

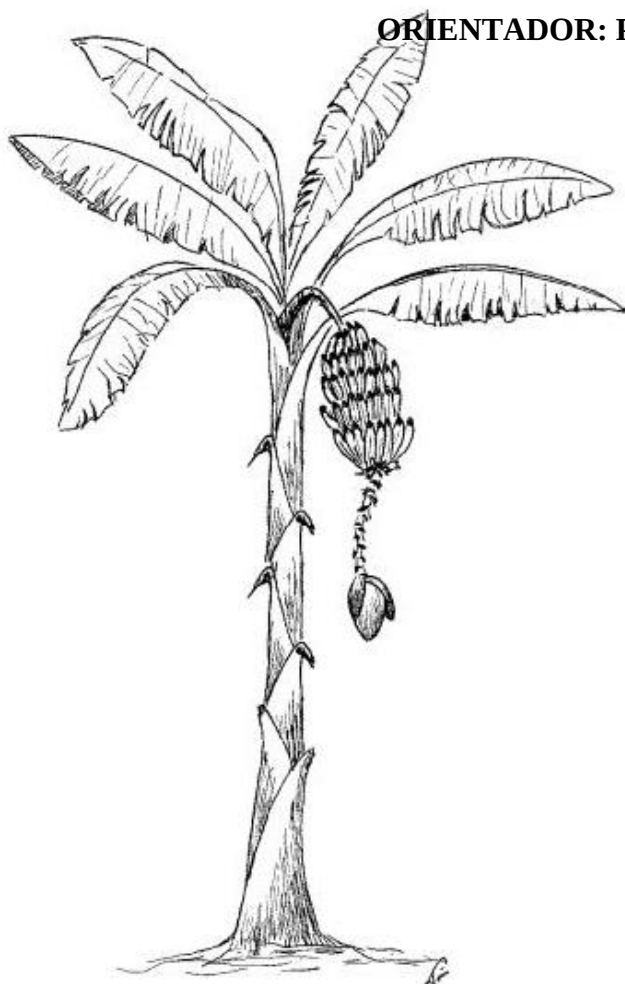
RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta dissertação será disponibilizado
somente a partir de 26/02/2020.

Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal da dieta enriquecida com farinha de banana prata verde (*Musa* sp AAB) no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS em ratos.

ERIKA FERREIRA COSTA

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CLAUDIO DI STASI



Botucatu, SP

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho” - Instituto de Biociências
***Campus* Botucatu, SP**

Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal da dieta enriquecida com farinha de banana prata verde (*Musa* sp AAB) no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS em ratos.

ERIKA FERREIRA COSTA
ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CLAUDIO DI STASI

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, *Campus* de Botucatu, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Farmacologia e Biotecnologia.

Botucatu, SP

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRE 8/7500

Costa, Erika Ferreira.

Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal da dieta enriquecida com farinha de banana prata verde (*Musa sp* AAB) no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS em ratos / Erika Ferreira Costa. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Luiz Claudio Di Stasi

Capes: 21001006

1. Banana. 2. Intestinos - Doenças. 3. Doenças inflamatórias intestinais. 4. Stress oxidativo. 5. Muco. 6. Musácea.

Palavras-chave: Banana prata; Doença inflamatória intestinal; Estresse oxidativo; Muco; *Musa sp* AAB.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho” - Instituto de Biociências
Campus Botucatu, SP

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Erika Ferreira Costa

Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal da dieta enriquecida com farinha de banana prata verde (*Musa sp* AAB) no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS em ratos.

BANCA EXAMINADORA

1º Prof. Dr. Luiz Claudio Di Stasi

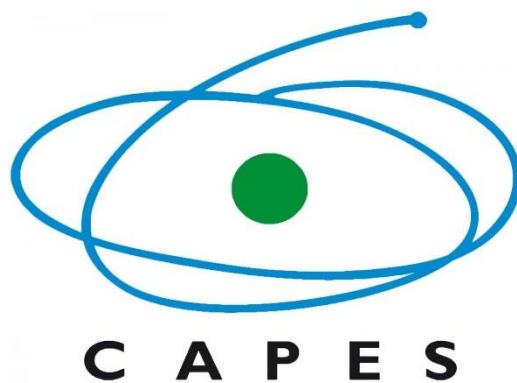
Professor Titular no Departamento de Farmacologia /Instituto de Biociências – UNESP, Botucatu – SP

2º Prof. Dr. Carlos Augusto Real Martinez

Professor Livre docente no Departamento de Cirurgia/Faculdade de Medicina – USF, Bragança Paulista – SP

3º Profa. Dra. Fabiana Gaspar González

Professora no Centro Universitário Lusíada – UNILUS, Santos - SP



(Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior)



(Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo)

*“E o fim é belo incerto, depende de como você vê o novo, o credo,
a fé que você deposita em você...e só.”*

Fernando Anitelli

Dedicatória

*Aos meus pais Lourdes e Cleone,
em reconhecimento a todos os esforços que fizeram e fazem,
diariamente, para que eu e meu irmão sejamos pessoas de bem.
Obrigada por serem a razão de tudo isso, sem vocês eu nada seria.
A vocês todo o meu amor e minha eterna gratidão.*

*“Muitas vezes basta ser: colo que acolhe, braço
que envolve, palavra que conforta,
silêncio que respeita (...)”*

Cora Coralina

*Ao meu namorado Higor,
por ser meu porto seguro, meu descanso em meio à loucura, por
acreditar em mim mais do que eu mesma e
por compreender minhas ausências.*

*“Só você para dar à minha vida direção, o tom,
a cor, me fez voltar a ver a luz.
Estrela no deserto a me guiar,
farol no mar da incerteza...”*

Guilherme Arantes

Agradecimentos

Aos colegas de laboratório Lesvi, Késsien, Aline, Luiz, Vinícius, Cristiane, Ana Elisa, Tainan, Celso, Alexandre Tanimoto, Alexandre Silveira e Ariane pelas conversas, convivência e auxílio durante a realização dos experimentos.

