

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCS

Fabiana Andréa Moura

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LIPOICO E/OU N-ACETILCISTEÍNA
SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E DE INFLAMAÇÃO EM
RATOS COM COLITE ULCERATIVA LEVE INDUZIDA POR SULFATO DE SÓDIO
DEXTRANA**

Maceió

2016

FABIANA ANDRÉA MOURA

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LIPOICO E/OU N-ACETILCISTEÍNA
SOBRE BIOMARCADORES DE ESTRESSE OXIDATIVO E DE INFLAMAÇÃO EM
RATOS COM COLITE ULCERATIVA LEVE INDUZIDA POR SULFATO DE SÓDIO
DEXTRANA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção de título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr^a Marília Oliveira
Fonseca Goulart

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Luiza Antas Rabêlo

MACEIÓ

2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

M929e Moura, Fabiana Andréa.
Efeito da suplementação de ácido lipoico e/ou *N*-Acetilcisteína sobre biomarcadores de estresse oxidativo e de inflamação em ratos com colite ulcerativa leve induzida por sulfato de sódio dextrana / Fabiana Andréa Moura. – 2016.
199 f. : il.

Orientadora: Marília Oliveira Fonseca Goulart.

Coorientadora: Luiza Antas Rabelo

Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas
Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde. Maceió, 2016.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Atividade antioxidante – Ácido lipoico. 2. Atividade anti-inflamatória. 3. Doença inflamatória intestinal. I. Título.

CDU: 616.34:543.066



Folha de Aprovação

Fabiana Andréa Moura


Efeito da suplementação de ácido lipoico e/ou n-acetilcisteína sobre biomarcadores de estresse oxidativo e de inflamação em ratos com colite ulcerativa leve induzida por sulfato de sódio dextrana.

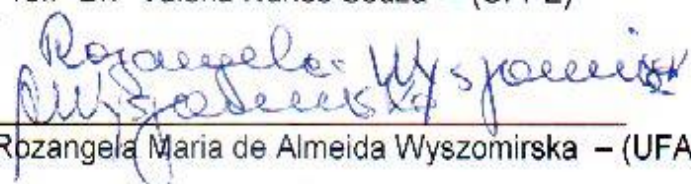
Tese submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 20 de maio de 2016.

Banca Examinadora


Prof. Dr. Hugo Juarez Vieira Pereira – (UFAL)


Prof.ª Dr.ª Salete Smariotto – (UFAL)


Prof.ª Dr.ª Valéria Nunes Souza – (UFPE)


Prof.ª Dr.ª Rozângela Maria de Almeida Wyszomirska – (UFAL)

A minha mãe e meus filhos, pelo real significado da palavra amor.

AGRADECIMENTOS

À minha avó Maria, por tão generosamente ter feito o improvável: acreditar quando todos desacreditavam. Tudo começou pela senhora.

À prof^a Marília, por me mostrar o que é ser orientadora, incentivadora e acima de tudo pelo exemplo de pesquisadora, mulher e mãe.

À prof^a Luiza, pela dignidade e competência em ser docente/pesquisadora, motivações estas que levarei a cada dia durante minha carreira.

À Valéria Nunes, pela paciência e principalmente pela inspiração em todas as áreas da pesquisa. Obrigada por se dedicar a estes resultados com tanto afinho. Obrigada pela humildade que me ensinou.

Ao meu grande amigo de bancada e de vida, Orlando, pela tolerância às minhas ansiedades, por me ouvir, por falar e principalmente pelo amor fraterno que nos uniu.

À Kivia, pela motivação e discussões frutíferas.

À Juliana que me ensinou o caminho das pedras e pela amizade que nos liga acima dos laços acadêmicos.

À Glaucevane, pelas conversas extra-oficiais sobre montagem de protocolos, erros a serem evitados, etc., mas principalmente por me estimular e me acolher nas alegrias e tristezas.

A todos que fazem parte do laboratório de eletroquímica e que me fizeram sorrir todos os dias de trabalho, em especial aos alunos de iniciação científica, Amylly Martins e Nicholas Deymisson.

Aos Professores Doutores Emiliano e Salete do Laboratório de Biologia Celular, pela disponibilidade e auxílio sempre que precisamos, em especial aos seus orientandos, Alex, Jamylle, Carol, Fagner e Poliana por toda ajuda na parte histológica e Multiplex. Todas as dicas que vocês tão generosamente me deram, contribuíram de forma ímpar para minha formação.

À Faculdade de Nutrição, por ceder não só o biotério, mas todos os espaços e condições físicas para a realização da parte experimental. À área de Nutrição Clínica que durante 2015 concordou em reduzir minha carga horária para que assim pudesse melhorar minha dedicação às disciplinas do doutorado, e que em 2016 concordou com meu afastamento, assumindo minha carga horária na sua totalidade, em virtude da não liberação de substituto pela Universidade.

À UFAL, CAPES, CNPq, FAPEAL e demais agências de financiamento que, apesar de toda dificuldade, mantêm vivo o estímulo ao aperfeiçoamento docente.

Ao corpo técnico desta Universidade, em nome da grande profissional de biotério, Elenita, por todo apoio logístico.

A todos da minha família que possibilitaram que esse sonho se concretizasse, me apoiaram em toda logística de ser professora, filha, mãe e estudante. Agradeço a todas vocês em nome das minhas comadres: Rose e Helo.

Meus sinceros agradecimentos àqueles que de forma direta ou indireta, contribuíram para esta realidade.

Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito nos aproxima.

Louis Pasteur

RESUMO

Ácido α -lipoico (ALA) e *N*-acetilcisteína (NAC) são dois potentes agentes antioxidantes e anti-inflamatórios, utilizados em diversas condições clínicas e patológicas, dentre elas, a colite ulcerativa (RCUI), uma doença inflamatória intestinal, que tem na alteração da resposta imune e no estresse oxidativo, possíveis agentes etiológicos. Nesse contexto, foi objetivo desse estudo avaliar os efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios da suplementação de ALA e/ou NAC no cólon e fígado de ratos com RCUI leve, induzida por sulfato de sódio dextrana (SSD). O período experimental foi dividido em: pré tratamento (7 dias) e tratamento (5 dias). Nessas fases, os animais dos grupos ALA, NAC e ALA+NAC receberam 100 mg.kg.d⁻¹ dos suplementos (isolados ou combinados), em única dose/dia, juntamente com ração comercial. Na fase de tratamento, com exceção do grupo controle, todos os animais receberam 2% de SSD (p/v), fornecido na água de beber. Além dos dados gerais (ganho de peso, ingestão e peso dos órgãos), foram avaliados marcadores sorológicos e hematológicos, além de histológicos, oxidativos e inflamatórios, no cólon e fígado desses animais. A análise estatística foi realizada através de testes paramétricos e não paramétricos equivalentes para comparação entre dois ou múltiplos grupos. A significância foi considerada quando $p < 0,05$. Não foram observadas diferenças significativas na ingestão e pesos absolutos e relativos do fígado e cólon. Contudo, a ingestão alimentar para todos os grupos mostrou-se significativamente reduzida na fase de tratamento quando comparada à fase de pré tratamento. Dentre os diversos marcadores sorológicos avaliados (perfil glicêmico, lipídico e marcadores de lesão e função hepática), observou-se um aumento nos níveis das transaminases hepáticas (alanina aminotransferase – ALT, e aspartato aminotransferase – AST) no grupo ALA+NAC. A análise hematológica identificou redução nos níveis ($p < 0,05$) de hemoglobina e hemácias no grupo Colite Leve, além de leucocitose ($p < 0,05$) nos grupos Colite Leve e ALA+NAC (ambos vs grupo Controle). O estresse oxidativo colônico (aumento do peróxido de hidrogênio – H₂O₂, nitrito e malondialdeído – MDA) ocorreu antes das alterações nas citocinas pró-inflamatórias (fator de necrose tumoral alfa – TNF- α - e Interferon gama – INF γ). Ainda no cólon, a NAC conseguiu restaurar completamente os níveis de H₂O₂ e MDA, bem como reduzir a atividade da mieloperoxidase. Por outro lado, a associação de ALA + NAC elevou significativamente os níveis de TNF- α e IL-10 neste tecido. Não foi identificada ação hepatotóxica no grupo colite leve. No entanto, a associação do ácido lipoico com *N*-acetilcisteína causou dano hepático observado pelo aumento da ALT e AST, do H₂O₂ e das citocinas TNF- α e INF γ . Assim, no modelo de colite leve induzida por SSD, o estresse oxidativo precedeu a elevação de TNF- α e INF γ e não houve injúria hepática nessa fase inicial da doença. Além disso, a NAC demonstrou uma melhor atividade antioxidante quando comparado ao ALA e a combinação de ALA+NAC apresentou ação pró-inflamatória no fígado e no cólon, e pró-oxidante no fígado.

