade da enzima fosfatase alcalina (Figura 3)

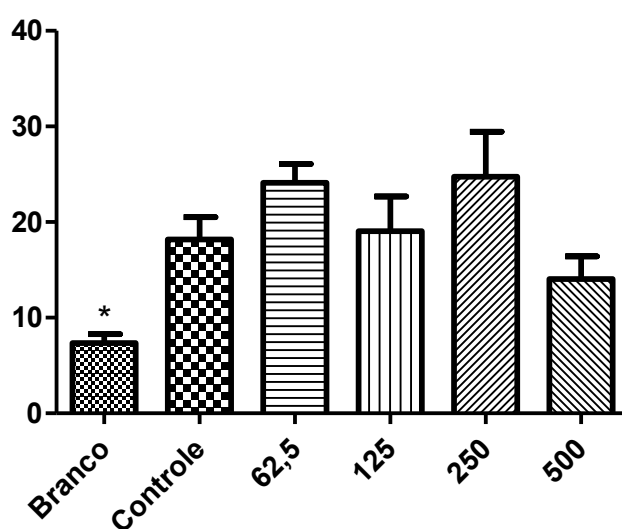


Figura 3. Avaliação da atividade da enzima fosfatase alcalina. Dados expressos em média $\pm$ E.P.M. com $*p < 0,05$, analisados por ANOVA seguido de teste Dunnett vs. grupo controle-TNBS.

V - Conclusão:

A dose de 500 mg/kg demonstrou melhora nos parâmetros macroscópicos, entretanto por ser uma dose elevada poderia causar efeitos colaterais tóxicos para o organismo. Na dosagem da atividade de mieloperoxidase, o grupo de 250 mg/kg apresentou resultados maiores do que o grupo controle, indicando que essa dose exacerbou o processo inflamatório. Os demais grupos tratados não apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle nos parâmetros avaliados.

Os resultados mostram que nas doses administradas o tratamento com o extrato hidroalcoólico das folhas de *Solanum paniculatum* L. não produziu efeito protetor sobre a inflamação colônica induzida por TNBS, sugerindo ausência de efeito anti-inflamatório nas doses avaliadas.

VI – Referências

- ANDERSON, M. E. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. **Methods of Enzymology**, v. 113, p. 548-55, 1985.
- BAUMGART, D. C.; SANDBORN, W. J. Inflammatory bowel disease : clinical aspects and established and evolving therapies. **The Lancet**, v. 369, p. 1641–1657, 2007.
- BELL, C. J.; GALL, D. G.; WALLACE, J. L. Disruption of colonic electrolyte transport in experimental colitis. **American Journal of Physiology**, v. 268, p. 622-630, 1995.
- BESSEY, O.; LOWRY, O.; BROOK, M. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 164, p. 321-329, 1946.
- BIONDO-SIMÕES, M. L. P. et al. Opções terapêuticas para as doenças inflamatórias intestinais: revisão. **Revista brasileira de Coloproctologia**, v. 23, p. 172-182, 2003.
- BOTION, L. M. et al. Effects of the Brazilian phytopharmaceutical product Ierobina® on lipid metabolism and intestinal tonus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, n. 2, p. 137–142, 2005.
- BOUMA, G.; STROBER, W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 3, n. 7, p. 521–533, 2003.
- CARTER, M. J.; LOBO, A. J.; TRAVIS, S. P. L. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. **Gut**, v. 53 Suppl 5, n. suppl_5, p. V1–16, 2004.
- DEWULF, N. L. S. Investigação sobre a adesão ao tratamento medicamentoso em pacientes com doenças inflamatórias intestinais. Dissertação de mestrado, orientador TRONCON, L. E. A., Pós-graduação em Ciências Médicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, 99 pp, 2005.
- DI STASI, L. C.; COSTA, C. A. R. A.; WITAICENIS, A. Products for the treatment of inflammatory bowel disease: a patent review (2013-2014). **Expert Opinion On Therapeutic Patents**, v. 25, n. 6, p. 629–642, 2015.
- FIOCCHI, C. Towards a “Cure” for IBD. **Digestive Diseases**, v. 30, n. 4, p. 428–433, 2012.
- KARP, S. M.; KOCH, T. R. Oxidative Stress and Antioxidants in Inflammatory Bowel Disease. **Disease-a-Month**, v. 52, n. 5, p. 199–207, 2006.
- MESIA-VELA et al. Solanum paniculatum L. (Jurubeba): Potent inhibitor of gastric acid secretion in mice. **Phytomedicine**, v.9, p. 508–514, 2002.
- PARK, J. R.; PFEIL, S. A. Primary Care of the Patient with Inflammatory Bowel Disease. **Medical Clinics of North America**, v. 99, n. 5, p. 969–987, 2015.
- PAVLICK, K. P. et al. Role of reactive metabolites of oxygen and nitrogen in inflammatory bowel disease. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 33, n. 3, p. 311–322, 2002.
- RIBEIRO, S. R. et al. Avaliação da atividade antioxidante de solanum paniculatum (solanaceae). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, v. 11, n. 3, p. 179-183, 2007.
- SMITH, J. W.; CASTRO, A. Relation of peroxidase mucosa to inflammation activity in gut. **American Journal of Physiology**, v. 234, n. 7, p. R72–9, 1978.
- SU, L. et al. Targeted Epithelial Tight Junction Dysfunction Causes Immune Activation and Contributes to Development of Experimental Colitis. **Gastroenterology**, v. 136, n. 2, p. 551–563, 2009.
- VAN DER VLIET, A.; BAST, A. Role of reactive oxygen species in intestinal

- diseases. **Free Radical Biology & Medicine**, Vol. 12, p. 499-513, 1992.
- VIEIRA JÚNIOR, G. M. et al. New steroidal saponins and antiulcer activity from *Solanum paniculatum* L. **Food Chemistry**, 2014.
- VIEIRA, P. M.; PAULA, J. R.; CHEN-CHEN, L. *Solanum paniculatum* L. leaf and fruit extracts: assessment of modulation of cytotoxicity and genotoxicity by micronucleus test in mice. **Journal of medicinal food**, v. 13, n. 6, p. 1424–30, 2010.
- XAVIER, R. J.; PODOLSKY, D. K. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. **Nature**, v. 448, n. 7152, p. 427–434, 2007.
- YAMAMOTO-FURUSHO, J. K. Innovative therapeutics for inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 13, p. 1893–1896, 2007.