Aos também colegas de laboratório Patrícia, Fernanda, Elisa, Eduardo, Priscila e Michelle pela agradável convivência.

À Lesvi, pela amizade sincera e verdadeira, por dividir comigo todas as angústias, alegrias e planos futuros.

À Késsien, pelo companheirismo durante a realização das nossas análises bioquímicas e microscópicas.

À Aline, por todo o conhecimento transmitido, por estar sempre disposta a sanar minhas dúvidas e pela gentileza com a qual sempre me tratou.

À Tainan, por ter me recebido gentilmente em sua casa em minhas primeiras visitas à Botucatu e por ter cedido seu desenho da espécie *Musa* sp que ilustra este trabalho.

A todos os funcionários do Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências, UNESP, especialmente à Janete Teixeira, Paulo César Mioni, Luiz de Oliveira, Hélio Kushima e Ana Cristina Múrcia, pela ajuda nos momentos em que se fez necessário.

A todos os funcionários da Seção Técnica de Pós-Graduação, especialmente ao Davi Müller, por serem tão solícitos e prestativos.

A todos os funcionários da UNIPEX, pelo auxílio durante o preparo das rações.

Aos professores da Pós-Graduação em Farmacologia e Biotecnologia, por todos os conhecimentos transmitidos.

À CAPES pela bolsa de Mestrado.

À FAPESP pelo auxílio financeiro.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

*Ao Professor Dr. Luiz Claudio Di Stasi,
pela orientação e por ter me recebido em seu laboratório mesmo sem me conhecer,
confiando em mim e no meu trabalho.
Agradeço pelas conversas e críticas que me fizeram querer ser melhor.*

Prólogo

Formação:

Graduação em Ciências Biológicas (2011-2015), modalidades Licenciatura e Bacharelado, pela Universidade Federal de Uberlândia, *campus* Pontal, Ituiutaba – MG.

Atividades realizadas durante o Mestrado (2016-2018):

1. Disciplinas cursadas

Disciplinas cursadas	Ano	Carga Horária	Conceito
Tópicos Avançados em Farmacologia e Biotecnologia	2016	45	A
Bases e Atualizações em Farmacologia e Biotecnologia	2016	45	A
Metodologia e Redação Científica	2016	45	A
Plantas Medicinais Abordagens de Estudo Interdisciplinar	2016	90	B
Tópicos Especiais em Farmacologia e Biotecnologia: Tópicos Integrados de Farmacologia e Biotecnologia da Doença Inflamatória Intestinal e Reprodução Bovina	2016	30	A
Prática de Ensino em Farmacologia	2016	60	A
Farmacologia e Sociedade	2017	45	A
Farmacologia e Sociedade	2017	45	A
Mediadores da Resposta Inflamatória	2017	45	A
Genética Bacteriana I	2017	60	B
Total		510 h	

2. Participação em eventos científicos:

- XIII Jornada Paulista de Plantas Medicinais “Professor Dr. Francisco José de Abreu Matos”, Araraquara – SP (2017)
- VI Simpósio de Farmacologia e Biotecnologia da UNESP, Botucatu – SP (2017)
- XXIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Belo Horizonte – MG (2016)
- XII Workshop de Plantas Medicinais de Botucatu, Botucatu – SP (2016)
- Simpósio de Ética e Integridade na Pesquisa, Araraquara – SP (2016)

3. Trabalhos apresentados em Eventos Científicos:

- **Avaliação da Atividade Anti-Inflamatória de *Musa sp* AAB (Banana Prata) no Modelo de Indução por TNBS'**, na forma oral. **Autores:** COSTA, E. F.; OLIVA, K. R. S.; DALMAU, L. M.; CURIMBABA, T. F. S.; DI STASI, L. C. XIII Jornada Paulista de Plantas Medicinais "Professor Dr. Francisco José de Abreu Matos", Araraquara – SP (2017).
- **Avaliação da Atividade Anti-inflamatória da *Cnidioscolus aconitifolius* no modelo Experimental de Doença Inflamatória Intestinal.** **Autores:** DALMAU, L. M.; COSTA, E. F.; OLIVA, K. R. S.; MORI, C.; CURIMBABA, T. S. F.; DI STASI, L. C. XIII Jornada Paulista de Plantas Medicinais "Professor Dr. Francisco José de Abreu Matos", Araraquara – SP (2017).
- **Implantação de um Horto de plantas medicinais: conexão entre os saberes,** na forma de pôster. **Autores:** COSTA, E. F.; SILVA, W. C.; NOGUEIRA, L. M.; SANTOS, W. L.; ALVES, K. C. H.; SANTOS, G. B.; PALHETA, J. C. B.; POVH, J. A. XXIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Belo Horizonte – MG (2016).
- **Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade antioxidante do extrato hidroalcoólico da farinha dos frutos de *Musa spp* AAB,** na forma de pôster. **Autores:** COSTA, E. F.; WITAICENIS, A.; TANIMOTO, A.; MORI, C.; OLIVA, K. R. S.; DALMAU, L. M.; CURIMBABA, T. F. S.; STASI, L. C. XXIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Belo Horizonte – MG (2016).
- **Avaliação da atividade antioxidante e dos compostos secundários de *Hibiscus esculentus* L.,** na forma de pôster. **Autores:** OLIVA, K. R. S.; WITAICENIS, A.; TANIMOTO, A.; MORI, C.; COSTA, E. F.; DALMAU, L. M.; CURIMBABA, T. F. S.; STASI, L. C. XXIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Belo Horizonte – MG (2016).
- **Caracterização fitoquímica do extrato hidroalcoólico da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) como potencial protetor da inflamação intestinal,** na forma de pôster. **Autores:** CURIMBABA, T. F. S.; WITAICENIS, A.; MORI, C.; COSTA, E. F.; OLIVA, K. R. S.; DALMAU, L. M.; TANIMOTO, A.; STASI, L. C. XXIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Belo Horizonte – MG (2016).
- **Caracterização fitoquímica, quantificação de fenóis totais e atividade antioxidante do fruto verde de *Musa spp* AAA.,** na forma de pôster. **Autores:** MORI, C.; TANIMOTO, A.; WITAICENIS, A.; COSTA, E. F.; OLIVA, K. R.