Palavras chave: Antioxidante. Anti-inflamatório. Doenças Inflamatórias Intestinais.

ABSTRACT

Lipoic Acid (LA) and *N*-acetylcysteine (NAC) are two powerful antioxidant and anti-inflammatory agents, used in various clinical and pathological conditions, among them, ulcerative colitis, UC, an inflammatory bowel disease, which has, as possible etiologic agents, oxidative stress and alteration in the immune response. In this context, this study aims to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory effects of LA supplementation and/or *N*-acetylcysteine in the colon and liver of rats with mild UC induced by dextran sodium sulphate (DSS). The trial was divided into pre-treatment (7 days) and treatment (5 days). In these phases, the animals of LA groups, NAC and LA + NAC received supplements (100 mg.kg.d^{-1}) (alone or combined) as a single daily dose, with commercial feed. In the treatment phase, except the control group, all animals received DSS 2% (p/v), administered in drinking water. Beyond general data (weight gain, food intake and organ weight), serological and hematological markers were evaluated, in addition to histological, oxidative and inflammatory ones, in colon and liver samples of these animals. Statistical analysis was performed, using parametric and nonparametric equivalents for comparison between two or multiple groups. The significance was set at $p < 0.05$. There were no significant differences in intake and absolute and relative weights of the liver and colon. However, food intake for all groups was significantly reduced in the treatment phase when compared to pre-treatment phase. Among the several evaluated serologic markers (glucose and lipid profile, injury and liver function markers), there was an increase in levels of liver transaminases (alanine aminotransferase - ALT and aspartate aminotransferase - AST) in LA + NAC group. Hematological analysis identified reduction in levels ($p < 0.05$) of hemoglobin and red blood cells in Mild Colitis group, and leukocytosis ($p < 0.05$) in Mild Colitis and LA + NAC groups (both vs control group). Colonic oxidative stress (increased hydrogen peroxide - H_2O_2 , nitrite and malondialdehyde - MDA) occurred before the changes in pro-inflammatory cytokines (tumor necrosis factor alpha - $\text{TNF-}\alpha$ - and Interferon gamma - $\text{INF}\gamma$). Even in the colon, NAC could completely restore the levels of H_2O_2 and MDA and reduce the activity of myeloperoxidase. Moreover, the combination of LA + NAC significantly increased $\text{TNF-}\alpha$ and IL-10 in this tissue. A hepatotoxic action in liver tissue of mild colitis group was evidenced. It was not observed hepatic injury in Mild Colitis group. However, the combination LA + NAC caused liver damage observed by increase in ALT and AST, H_2O_2 and in $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{INF}\gamma$ cytokines. Thus, the light-induced colitis model SSD oxidative stress prior to the elevation of $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{INF}\gamma$ and there was no liver injury at the initial stage of the disease. In addition, NAC showed better antioxidant activity when compared to the combination of ALA and ALA + NAC showed proinflammatory action in the liver and colon, and liver prooxidant

Key words: Antioxidant. Anti-inflammatory. Inflammatory Bowel Diseases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Fatores de risco associados ao desenvolvimento, progressão, sintomas clássicos (amarelo) e complicações graves (vermelho) das doenças inflamatórias intestinais.	24
Figura 2- Medicamentos e hormônios usados/testados nas doenças inflamatórias intestinais: artigos publicados entre 2009 a 2016/01.....	25
Figura 3- Ação antioxidante do sistema enzimático (superóxido dismutase – SOD; catalase; glutathione peroxidase – GPx; e glutathione reductase – GR) e não enzimático (ciclo glutathione reduzida – GSH – glutathione oxidada – GSSG) sobre as espécies reativas de oxigênio	27
Figura 4- Metodologia e principais resultados nas bases de dados.	30
Figura 5- Estresse oxidativo e sua relação com os processos fisiopatológicos das doenças inflamatórias intestinais.....	36
Figura 6- Reação de formação do óxido nítrico a partir de óxido nítrico sintetase induzível	38
Figura 7- Estrutura química de alguns compostos que atuam inibindo (A) ou estimulando (B) a interação Keap1-Nrf2	44
Figura 8- Inter-relação entre o estresse oxidativo e a inflamação nas doenças inflamatórias intestinais: o papel das vias envolvendo o NF-κB, Nrf2-ARE e P53 na mucosa normal (A) e na doença inflamatória intestinal (DII) (B)	48
Figura 9- Estrutura química do F2-isoprostano, 4-hidroxi-nonenal (4-HNE) e malondialdeído (MDA), importantes biomarcadores da peroxidação lipídica	50
Figura 10- Principais biomarcadores de estresse oxidativo encontrados em doenças inflamatórias intestinais publicados entre 2009 a 2016/01	54
Figura 11- Substâncias sintéticas com ação antioxidante testada no tratamento das doenças inflamatórias: artigos publicados entre 2009 a 2016/01.....	61
Figura 12- Polifenóis com ação antioxidante testada no tratamento das doenças inflamatórias: artigos publicados entre 2009 a 2016/01.	74
Figura 13- Compostos naturais derivados de plantas com ação antioxidante testada no tratamento das doenças inflamatórias: artigos publicados entre 2009 a 2016/01	79
Figura 14- Nutrientes com ação antioxidante testada no tratamento das doenças inflamatórias: artigos publicados entre 2009 a 2016/01.	82