S.; DALMAU, L. M.; CURIMBABA, T. F. S.; STASI, L. C. XXIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Belo Horizonte – MG (2016).

4. Prêmios

- Premiação em 1º lugar pela apresentação do trabalho “Avaliação da Atividade Anti-Inflamatória de *Musa* sp AAB (Banana Prata) no Modelo de Indução por TNBS” na forma oral. **Autores: COSTA, E. F.**; OLIVA, K. R. S.; DALMAU, L. M.; CURIMBABA, T. F. S.; DI STASI, L. C. XIII Jornada Paulista de Plantas Medicinais “Professor Dr. Francisco José de Abreu Matos”, Araraquara – SP (2017).

5. Formação complementar:

Minicursos:

- Bioensaios Aplicados ao Estudo de Plantas Medicinais, na XIII Jornada Paulista de Plantas Medicinais “Professor Dr. Francisco José de Abreu Matos, Araraquara – SP (2017)
- Jardins Sensoriais, no XII Workshop de Plantas Medicinais de Botucatu - Plantas Medicinais e suas fronteiras: tradição e tecnologia, Botucatu – SP (2016)

Workshops:

- Seminário “Pipetas Gilson: como aumentar a vida útil e obter melhores resultados (2016)
- Técnicas de Centrifugação Hettich: Princípios e Aplicações (2016)

6. Colaboração em outros projetos de Pesquisa

- Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal do óleo de *Bertholletia excelsa* Bonpl.
- Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal da dieta enriquecida com quiabo (*Hibiscus esculentus*) no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS em ratos
- Avaliação das propriedades anti-inflamatórias de *Cnidoscolus aconitifolius* no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS em ratos
- Efeitos da dieta enriquecida com os frutos de *Euterpe oleraseae* Mart. no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS

7. Outras atividades

- Membro da comissão organizadora do VI Simpósio de Farmacologia e Biotecnologia da UNESP, Botucatu – SP (2017)
- Visita técnica monitorada no Laboratório de Análises *In Vitro* e *Ex Vivo* da empresa Chemyunion (Sorocaba – SP), totalizando 30 horas. A visita teve como objetivo o acompanhamento da rotina de cultivo de células humanas e de linhagens, a fim de obter conhecimento para implantação da técnica no laboratório de Fitomedicamentos, Farmacologia e Biotecnologia – FitoFarmatec/IBB-UNESP (Julho, 2017).
- Participação na elaboração da disciplina intitulada ”Drogas: Ciência, Cultura e Sociedade” oferecida aos cursos de Ciências Biológicas (Licenciatura e Bacharelado), Nutrição, Física Médica e Biomedicina. Nesta disciplina a mestranda ministrou uma aula com duração de 2 horas sobre a temática “Cafeína” para uma turma de aproximadamente 35 alunos.

RESUMO

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) é uma doença inflamatória crônica e idiopática do intestino que inclui duas doenças distintas: a Doença de Crohn e a Retocolite Ulcerativa. Os pacientes acometidos pela DII podem sofrer de dor abdominal, diarreia e de outros sintomas socialmente inaceitáveis que comprometem sua qualidade de vida. Embora exista uma grande quantidade de fármacos destinados ao tratamento da DII, fatores como o alto custo de aquisição, os efeitos colaterais e o fato de uma parte dos pacientes não responderem inicialmente ao tratamento, têm despertado o interesse de pesquisadores na busca de novas abordagens de tratamento para a doença. Uma das alternativas é a utilização de produtos naturais com propriedades antioxidante e/ou imunomoduladora, assim como de produtos que possam modular a microbiota intestinal, prevenindo recidivas ou complementando o tratamento de pacientes acometidos pela DII. Com base nisso, estudos realizados por nosso grupo de pesquisa com a farinha de banana nanica verde (*Musa* sp AAA) demonstraram que a espécie apresentou um efeito anti-inflamatório intestinal. Considerando a similaridade química, a espécie *Musa* sp AAB (banana prata) foi selecionada para a realização do presente estudo. As bananas são ricas em fibras, amido resistente e fenóis, além de apresentarem alto valor nutricional por serem excelentes fontes de potássio, cálcio, fósforo e vitaminas A, B e C. De forma geral, as bananas apresentam atividades antidiarreica, antiulcerogênica, antimicrobiana, hipoglicemiante, antioxidante, anti-hipertensiva e diurética, sendo que a variedade *Musa* sp AAA aumentou a produção de AGCCs provavelmente por produzir efeitos prebióticos devido a presença de fibras e amido resistente em sua composição. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade anti-inflamatória intestinal da dieta enriquecida com farinha de banana prata verde (*Musa* sp AAB) no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS em ratos. Para isso, a farinha de banana prata verde foi incorporada nas proporções de 5% e 10% na dieta de ratos machos *Wistar* por 28 dias antes e 7 dias após a indução do processo inflamatório intestinal. Após a morte dos animais, ocorrida no 35º dia, foram realizadas análises macroscópicas, microscópicas e bioquímicas. Neste trabalho também foi realizada uma prospecção fitoquímica do extrato etanólico 70% da farinha de banana prata verde, e avaliado o teor de fenóis totais presente nesse extrato e sua atividade antioxidante por dois diferentes métodos. Os resultados mostraram a presença de fenóis, taninos e saponinas no extrato da farinha de *Musa* sp AAB, e demonstrou que nos métodos *in vitro* utilizados, a farinha teve discreta atividade antioxidante. Contudo, *in vivo* a dieta enriquecida com o produto foi capaz de evitar a depleção de glutathiona colônica, além de reduzir a extensão da lesão causada pela instilação do TNBS, diminuir a ocorrência de aderência entre o intestino e os órgãos adjacentes e evitar a depleção de muco no epitélio e lúmen intestinal. Assim, o presente estudo demonstrou que a dieta enriquecida com farinha de banana prata verde nas concentrações de 5% e 10% melhora o processo inflamatório intestinal devido sua propriedade antioxidante, que está provavelmente relacionada ao seu conteúdo de compostos antioxidantes, fibras e amido resistente.

Palavras-chave: Banana prata; *Musa* sp AAB; Doença Inflamatória Intestinal; Muco; Estresse Oxidativo.

ABSTRACT

Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic and idiopathic inflammation of gastrointestinal tract that comprises two major disorders: Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. Patients affected by IBD may suffer abdominal pain, diarrhea and other socially unacceptable symptoms that compromise their quality of life. Although there are a large number of drugs for the treatment of IBD, factors such as the high cost of acquisition, side effects and the fact that many patients do not respond initially to the available treatment, have aroused the interest of researchers to evaluate new therapeutic approaches to disease. One of these alternatives is the use of natural products with antioxidant and/or immunomodulatory properties, as well as products which can modulate the intestinal microbiota, preventing relapses or complementing patient treatments. Based on this, our research group conducted studies with green dwarf banana flour (*Musa* sp AAA) and demonstrated its intestinal anti-inflammatory effect. Bananas are rich in fiber, resistant starch and phenols, and have high nutritional value as they are excellent sources of potassium, calcium, phosphorus and vitamins A, B and C. Generally, bananas present antidiarrheal, antiulcerogenic, antimicrobial, hypoglycemic, antihypertensive, antihypertensive and diuretic activities. Indeed, *Musa* sp AAA variety increased the production of SCFAs probably because they produce prebiotic effects due to the presence of fibers and resistant starch in its composition. Considering the chemical similarity, *Musa* sp AAB (green dwarf prata) was selected in the present study to evaluate the intestinal anti-inflammatory activity of the diet enriched with poovan green banana flour (*Musa* sp AAB) in the experimental model of intestinal inflammation induced by trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) in rats. Green dwarf prata flour was incorporated in concentrations of 5% and 10% in the diet of male *Wistar* rats for 28 days before and 7 days after induction of intestinal inflammation by TNBS. The animals were killed on the 35th day and macroscopic, microscopic, biochemical and microscopic analysis were performed. Phytochemical prospection of ethanol extract 70% of banana green flour was also performed and the total phenol content present in this extract and its antioxidant activity were evaluated by two different methods: 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) and lipid peroxidation in membranes of rat brains. The results showed the presence of phenols, tannins and saponins in the *Musa* sp AAB flour extract, and a low antioxidative potential in *in vitro* methods used. However, enriched diet showed protective and anti-inflammatory effects *in vivo*, evidenced by reduction of lesion extension induced by inflammation and occurrence of adhesion between intestine and adjacent organs. Diets were also able to prevent depletion of glutathione and mucus in the colon, improving oxidative stress generated during the inflammatory process. Thus, the present study demonstrated that diets enriched with green banana flour at 5% and 10% concentrations improve intestinal inflammatory process due to its anti-inflammatory and antioxidant effects, which may be associated to its chemical composition.

Key-words: Dwarf prata; *Musa* sp AAB; Inflammatory bowel disease; Mucus; Oxidative stress.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Preparo da farinha dos frutos verdes de <i>Musa</i> sp AAB.....	12
Figura 02: Esquema representativo do Delineamento Experimental seguido.....	18
Figura 03: Avaliação de parâmetros bioquímicos em animais submetidos à inflamação intestinal induzida por TNBS.....	30
Figura 04: Efeito da dieta enriquecida com farinha de banana prata verde (<i>Musa</i> sp AAB) nas proporções de 5 e 10% no escore microscópico, segundo Stucchi et al. (2000).....	31
Figura 05: Fotomicrografias do epitélio intestinal de ratos dos diferentes grupos experimentais sete dias após a indução do processo inflamatório por TNBS.....	32
Figura 06: Fotomicrografias do epitélio intestinal de ratos dos diferentes grupos experimentais sete dias após a administração de TNBS, indicando a presença de muco.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Principais ingredientes presentes na dieta oferecida aos ratos.....	17
Tabela 02: Critérios de avaliação da severidade e da extensão da lesão cólica, segundo Bell et al. (1995)	20
Tabela 03: Critério de avaliação microscópica de lesão cólica segundo Stucchi et al (2000).....	22
Tabela 04: Prospeção fitoquímica qualitativa do extrato etanólico 70% de <i>Musa sp</i> AAB.....	25
Tabela 05: Determinação do teor de fenóis totais e da atividade antioxidante do extrato etanólico 70% de <i>Musa sp</i> AAB.....	27
Tabela 06: Consumo de alimento, peso corpóreo inicial, peso corpóreo final e ganho de peso de ratos saudáveis, com inflamação intestinal induzida e com inflamação induzida que receberam dietas enriquecidas com farinha de banana prata verde a 5% ou 10% por 35 dias.....	27
Tabela 07: Efeito da dieta enriquecida com farinha de banana prata verde (<i>Musa sp</i> AAB) nas proporções de 5 e 10% no escore macroscópico, extensão da lesão e relação peso/comprimento no modelo de inflamação intestinal induzida por TNBS.....	28