Figura 15- Dieta gelatinizada contendo ou não os suplementos	103
Figura 16- Representação esquemática do desenho experimental	104
Figura 17- Fragmentos do intestino utilizados para análise histológica (A) e do perfil oxidativo e inflamatória (B). A parte C foi excluída devido à elevada quantidade de fezes.....	107
Figura 18- Fragmentos do fígado utilizados para análise histológica (A) e das atividades redox e inflamatória (B)	107
Figura 19- Dados de ingestão e ganho de peso, segundo o grupo de tratamento..	118
Figura 20- Marcadores hematológicos, segundo o grupo de tratamento	121
Figura 21- Avaliação histopatológica colônica através da coloração com hematoxilina e eosina do cólon (aumento de 50x), segundo o grupo de tratamento	123
Figura 22- Avaliação histopatológica colônica através da coloração de tricrome de Masson (aumento de 100x) (A, B, C, D e E) e contagem de colágeno (pixel/campo) (F), segundo o grupo de tratamento	124
Figura 23- Marcadores oxidativos colônicos, segundo o grupo de tratamento	126
Figura 24- Marcadores da inflamação colônica, segundo o grupo de tratamento ...	127
Figura 25- Avaliação histopatológica hepática através da coloração com hematoxilina e eosina do cólon (aumento de 100x), segundo o grupo de tratamento	128
Figura 26- Avaliação histopatológica hepática através da coloração de tricrome de Masson (aumento de 20x) (A, B, C, D e E) e contagem de colágeno (pixel/campo) (F), segundo o grupo de tratamento	129
Figura 28- Marcadores oxidativos hepáticos, segundo o grupo de tratamento	131
Figura 29- Marcadores da inflamação hepática segundo o grupo de tratamento ...	132
Figura 30- Principais resultados histológicos, sorológicos, oxidativos e inflamatórios segundo o grupo de tratamento	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio	26
Tabela 2- Citocinas estimuladas pelo fator nuclear kappa B (NF-κB) e sua relação com a patogênese das doenças inflamatórias intestinais.	45
Tabela 3- Ação de fármacos/hormônios sobre marcadores de estresse oxidativo nas doenças inflamatórias intestinais: artigos publicados de 2009-2016/01.....	57
Tabela 4- Ação de compostos sintéticos, agentes químicos derivados de fontes não naturais sobre marcadores de estresse oxidativo, nas doenças inflamatórias intestinais: artigos publicados de 2009-2016/01.....	63
Tabela 5- Ação de alimentos, nutrientes, probióticos, prebióticos, simbiótico, polifenóis e outras substâncias naturais derivadas de plantas sobre marcadores de estresse oxidativo nas doenças inflamatórias intestinais: artigos publicados de 2009-2016/01.	70
Tabela 6- Ação de plantas medicinais sobre marcadores de estresse oxidativo nas doenças inflamatórias intestinais: artigos publicados de 2009-2016/01.....	89
Tabela 7- Composição nutricional da dieta Nuvilab®.....	105
Tabela 8- Pesos absoluto (g) e relativo do cólon e fígado, segundo o grupo de tratamento.	119
Tabela 9- Parâmetros bioquímicos plasmáticos segundo o grupo de tratamento ...	120

LISTA DE ABREVIATURAS

•NO	óxido nítrico
4-HNE	4-hidroxinonenal
μL	Microlitro
μm	Micrômetro
μM	Micromol
ABS	Absorvância
AcEGCG	(-)- <i>epi</i> -galocatequina-3-galato-acetilada
ALA	Ácido α-lipoico
ALA+NAC	Ácido α-lipoico + <i>N</i> -acetilcisteína
ALB	Albumina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
AGE	<i>Advanced glycation end products</i> – Produtos finais de glicação avançada
ARE	<i>Antioxidant response element</i> – Elemento de resposta antioxidante
Ang II	Angiotensina II
AOEV	Azeite de oliva extra virgem
AT1	Receptores tipo 1 de angiotensina II
BD	Bilirrubina direta
BHT	Butil hidroxitolueno
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
CE	(-)- <i>epi</i> -catequina
COL	Colesterol total
COX	Cicloxygenase
CCR	Câncer colorretal

DC	Doença de Crohn
DII	Doença Inflamatória Intestinal
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> – ácido desoxirribonucleico
ECG	(-)- <i>epi</i> -catequina galato
ECGE	(-)- <i>epi</i> -galocatequina-3-galato
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> – ácido etilenodiamino tetra acético
EGC	(-)- <i>epi</i> -galocatequina
EO	Estresse oxidativo
EPHX	Epóxido hidrolase
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERONs	Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
FA	Fosfatase alcalina
g	Força gravitacional
GLOB	Globulina
GSL	Glutamato-cisteína ligase
GSL2	Glutaminase 2
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
GPx	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HCl	Ácido Clorídrico
HDL-C	Lipoproteína de alta densidade
HE	Hematoxilina e eosina
HGB	Hemoglobina

HO1	Heme-oxigenase 1
HOCl	Ácido hipocloroso
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i> - Cromatografia líquida de alta performance
HTy-Ac	Acetato de hidroxitirosila
IAD	Índice de Atividade da Doença
IL	Interleucina
I κ -B α	Inibidor do fator de transcrição nuclear kappa B
IL-1R	Receptor de IL-1 β
INF γ	Interferon gama
iNOS	<i>Inducible nitric oxide synthase</i> - Óxido nítrico sintetase induzível
i.p.	Intraperitoneal
i.v.	Intravenoso
JA	Junções de adesão
JO	Junções de oclusão
Kcal	Quilocalorias
Keap1	<i>Kelch-like ECH-associated protein 1</i>
LC	Leite de camela
LDL-C	Lipoproteína de baixa densidade
LDL-oxi	LDL oxidada
LM	Leite de Camela
LOOH	Lipoperóxidos
LPO	Lipoxigenase
LPS	Lipopolissacarídeo
M	Molar
m	Massa
max	Concentrações máximas
MDA	Malondialdeído
MEL	Melatonina

Min	Minuto
mín	Concentrações mínimas
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
Maf	Fibrosarcoma músculo-aponeurótico
MPO	Mieloperoxidase
MRP	Proteína associada à resistência multidroga
NAC	<i>N</i> -acetilcisteína
NADP ⁺	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato oxidada
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato reduzida
NEM	N-etilmaleimida
NEMO	complexo IκB quinase
NF-κB	Fator nuclear kappa intensificador das células B ativadas
NOX	NADPH sintetase
NQO1	NAD(P)H:quinona oxidoreductase 1
nm	Nanômetro
nM	Nanomolar
Nrf2	Fator nuclear tipo 2 derivado do eritroide
O ₂ ⁻	ânion superóxido
O ₂	Oxigênio
ONOO ⁻	Peroxinitrito
ONOOH	Ácido peroxinitroso
Ox	Oxidação
p53	Proteína 53
p53M	Proteína 53 mutante
PCR	proteína C-reativa
PC-SOD	SOD lecitinizada
PDH	Complexo enzimático piruvato desidrogenase

PGE2	Prostaglandina E2
PL	Peroxidação lipídica
PLC	Propionil- <i>L</i> -carnitina
PPAR	Receptores ativados por proliferadores do peroxissoma
PT	Proteínas totais
RAGE	Receptores de AGE
RCUI	(Reto) Colite ulcerativa idiopática
RBC	Eritrócitos
rec-SOD	SOD recombinante
RNA	Ácido ribonucleico
SOD	Superóxido dismutase
SSD	Sulfato de sódio dextrana
STAT3	Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicerídeos
TGI	Trato gastrointestinal
TLM	Telmisartan
TMP	1,1,3,3-tetrametoxipropano
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TNFR1	Receptor tipo 1 do TNF- α
TLR4	Receptor toll-like 4
U	Unidade
UV	Ultravioleta
Vit	Vitamina
ZO	<i>Zonula occludens</i>