LISTA DE ABREVIATÖES

AIEC: *Escherichia coli* aderente invasiva

AGCCs: Ácidos Graxos de Cadeia Curta

ALFAC: Álcool 80%, Formaldeído 40% e Ácido Acético

CAT: Catalase

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

DII: Doença Inflamatória Intestinal

DC: Doença de Crohn

DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

DTNB: Ácido Ditiobisnitrobenzóico

EAG: Equivalente de Ácido Gálico

EROS: Espécies Reativas de Oxigênio

FA: Fosfatase Alcalina

FT: Fenóis Totais

GSH: Glutathiona

GSR: Glutathiona Redutase

GSSG: Glutathiona Oxidada

HE: Eosina-hematoxilina

H₂O₂: Peróxido de Hidrogênio

HTAB: Brometo de Hexadeciltrimetilamônio

IC₅₀: Concentração Inibitória 50%

IL: Interleucina

MDA: Malondialdeído

MPO: Mieloperoxidase

NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato Reduzida

NF-κB: Fator Nuclear Kappa B

O₂⁻: Superóxido

•OH: Radical Hidroxila

RCU: Retocolite Ulcerativa

RPM: Rotação por minuto

SOD: Superóxido Dismutase

TCA: Ácido Tricloroacético

TGI: Trato Gastrointestinal

TNBS: Ácido Trinitrobenzenosulfônico

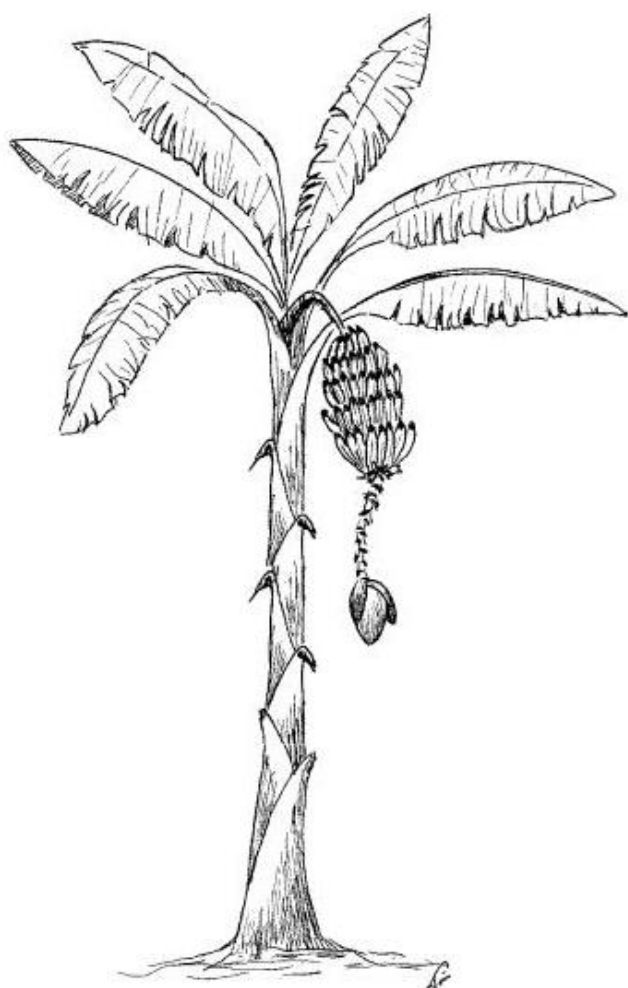
TNF: Fator de Necrose Tumoral

UNIPLEX: Unidade de Pesquisa Experimental

SUMÁRIO

Introdução	1
Objetivo	11
Material e Métodos	12
1. Material Vegetal e preparo da farinha de <i>Musa</i> sp AAB	12
2. Caracterização fitoquímica da farinha de <i>Musa</i> sp AAB	13
2.1. Avaliação qualitativa do extrato etanólico 70%	13
2.2. Avaliação quantitativa do teor de Fenóis Totais (FT)	13
2.3. Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH	14
2.4. Avaliação da atividade antioxidante pelo ensaio de peroxidação lipídica em membranas de cérebros de ratos	15
3. Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal	16
3.1. Animais	16
3.2. Preparo da ração	16
3.3. Grupos experimentais	17
3.4. Delineamento Experimental	18
3.5. Indução do processo inflamatório intestinal	19
3.6. Avaliação macroscópica do processo inflamatório intestinal	20
3.7. Avaliação microscópica do processo inflamatório intestinal	20
3.8. Análises bioquímicas	22
3.8.1. Determinação da atividade da enzima Mieloperoxidase (MPO).....	23
3.8.2. Determinação do conteúdo de Glutathione total (GSH)	23
3.8.3. Determinação de proteínas totais e da atividade da enzima Fosfatase Alcalina (FA)	24
4. Análises estatísticas	24
Resultados	25
1. Caracterização fitoquímica da farinha de <i>Musa</i> sp AAB	25
2. Atividade antioxidante do extrato etanólico da farinha de <i>Musa</i> sp AAB.....	26
3. Avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal	27
3.1. Avaliações Macroscópicas	27
3.2. Avaliações Bioquímicas	28
3.3. Avaliações Microscópicas	31

Discussão	35
Conclusão	43
Referências Bibliográficas	44
Anexo	52



CONCLUSÃO

Diante do objetivo e resultados apresentados, podemos concluir que:

- A dieta enriquecida com farinha de banana prata verde (*Musa* sp AAB) nas concentrações de 5 e 10% melhora o processo inflamatório intestinal devido sua capacidade de modular o estresse oxidativo relacionado ao processo inflamatório.
- A melhora do estresse oxidativo também pode estar relacionada a influência da farinha de banana prata verde na produção de muco cólico.
- A farinha de banana prata verde pode ser uma alternativa de tratamento complementar para pacientes acometidos pela DII, desde que novos estudos que caracterizem seus efeitos sejam realizados e confirmem o efeito protetor aqui observado.



REFERÊNCIAS

ADÃO, R. C.; GLÓRIA, M. B. A. Bioactive amines and carbohydrate changes during ripening of “Prata” banana (*Musa acuminata* x *M. balbisiana*). **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 705–711, 2005.

ALMEIDA-JUNIOR, L. D. et al. Dietary intervention with green dwarf banana flour (*Musa* sp . AAA) modulates oxidative stress and colonic SCFAs production in the TNBS model of intestinal inflammation. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 497–504, 2017.

ANANTHAKRISHNAN, A. N. Epidemiology and risk factors for IBD. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, n. 4, p. 205–217, 2015.

ANDERSON, M. E. Determination of Glutathione and Glutathione Disulphide in Biological Samples. **Annual review of biochemistry**, v. 113, n. 1983, p. 548–555, 1985.

AUORE, G.; PARFAIT, B.; FAHRASMANE, L. Bananas, raw materials for making processed food products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 20, n. 2, p. 78–91, 2009.

AZADFAR, M.; GAO, A. H.; CHEN, S. Structural characterization of lignin: A potential source of antioxidants guaiacol and 4-vinylguaiacol. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 75, p. 58–66, 2015.

BELL, C. J.; GALL, D. G.; WALLACE, J. L. Disruption of colonic electrolyte transport in experimental colitis. **The American Journal of Physiology**, v. 268, p. G622–G630, 1995.

BESSEY, O. A.; LOWRY, O. H.; BROOK, M. J. Rapid colorimetric method for the determination of alkaline phosphatase in five cubic milliliters of seru. **Journal of Biological Chemistry**, v.164, p-321-329, 1946.

BINDER, H. J. Role of colonic short-chain fatty acid transport in diarrhea. **Annual Review of Physiology**, v. 72, p. 297–313, 2010.

BIRBEN, E. et al. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **World Allergy Organization Journal**, v. 5, n. 1, p. 9–19, 2012.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 118, p. 1199-1200, 1958.

BOLTIN, D. et al. Mucin Function in Inflammatory Bowel Disease An Update. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 47, n. 2, p. 106–111, 2013.

BOUMA, G.; STROBER, W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. **Nature Reviews Immunology**, v.3, p.521-533, 2003.

BRAND-WILLIANS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, vol. 28, p.25-30, 1995.

BROWNLEE, I. A. et al. Action of reactive oxygen species on colonic mucus secretions. **Free radical Biology and Medicine**, v. 43, p. 800-808, 2007.

BROWNLEE, I. A. The physiological roles of dietary fibre. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 238-250, 2011.

BUISINE, M.-P. et al. Abnormalities in mucin gene expression in Crohn's disease. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 5, n. 1, p. 24-32, 1999.

CAMUESCO, D. et al. Preventative effects of lactulose in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. **Inflammatory bowel diseases**, v. 11, n. 3, p. 265-71, 2005.

CHANG, C.; LIN, H.; MEDICINE, C. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology Dysbiosis in gastrointestinal disorders. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 30, n. 1, p. 3-15, 2016.

CONTE, M. et al. Adherent-invasive Escherichia coli (AIEC) in pediatric Crohn's disease patients: phenotypic and genetic pathogenic features. **BMC Research Notes**, v. 7, n. 1, p. 748, 2014.

COSTA, C. A. R. A. et al. Anti-inflammatory effects of Brazilian ginseng (*Pfaffia paniculata*) on TNBS-induced intestinal inflammation: Experimental evidence. **International Immunopharmacology**, v. 28, n. 1, p. 459-469, 2015.

CUFFARI, C.; HUNT, S.; BAYLESS, T. Utilisation of erythrocyte 6-thioguanine metabolite levels to optimise azathioprine therapy in patients with inflammatory bowel disease. **Gut**, p. 642-646, 2001.

DAGLI, U. et al. The role of reactive oxygen metabolites in ulcerative colitis. **Inflammatory bowel diseases**, v. 3, n. 4, p. 260-4, 1997.

DE BOSSCHER, K.; HAEGEMAN, G. Minireview: Latest Perspectives on Antiinflammatory Actions of Glucocorticoids. **Molecular Endocrinology**, v. 23, n. 3, p. 281-291, 2009.

DELEVE, L. D.; KAPLOWITZ, N. Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 52, n. 3, p. 287-305, 1991.

DEMIGNE, C.; REMESY, C.; MORAND, C. Short Chain Fatty Acids. **Nutrition and Health**, p. 55-69, 1999.

DHANISHA, S. S. et al. Mucins: Structural diversity, biosynthesis, its role in pathogenesis and as possible therapeutic targets. **Critical reviews in Oncology/Hematology**, v. 122, p. 98-122, 2018.

DI STASI, L. C. et al. Intestinal anti-inflammatory activity of paepalantine, an isocoumarin isolated from the capitula of *Paepalanthus bromelioides*, in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. **Planta Medica**, v. 70, n. 4, p. 315-320, 2004.

DIZHBITE, T. et al. Characterization of the radical scavenging activity of lignins - Natural antioxidants. **Bioresource Technology**, v. 95, n. 3, p. 309–317, 2004.

FIOCCHI, C. Inflammatory Bowel Disease: Etiology and Pathogenesis. **Gastroenterology**, v. 115, p. 182–205, 1998.

FLINT, H. J. et al. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, n. 2, p. 121–131, 2008.

FRUET, A. C. et al. Dietary intervention with narrow-leaved cattail rhizome flour (*Typha angustifolia* L.) prevents intestinal inflammation in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 1, p. 1136, 2012.

GALVEZ, J. P.; CRUZ, A.; ZARZUELO, F.; SANCHES DE LA CUESTA. Flavonoid inhibition of enzymic and nonenzymic lipid peroxidation in rat liver differ from its influence on the glutathione-related enzymes. **Pharmacology**, v. 51, p.127-133, 1995.

GIBSON, G. R. et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota : updating the concept of prebiotics. **Nutrition Research Reviews**, n. 17, p. 259–275, 2004.