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	21
1. TERAPIA ANTIOXIDANTE PARA O TRATAMENTO DAS DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS: ELA FUNCIONA?	23
1.1 Introdução	23
1.2 Métodos.....	28
1.3 Resultados e discussão.....	30
1.3.1 Estresse oxidativo e doenças inflamatórias intestinais: uma forte conexão	31
1.3.2 Correlação entre estresse oxidativo e complicações clínicas na colite ulcerativa	35
1.3.3 Doença Inflamatória Intestinal ou doença intestinal inflamatória e oxidativa? Interação entre as vias do Nrf2, NF- κ B e p53.	40
1.3.4 – Biomarcadores do estresse oxidativo.....	47
1.3.5 –Terapia Antioxidante.....	53
a) Fármacos, hormônios, compostos sintéticos e substâncias derivadas de outras fontes diferentes das fontes vegetais	54
I. Antagonistas tipo 1 da angiotensina II	55
II. Inibidores da hidroximetilglutaril CoA redutase	56
III. Hormônios.....	59
IV. Substâncias sintéticas.....	60
b) Polifenóis e outros compostos ativos naturais derivados de plantas medicinais ..	66
I. Resveratrol.....	67
II. Curcumina.....	68
III. Quercetina.....	69
IV. Classe das catequinas.....	75
V. Outros polifenóis	76
VI. Compostos naturais derivados de plantas	77

c) Alimentos funcionais, nutrientes antioxidantes e probióticos	78
I. Leite de camela.....	78
II. Azeite de oliva extra virgem	80
III. Nutrientes antioxidantes.....	82
IV. Probióticos	84
d) Plantas medicinais	87
1.4 Conclusões e perspectivas futuras.....	94
2. MODULAÇÃO COLÔNICA E HEPÁTICA PELA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LIPOICO E/OU N-ACETILCISTEÍNA NA COLITE ULCERATIVA INDUZIDA POR SULFATO DE SÓDIO DEXTRANA EM RATOS	97
2.1 Introdução	97
2. Objetivos	101
2.3. Material e Métodos	102
2.3.1 Reagentes e soluções	102
2.3.2 Equipamentos	102
2.3.3 Animais, desenho experimental e aspectos éticos	102
2.3.4 Eutanásia, coleta de sangue, análise bioquímica e preparação dos homogenatos teciduais	105
2.3.5 Análise histológica.....	108
2.3.6 Determinação de proteínas teciduais	108
2.3.7 Determinação de malondialdeído por HPLC-UV	109
2.3.8 Determinação de peróxido de hidrogênio (H ₂ O ₂) por espectofotometria.....	110
2.3.9 Determinação de enzimas antioxidantes por espectofotometria	112
a) Superóxido Dismutase	112
b) Catalase	112
c) Glutathione Peroxidase total	112
2.3.10 Determinação dos níveis de nitrito por espectrofluorometria.....	113

2.3.11 Determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) por espectrofotometria	113
2.3.12 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) e glutathiona oxidada (GSSG) por espectrofotômetro	114
2.3.13 Determinação dos níveis do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon gama (INF γ) e interleucina 10 (IL-10)	115
2.3.14 Análise estatística	116
2.4. Resultados	117
2.4.1 – Dados gerais	117
a) Colite leve e suplementação não altera peso corporal, ingestão alimentar ou pesos do intestino ou fígado	117
b) Ácido lipoico associado à N-acetilcisteína eleva aminotransferases.....	118
c) ALA e NAC fornecidos isoladamente, mas não combinados, evitaram a redução nos níveis de hemoglobina, eritrócitos e leucócitos causadas pela colite leve	121
2.4.2 – Marcadores Colônicos	122
a) ALA ou NAC melhoraram o dano histológico causado pelo SSD no grupo Colite Leve	122
b) Dano oxidativo no cólon é o primeiro sinal bioquímico de dano intestinal observado na Colite Leve	125
c) Mudanças no perfil intestinal de citocinas não foram observadas na Colite Leve e a associação de ALA com NAC elevou inflamação.....	125
2.4.3 – Marcadores Hepáticos	127
a) Nenhum dos tratamentos estabelecidos causou injúria hepática histológica.....	127
b) A suplementação com ALA e/ou NAC apresenta modulações redox distintas ...	130
c) Associação do ALA com NAC causa inflamação hepática	130
2.5. Discussão.....	133
2.5.1 – Efeito do SSD e suplementação sobre o cólon	134
2.5.2 Efeito do SSD e suplementação sobre o fígado.....	140
2.6. Conclusões	144

REFERÊNCIAS.....	145
ANEXO 1: Parecer comitê de ética	193

INTRODUÇÃO

As doenças inflamatórias intestinais (DII), compostas pela doença de Crohn (DC) e colite (reto)ulcerativa (RCUI), caracterizam-se pela ativação imune crônica e recorrente no trato gastrointestinal. Dados epidemiológicos apontam o aumento da prevalência e incidência destas doenças especialmente nos países desenvolvidos e em desenvolvimento (DJ;DK, 2001). Apesar de todos os esforços da comunidade científica, a etiologia das DII continua desconhecida (PONDER;LONG, 2013). Dentre as hipóteses mais estudadas, destaca-se a do envolvimento do estresse oxidativo (EO), situação em que ocorre um desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERONs) e a defesa antioxidante em favor das primeiras (VASCONCELOS et al., 2007). Cabe ressaltar que tanto o aumento das ERONs quanto a redução das defesas antioxidantes endógenas e exógenas foram identificadas nos portadores da DC e RCUI (PRAVDA, 2005). Paralelamente à identificação de fatores genéticos e/ou ambientais envolvidos na gênese ou na ativação das crises da DII, destaca-se a busca por alternativas terapêuticas para minimizar/prevenir/tratar suas complicações clínicas, uma vez que o tratamento tradicional medicamentoso (sulfasalazina, corticoides, imunossuppressores e terapia biológica), muitas vezes, apresenta efeitos adversos ou não pode ser utilizado por todos os seus portadores (FOK et al., 2012). Neste contexto, o uso de antioxidantes, naturais ou sintéticos, torna-se uma rica área de pesquisa com possibilidades interessantes em terapia coadjuvante.

No contexto exposto, o primeiro capítulo desta tese relaciona-se ao nosso artigo de revisão: *Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work?* publicado no periódico *Redox Biology* 6 (2015) 617–639. Esse capítulo discute a ação de antioxidantes utilizados no controle da RCUI (experimental ou em humanos), subdividindo-os nas seguintes categorias: 1) Fármacos, hormônios, antioxidantes sintéticos e compostos derivados de outras fontes diferentes das vegetais; 2) Polifenóis; 3) Compostos ativos de plantas medicinais; 4) Alimentos funcionais, nutrientes e probióticos; e 5) Plantas medicinais. Foram incluídos artigos publicados entre 2009 a 2016/01, que tenham realizados experimentos *in vivo* (animais e humanos) e *in vitro*, sendo identificados diversos biomarcadores do EO,

que sofreram influência desses compostos (MOURA et al., 2015a). O objetivo dessa revisão foi identificar as substâncias que apresentam os melhores efeitos antioxidantes, bem como elencar os principais biomarcadores utilizados pela comunidade científica para identificar a presença do desequilíbrio redox, além de tecer comentários sobre os principais problemas encontrados na área, a ausência de estudos sistemáticos e clínicos e discutir perspectivas da terapia antioxidante.