GONZÁLEZ, F. G.; DI STASI, L. C. Anti-ulcerogenic and analgesic activities of the leaves of *ilbrandia ebracteata* in mice. **Phytomedicine**, v. 9, p. 125-134, 2002.

GOYAL, N. et al. Animal models of inflammatory bowel disease: A review. **Inflammopharmacology**, v. 22, n. 4, p. 219–233, 2014.

GRISHAM, M. B., et al. Interaction between oxygen radicals and gastric mucin. **American Physiological Society**, p. G93-G96, 1987.

GRISHAM, M. Oxidants and free radicals in inflammatory bowel disease. **The Lancet**, v. 344, n. 8926, p. 859–861, 1994.

HAMER, H. M. et al. Review article: The role of butyrate on colonic function. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 104–119, 2008.

HAPPI EMAGA, T. et al. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 590–600, 2007.

HAPPI EMAGA, T. et al. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4346–4354, 2008.

HAPPI EMAGA, T. et al. Ripening influences banana and plantain peels composition and energy content. **Tropical Animal Health and Production**, v.43, p. 171–177, 2011.

HARRIS, M. L. et al. Fredd Radicals and other reactive oxygen metabolites in Inflammatory Bowel Disease: cause, consequence or epiphenomenon?. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 53, p. 375-408, 1992.

HEDEMAN, M. S.; THEIL, P. K.; BACH KNUDSEN, K. E. The thickness of the intestinal mucous layer in the colon of rats fed various sources of non-digestible carbohydrates is positively correlated with the pool of SCFA but negatively correlated with the proportion of butyric acid in digesta. **British Journal of Nutrition**, v. 102, n. 1, p. 117–125, 2009.

HESLOP-HARRISON, J. S.; SCHWARZACHER, T. Domestication, genomics and the future for banana. **Annals of Botany**, v. 100, n. 5, p. 1073–1084, 2007.

IMAM, M. Z.; AKTER, S. Musa paradisiaca l. and musa sapientum l. : A phytochemical and pharmacological review. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 1, n. 5, p. 14–20, 2011.

JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, M. C. et al. Effect of high hydrostatic pressure on the polyphenols and antioxidant activity of plantain pulp. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2016.

KOSTIC, A. D.; XAVIER, R. J.; GEVERS, D. The Microbiome in Inflammatory Bowel Diseases: Current Status and the Future Ahead. **Gastroenterology**, v. 146, n. 6, p. 1489–1499, 2014.

KRAWISZ, J. E.; SHARON, P.; STENSON, W. F. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. **Gastroenterology**, v. 87, n. 6, p. 1344–1350, 1984.

LEVINE, R. J. Monitoring for Adherence: Ethical Considerations. *American Journal of respiratory and critical care medicine*, v. 149, p. 287-288, 1994.

LIH-BRODY, L. et al. Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of Inflammatory Bowel Disease. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 41, n. 10, p. 2078-2086, 1996.

LINDEN, S. K.; FLORIN, T. H. J.; MCGUCKIN, M. A. Mucin Dynamics in Intestinal Bacterial Infection. **Plos One**, v. 3, n. 12, p. e3952, 2008.

LIU, X. et al. ScienceDirect Dietary fiber intake reduces risk of inflammatory bowel disease : result from a meta-analysis. **Nutrition Research**, v. 35, n. 9, p. 753–758, 2015.

LOUIS, P.; HOLD, G. L.; FLINT, H. J. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 10, p. 661–672, 2014.

MACFARLANE, G. T.; MACFARLANE, S. Fermentation in the Human Large Intestine. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 45, n. December, p. S120–S127, 2011.

MASELLA, R. et al. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: Involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 16, n. 10, p. 577–586, 2005.

MATOS F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. Ceará: Ed. Universidade do

Ceará, p. 37-65, 1998.

MIYOSHI, J.; CHANG, E. B. SC. The Gut Microbiota and Inflammatory Bowel Disease. **Translational Research**, 2016.

MORITA, T. et al. Dietary Resistant Starch Alters the Characteristics of Colonic Mucosa and Exerts a Protective Effect on Trinitrobenzene Sulfonic Acid-induced Colitis in Rats. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 68, n. 10, p. 2155-2164, 2004.

MORRIS, G. P. et al. Hapten-Induced Model of Chronic Inflammation and Ulceration in the Rat Colon. **Gastroenterology**, v. 96, n. 2, p. 795–803, 1989.

MORTENSEN, P. B.; CLAUSEN, M. R. Short-chain fatty acids in the human colon: Relation to gastrointestinal health and disease. **Scandinavian Journal of Gastroenterology, Supplement**, v. 31, n. 216, 1996.

MOURA, F. A. et al. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? **Redox Biology**, v. 6, p. 617–639, 2015.

NI, J. et al. Gut microbiota and IBD: Causation or correlation? **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 10, p. 573–584, 2017.

NISHIMURA, T. et al. Cellobiose Prevents the Development of Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Experimental Colitis. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 46, n. 2, p. 105–110, 2010.

OCETE, M. A. et al. Effects of morin on an experimental model of acute colitis in rats. **Pharmacology**, v. 57, n. 5, p. 261–270, 1998.

ORSI, P. R.; SEITO, L. N.; DI STASI, L. C. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A tropical medicinal plant with intestinal anti-inflammatory activity in TNBS model of intestinal inflammation in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, n. 1, p. 380–385, 2014.

OSHIMA, T.; MIWA, H.; JOH, T. Changes in the expression of claudins in active ulcerative colitis. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 23, p. S146–S150, 2008.

PASSO TSAMO, C. V. et al. Phenolic profiling in the pulp and peel of nine plantain cultivars (*Musa* sp.). **Food Chemistry**, v. 167, p. 197–204, 2015.

PEREIRA, A.; MARASCHIN, M. Banana (*Musa* spp) from peel to pulp: Ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, p. 149–163, 2015.

PRESENT, D. H. et al. Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's Disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 340, p. 1398-1405, 1999.

PRYDE, S. E. et al. The microbiology of butyrate formation in the human colon - 133.full.pdf. **FEMS Microbiology Letters**, v. 217, p. 133–139, 2002.

RABBANI, G. H. et al. Green banana reduces clinical severity of childhood shigellosis: A double-blind, randomized, controlled clinical trial. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 28, n. 5, p. 420–425, 2009.

REDDY, C. K.; VIDYA, P. V; HARIPRIYA, S. International Journal of Biological Macromolecules Effect of chemical modification on molecular structure and functional properties of *Musa* AAB starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p. 1039–1045, 2015.

RICHARDS, L. B. et al. The effects of short-chain fatty acids on the cardiovascular system. **PharmaNutrition**, v. 4, n. 2, p. 68–111, 2016.

RIEDER, F. et al. Animal models of intestinal fibrosis: new tools for the understanding of pathogenesis and therapy of human disease. **AJP: Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 303, n. 7, p. G786–G801, 2012.

ROBERFROID, M. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 1682–1687, 2000.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, n. 2, p. S105–S110, 2002.

ROBERFROID, M. et al. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **The British journal of nutrition**, v. 104 Suppl, n. November, p. S1–63, 2010.

SAIRENJI, T.; COLLINS, K. L.; EVANS, D. V. An Update on Inflammatory Bowel Disease. **Primary Care: Clinics in Office Practice**, v. 44, n. 4, p. 673–692, 2017.

SÁNCHEZ DE MEDINA, F. et al. Induction of alkaline phosphatase in the inflamed intestine: A novel pharmacological target for inflammatory bowel disease. **Biochemical Pharmacology**, v. 68, n. 12, p. 2317–2326, 2004.

SANDS, B. E. et al. Infliximab Maintenance Therapy for Fistulizing Crohn's Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 9, p. 876–885, 2004.

SCARMINIO, V. et al. Dietary intervention with green dwarf banana flour (*Musa* sp AAA) prevents intestinal inflammation in a trinitrobenzenesulfonic acid model of rat colitis. **Nutrition Research**, v. 32, n. 3, p. 202–209, 2012.

SHANAHAN, F. Probiotics in inflammatory bowel disease - Therapeutic rationale and role. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 6, p. 809–818, 2004.

SHEEHAN, D.; SHANAHAN, F. The Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology Clinics of NA**, 2016.

SIDO, B. et al. Impairment of intestinal glutathione synthesis in patients with Inflammatory Bowel Disease. **Gut**, v. 42, p. 485–492, 1998.

SIMMONDS, R. Inflammatory Bowel Disease – a radical view. **Gut**, v. 34, p. 865–868,

1993.

SINGH, B. et al. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits - A review. **Food Chemistry**, v. 206, p. 1–11, 2016.

SINGLETON, V. L.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzimology**, v.299, p. 152-178, 1999.

SIVAPRAKASAM, S.; PRASAD, P. D.; SINGH, N. Benefits of short-chain fatty acids and their receptors in inflammation and carcinogenesis. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 164, p. 144–151, 2016.

SMITH, P. K. et al. Measurement of Protein Using Bicinchoninic Acid. **Analytical Biochemistry**, v. 150, p. 76-85, 1985.

STUCCHI, A F. et al. NK-1 antagonist reduces colonic inflammation and oxidative stress in dextran sulfate-induced colitis in rats. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 279, n. 6, p. G1298–306, 2000.

SUN, S. L. et al. Structural features and antioxidant activities of degraded lignins from steam exploded bamboo stem. **Industrial Crops and Products**, v. 56, p. 128–136, 2014.

TAN, H.; O'TOOLE, P. W. Impact of diet on the human intestinal microbiota. **Current Opinion in Food Science**, v. 2, p. 71–77, 2015.

TRAVIS, S. P. L. et al. European evidence based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: current management. **Gut**, v. 55, n. suppl_1, p. i16–i35, 2005.

UCLÉS SANTOS, J. R.; BAKRY, F.; BRILLOUET, J. M. A preliminary chemotaxonomic study on the condensed tannins of green banana flesh in the *Musa* genus. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 38, p. 1010-1017, 2010.

UMA MAHADEVAN, M. D. Medical treatment in ulcerative colitis. **Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 1, p. 7–19, 2004.

VELJACA, M. et al. BPC-15 reduces trinitrobenzene sulfonic acid-induced colonic damage in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 272, p. 417–422, 1995.

VICTORIA, C. R.; SASSAK, L. Y.; NUNES, H. R. DE C. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of São Paulo State, Brazil. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 46, n. 1, p. 20–25, 2009.

VILELA, C. et al. Lipophilic phytochemicals from banana fruits of several *Musa* species. **Food Chemistry**, v. 162, p. 247–252, 2014.

WITAICENIS, A. et al. Dietary polydextrose prevents inflammatory bowel disease in trinitrobenzenesulfonic acid model of rat colitis. **Journal of medicinal food**, v. 13, n. 6,

p. 1391–6, 2010.

WITAICENIS, A. et al. Suppression of TNBS-induced colitis in rats by 4-methylesculetin, a natural coumarin: Comparison with prednisolone and sulphasalazine. **Chemico-Biological Interactions**, v. 195, n. 1, p. 76–85, 2012.

WITAICENIS, A.; SEITO, L. N.; STASI, L. C. DI. Chemico-Biological Interactions Intestinal anti-inflammatory activity of esculetin and 4-methylesculetin in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 186, n. 2, p. 211–218, 2010.

YAMAMOTO-FURUSHO, J. K. Innovative therapeutics for inflammatory bowel disease. **Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 13, p. 1893–1896, 2007.

ZHANG, P.; HAMAKER, B. R. Banana starch structure and digestibility. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1552-1558, 2012.