No segundo capítulo, descreve-se o efeito do tratamento agudo, isolado e/ou combinado, do ácido lipoico (ALA) e da *N*-acetilcisteína (NAC) sobre o perfil oxidativo e inflamatório de ratos com RCUI leve induzida por sulfato de sódio dextrana (SSD). Assim como o ALA, a NAC é considerada um agente antioxidante e anti-inflamatório, com ações quelantes sobre alguns metais, além de ser um importante sequestrador de ERONs. Contudo, sua principal ação é aumentar a defesa antioxidante através do fornecimento de cisteína, aminoácido necessário para a síntese de GSH. Apesar do ALA e da NAC apresentarem efeitos positivos na RCUI, como redução de danos histológicos, oxidativos e inflamatórios, em nossa revisão não encontramos dados referentes ao seu uso isolado ou combinado na RCUI leve. Outro objetivo desse estudo foi avaliar não apenas o cólon, mas também o fígado desses animais, tendo-se em vista, a estreita relação existente entre os dois órgãos, conseqüente tanto da embriogênese, como da ação imunológica por eles desempenhada. Após randomização dos animais (6 por grupo) nos grupos de estudo: Controle, Colite Leve, ALA, NAC e ALA+NAC, deu-se início à fase de pré-tratamento, quando, por 7 dias, os animais dos grupos ALA, NAC e ALA+NAC receberam 100 mg.kg.d⁻¹ de cada suplemento, acrescidos à ração comercial 1x/dia (o grupo ALA+NAC recebeu 100 mg.kg.d⁻¹ de cada antioxidante), enquanto os animais dos grupos Controle e Colite Leve receberam ração comercial. Em seguida iniciou-se a fase de tratamento, quando, por 5 dias, os animais dos grupos suplementados e Colite Leve, receberam, SSD (2%, g/v) na água de beber. Os animais dos grupos ALA, NAC e ALA+NAC permaneceram recebendo a suplementação diária. No 13^o dia de intervenção, realizou-se a eutanásia dos animais. Análises histológicas, sorológicas, hematológicas, além de análise de biomarcadores de EO e inflamação foram realizadas.

1. TERAPIA ANTIOXIDANTE PARA O TRATAMENTO DAS DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS: ELA FUNCIONA?

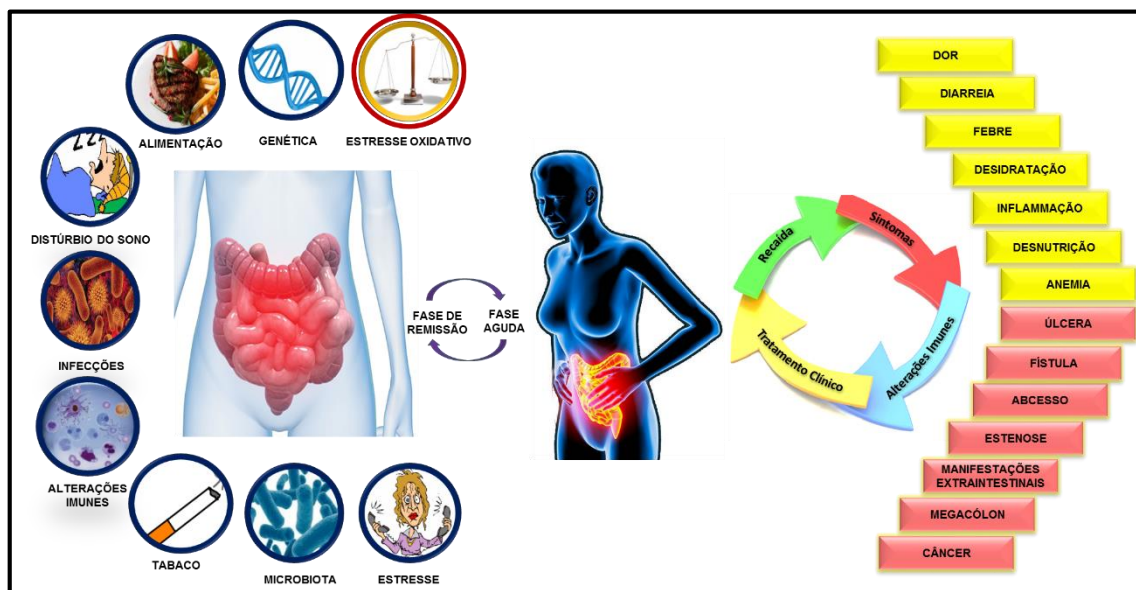
MOURA, F. A. et al. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? *Redox Biol*, v. 6, p. 617-639 doi: 10.1016/j.redox.2015.10.006

1.1 Introdução

As DII são comumente representadas pela Doença de Crohn (DC), que pode acometer qualquer parte do trato gastrointestinal (TGI), desde a boca até o ânus, e a RCUI, que acomete apenas o intestino grosso e mais frequentemente o reto. As DII se caracterizam por atividade inflamatória e imune crônicas no TGI (HALPIN;FORD, 2012). A etiologia da DC e da RCUI permanece desconhecida, contudo fatores ambientais, infecciosos, imunológicos e fisiológicos, juntamente com a suscetibilidade genética podem ser os principais responsáveis pela gênese das DII (MEDHI et al., 2008) (Figura 1).

Apesar da prevalência e incidência das DII estarem aumentando (150-200/100.000 habitantes), especialmente nos países em desenvolvimento, esta síndrome raramente é fatal. Contudo, estas síndromes reduzem significativamente a qualidade de vida dos seus portadores, em virtude dos seus sintomas mais comuns, tais como diarreia, dor abdominal, náuseas e vômitos, dentre outros. Além disso, o aumento do risco de câncer colorretal (CCR) (de 0,5 a 20% por ano) é uma das complicações mais sérias relacionadas às DII, particularmente para a RCUI (MAY;PAN;CRISPIN, 2010).

Figura 1- Fatores de risco associados ao desenvolvimento, progressão, sintomas clássicos (amarelo) e complicações graves (vermelho) das doenças inflamatórias intestinais.

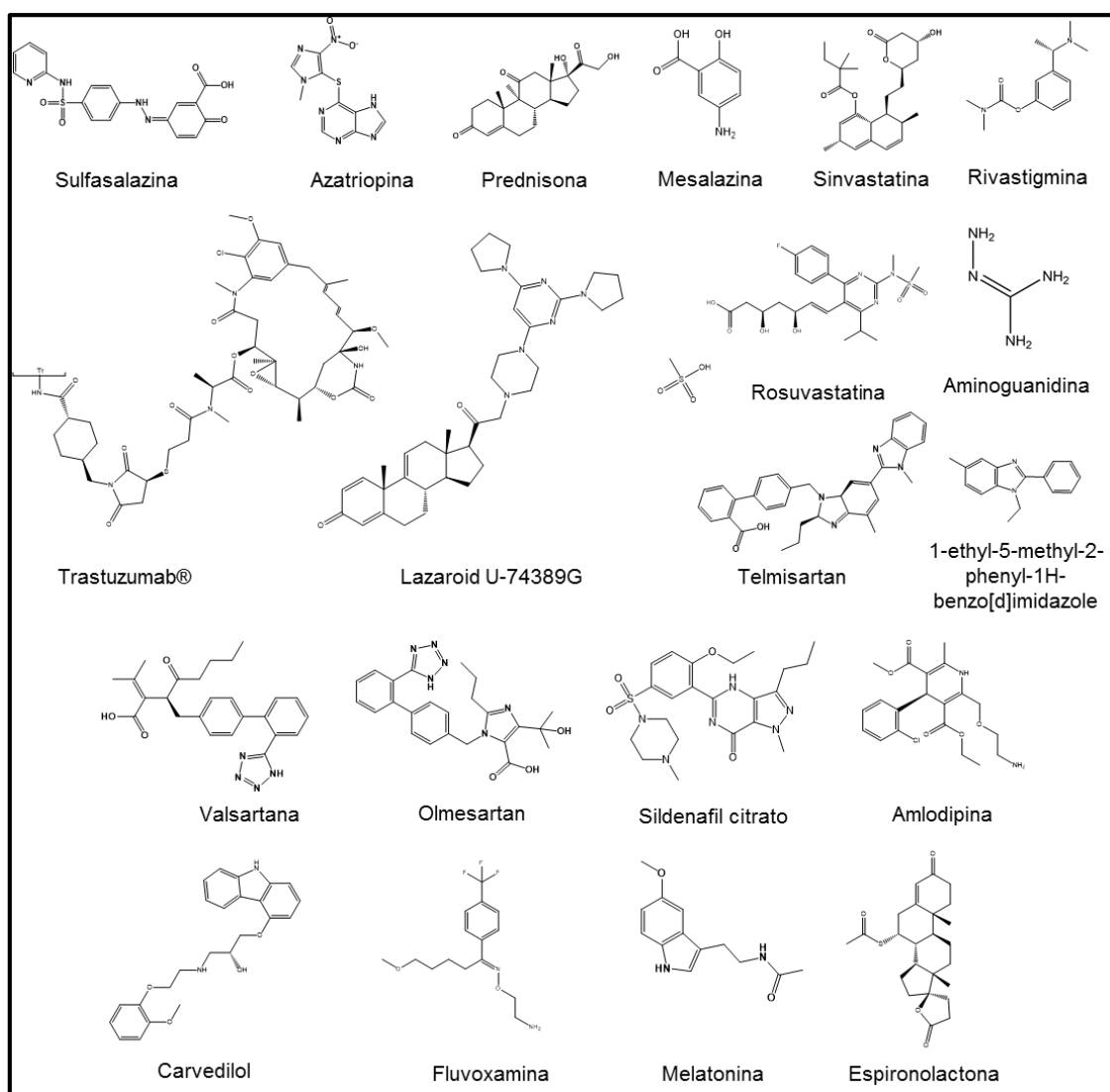


Fonte: Adaptado de MOURA et al. 2015a

A terapia convencional das DII envolve o uso de sulfasalazina, corticoides, agentes imunossupressores, como a azatiopina (Figura 2), além de terapia biológica, representada pelo anticorpo anti-TNF α (tumor de necrose tumoral alfa), usados para o controle da resposta imune aberrante e da inflamação (RUTGEERTS;VERMEIRE;VAN ASSCHE, 2009). Por outro lado, os efeitos adversos associados ao uso prolongado destes fármacos e a elevada taxa de recaídas, limita de forma importante seu uso durante as diversas fases da doença (sintomática e não sintomática) (BARNES;ADCOCK, 2009). Como exemplo, temos a exacerbação da colite causada pela sulfasalazina (que estimula diarreia, cólicas abdominais e desconforto gástrico) (TREMBLAY et al., 2011), a alteração na microbiota intestinal decorrente do uso de antibióticos e efeitos secundários indesejáveis derivados do uso de corticoides e imunossupressores (SARTOR, 2004). O uso combinado de terapias, como corticoides + anti-TNF α (infliximab[®], trastuzumab[®]) (Figura 2) parece não fornecer nenhum benefício adicional em relação ao uso da terapia biológica isolada (MCDONALD et al., 2014). Além disso, estes fármacos exibem ações benéficas limitadas. A longo prazo, entre 25% a 33% dos pacientes com RCUI

necessitarão de alguma intervenção cirúrgica caso a terapia medicamentosa não apresente sucesso, ou em casos de complicações clínicas como úlceras, fístulas, estenoses ou abscessos, sendo estes últimos muito comuns na DC (ZHU;LI, 2012). Estes fármacos, quando usados por um longo período de tempo, podem induzir efeitos colaterais graves, e, juntamente com o elevado custo da terapia medicamentosa/cirúrgica, estimulam as investigações para terapias alternativas não farmacológicas (FOK et al., 2012).

Figura 2- Medicamentos e hormônios usados/testados nas doenças inflamatórias intestinais: artigos publicados entre 2009 a 2016/01.



Fonte: Adaptado de MOURA et al. 2015a

Nos últimos anos, diversos estudos têm focado nas espécies reativas de oxigênio (EROs) e de nitrogênio (ERNs) (Tabela 1) como fatores relacionados a etiologias das DII (TÜZÜN et al., 2002; REZAEI; PARKER; ABDOLLAHI, 2007; ROESSNER et al., 2008; FANG et al., 2013). O TGI é o maior sítio de geração de pró-oxidantes, cuja produção é primariamente decorrente da presença de micróbios, alimentos não digeridos e interação entre as células imunes (PAWAR et al., 2011). Além disso, a capacidade antioxidante dos pacientes com DII está reduzida em ambas as fases da doença, ou seja, fase aguda (sintomática) e fase de remissão (assintomática) (ACHITEI et al., 2013). Para controlar a formação das ERONs, as células intestinais têm diversos sistemas antioxidantes, enzimáticos como a superóxido dismutase (SOD), catalase e glutiona peroxidase (GPx), e não enzimático, a exemplo da glutiona reduzida (GSH) (Figura 3). Contudo, a excessiva geração de ERONs e o aumento da peroxidação lipídica (PL) podem diminuir de forma impactante, esses sistemas de defesa (CADIRCI et al., 2007).

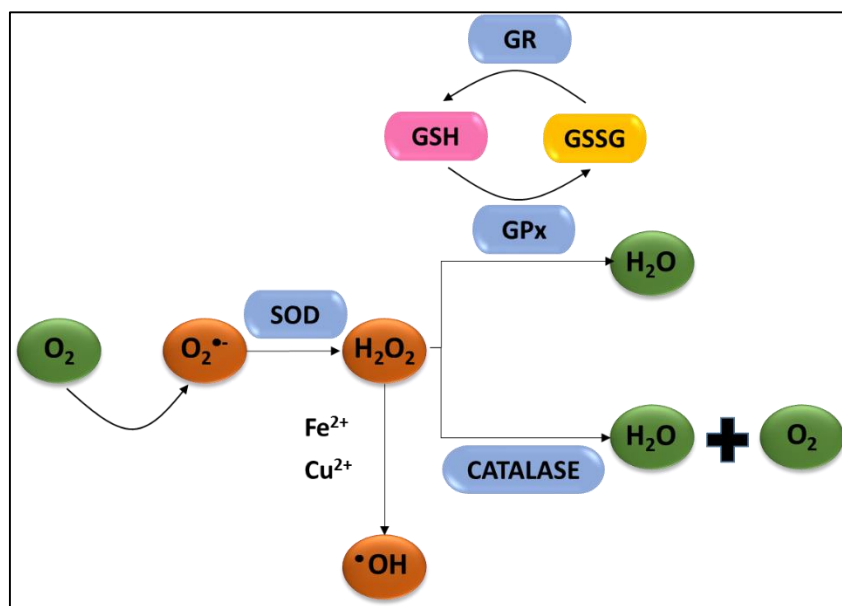
Tabela 1: Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio

Espécies reativas de oxigênio (EROs)		Espécies reativas de nitrogênio (ERNs)	
Nomenclatura	Estrutura	Nomenclatura	Estrutura
Oxigênio singlete	$^1\text{O}_2$	Óxido nítrico	$\cdot\text{NO}$
Ânion radical superóxido	$\text{O}_2^{\cdot-}$	Dióxido de nitrogênio	$\cdot\text{NO}_2$
Radical hidroxila	$\cdot\text{OH}$	Cloreto de nitrila	NO_2Cl
Radical peroxila	RO_2^{\cdot}	Peroxinitrito	$\text{ONOO}^{\cdot-}$
Radical hidroperoxila	HO_2^{\cdot}	Ácido peroxinitroso	HOONO
Radical alcóxila	RO^{\cdot}	Óxido nitroso	HNO_2
Peróxido de hidrogênio	H_2O_2	Peroxinitrilo de alquila	ONOOR
Ácido hipocloroso	HOCl		

Assim como para a DC, vários estudos indicam uma forte relação do EO com a RCUI. Estudos em portadores da RCUI confirmaram a deficiência de

nutrientes antioxidantes no momento do diagnóstico (MARX;SEIDMAN, 1999; SEIDNER;LASHNER, 2005; RAZACK;SEIDNER, 2007) e isto sugere uma elevação no EO.

Figura 3- Ação antioxidante do sistema enzimático (superóxido dismutase – SOD; catalase; glutaciona peroxidase – GPx; e glutaciona redutase – GR) e não enzimático (ciclo glutaciona reduzida – GSH – glutaciona oxidada – GSSG) sobre as espécies reativas de oxigênio



Fonte: Autora

Legenda: Cu^{2+} = íon cúprico; Fe^{2+} = íon ferroso; GPx = glutaciona peroxidase; GR = glutaciona redutase; GSH = glutaciona reduzida; GSSG = glutaciona oxidada; H_2O_2 = peróxido de hidrogênio; H_2O = água; $O_2^{\bullet-}$ = ânion radical superóxido; O_2 = oxigênio; $\bullet OH$ = radical hidroxila; SOD = superóxido dismutase.

Nesse contexto, diversos estudos têm sugerido que a administração de antioxidantes, de diferentes tipos, que têm também ação anti-inflamatória, pode ser benéfica no tratamento das DII, uma vez que a inflamação pode ser tanto causada pelo EO, como gerar esse desequilíbrio oxidativo, levando ao aumento do dano tecidual (LANGMEAD;RAMPTON, 2006; RAHIMI;SHAMS-ARDEKANI;ABDOLLAHI, 2010; NG et al., 2013).

Em 2009, Rahimi, Mozaffari e Abdollahi publicaram uma revisão sistemática sobre o uso de fitoterápicos no tratamento das DII

(RAHIMI;MOZAFFARI;ABDOLLAHI, 2009). Esses autores caracterizaram a terapia herbal utilizada na DC e RCUI e sugeriram seus possíveis mecanismos de ação. Após isso, diversas outras revisões sobre esse tópico foram publicadas (RAHIMI;SHAMS-ARDEKANI;ABDOLLAHI, 2010; BIASI et al., 2011; HUR et al., 2012; NG et al., 2013; RANA et al., 2013; ALDINI et al., 2014; GILARDI et al., 2014; SAXENA et al., 2014; LANGHORST et al., 2015), contudo, diante do nosso conhecimento, nenhuma destas revisões discutiu outras estratégias químicas em relação à aplicação de antioxidantes naturais ou sintéticos, fármacos, alimentos e outras substâncias no tratamento das DII, sendo a presente revisão, a primeira com este nível de abordagem do assunto.

1.2 Métodos

Foi feita uma revisão sistemática com artigos publicados entre 2009 (para atualizar os resultados encontrados por Rahimi, Mozaffari e Abdollahi) a 2016 (janeiro), usando como palavras chave: *inflammatory bowel disease* ou *ulcerative colitis* ou *Crohn disease* associada a *antioxidant* ou *oxidative stress*. Utilizou-se as seguintes bases de dados: *Pubmed*, *Sciencedirect* e *Scopus*. Foram incluídas as diversas vias de administração das substâncias *in vivo* (enema, oral, intraperitoneal – i.p. – e intravenoso – i.v.), bem como estudos realizados *in vitro*. A fim de minimizar perdas, a busca foi realizada por dois pesquisadores de forma independente.

Inicialmente, os títulos dos artigos foram lidos sendo excluídos aqueles em duplicata. Posteriormente, identificamos se no trabalho encontrado eram avaliados marcadores relacionados direta ou indiretamente com o EO (defesa antioxidante enzimática ou não enzimática, enzimas envolvidas na síntese de ERONs, mediadores nucleares associados com defesa ou dano oxidativo, etc.), divididos de acordo com o descrito abaixo, de acordo com a ação atribuída ao agente testado:

- 1) Sequestradores de ERONs \Rightarrow substâncias ou misturas de substâncias que reduzem os níveis de óxido nítrico ($\cdot\text{NO}$), ânion superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) dentre outros;
- 2) Inibidores da síntese de ERONs \Rightarrow substâncias capazes de diminuir a atividade, expressão proteica e/ou expressão gênica de enzimas como óxido nítrico induzível sintetase (iNOS), nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfatase (NADPH) sintetase (NOX), lipoxigenase (LPO), mieloperoxidase (MPO), cicloxigenase tipo 2 (COX2) ou de mediadores celulares como o fator nuclear kappa intensificador das células B ativadas (NF- κ B) ou o Inibidor do fator de transcrição nuclear kappa B, alfa ($\text{I}\kappa\text{-B}\alpha$).
- 3) Inibidores dos efeitos adversos causados pelas ERONs \Rightarrow substâncias capazes de reduzir os níveis dos biomarcadores da PL (substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico – TBARS – malondialdeído (MDA) – 4-hidroxinonenal (4-HNE), dentre outros), dano proteico (proteínas carboniladas, produtos finais de glicação avançada (AGE), dentre outros), e dano ao ácido desoxirribonucleico (DNA) (8-oxo-2'-desoxiguanosina, 8-oxoguanina dentre outros).
- 4) Ativadores da defesa antioxidante \Rightarrow substâncias que estimulam a defesa antioxidante enzimática, não enzimática ou a capacidade total antioxidante.

A partir dessa categorização as substâncias usadas foram divididas nos seguintes tópicos:

- a) Fármacos, hormônios, compostos sintéticos e químicos derivados de outras fontes, diferentes de vegetais;
- b) Polifenóis e outros compostos ativos naturais de origem vegetal;
- c) Alimentos funcionais, nutrientes antioxidantes e probióticos/prebióticos/simbióticos;
- d) Plantas Medicinais.

O objetivo dessa revisão foi identificar as substâncias que apresentam os melhores efeitos antioxidantes, bem como elencar os principais biomarcadores

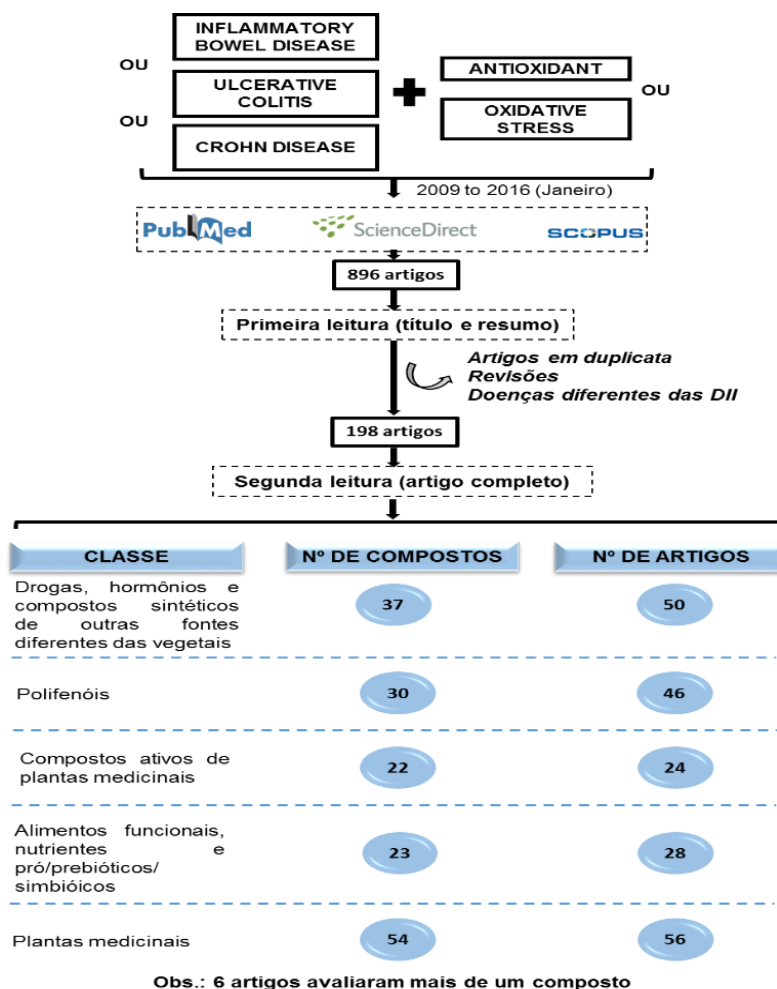
utilizados pela comunidade científica para identificar a presença do desequilíbrio redox.

1.3 Resultados e discussão

Cento e noventa e oito estudos foram encontrados em nossa busca, sendo os resultados exibidos nas Tabelas 1 a 6. Foram encontrados 198 artigos com avaliação de 166 substâncias diferentes.

Um resumo do método e dos resultados (número total e subcategorização) é mostrado na Figura 4.

Figura 4- Metodologia e principais resultados nas bases de dados.



Fonte: Adaptado de MOURA et al. 2015a

1.3.1 Estresse oxidativo e doenças inflamatórias intestinais: uma forte conexão

Define-se EO como o desequilíbrio entre agentes pró-oxidantes (ERONs) (Tabela 1) e a defesa antioxidante, levando a uma ruptura na sinalização e controle redox e/ou ao dano molecular (SIES, 2015). As EROs geralmente englobam as espécies iniciais geradas pela redução do oxigênio bem como seus produtos reativos secundários e assim como as ERNs, incluem espécies radicalares e não radicalares (Tabela 1) (VASCONCELOS et al., 2007).

O TGI é considerado um local-chave para a produção de ERONs. Apesar da barreira protetora desenvolvida pela camada epitelial, materiais ingeridos e agentes patogênicos podem causar inflamação por meio da ativação epitelial, por neutrófilos polimorfonucleares e produção de citocinas e outros mediadores que contribuem ainda mais com o EO (BHATTACHARYYA et al., 2014).

A disfunção na barreira intestinal, acompanhada do aumento da permeabilidade intestinal, está intimamente envolvida na fisiopatologia das DII. Acredita-se que a habilidade das bactérias comensais em se aderirem à camada epitelial via oligossacarídeos ajuda a impedir o deslocamento de bactérias patogênicas (WALLACE et al., 2014). Além disso, o aumento da permeabilidade das células epiteliais gastrointestinais é, frequentemente, resultante da destruição das junções intercelulares e da liberação de diferentes mediadores pró-inflamatórios, incluindo as ERONs, os quais contribuem ativamente para a cascata patogênica que, além de iniciar, é capaz de perpetuar a resposta inflamatória intestinal (LEWIS et al., 2008).

O local mais importante para a geração de ERONs nas DII são os macrófagos e neutrófilos ativados. Durante os episódios de inflamação, essas células exibem infiltração massiva na mucosa intestinal e liberam grandes quantidades dessas espécies (BHARDWAJ, 2010). O aumento na produção das ERONs está associado com a inflamação intestinal crônica nos estágios iniciais das DII. Seus efeitos deletérios sobre o DNA, proteínas e lipídeos, contribuem para a iniciação e progressão da DC (ALZOGHAIBI, 2013), assim como na RCUI (PRAVDA, 2005), resultando em intensa inflamação, aumento de citocinas como

o $\text{TNF}\alpha$ e as interleucinas 6 (IL-6) e IL-1 β . Tais compostos biológicos desencadeiam as respostas e sintomas característicos das DII (TAHAN et al., 2011a). O aumento do EO associado com o dano periférico ao DNA pode ser um dos mecanismos fisiopatológicos para o desenvolvimento do câncer colônico, associado à RCUI, juntamente com a carbonilação da actina, pelo HOCl, e nitração da actina e tubulina por meio do $\cdot\text{NO}$ e ONOO^- , que alteram a citoarquitetura e causam injúria tecidual (BANAN et al., 2000; BANAN et al., 2001; RAO, 2008).

Outro fator intimamente envolvido na etiologia da RCUI é a enzima GPx2, uma isoforma da GPx específica do TGI. De acordo com uma recente revisão, diferentemente de outras enzimas como a Manganês-SOD (MnSOD) e a catalase, as quais têm mostrado uma modesta alteração dos seus níveis no tecido intestinal inflamado, a GPx2 tem sua expressão aumentada durante a RCUI (MANGERICH et al., 2013). Uma investigação *in vitro* em tecidos de pacientes com câncer colorretal ou RCUI, identificou que a GPx2 está estrategicamente localizada no retículo endoplasmático onde pode interferir com a atividade da enzima COX-2 por remoção de hidroperóxidos do local e isso regula o nível de prostaglandina E2 (PGE2), considerada um mediador fundamental das respostas inflamatórias agudas (BANNING et al., 2008). A relevância dos níveis de hidroperóxidos para a resposta inflamatória no TGI é de fato evidente a partir do desenvolvimento espontâneo de ileocolite até câncer intestinal observado em ratos GPx1/2 *knockout*. Nesses casos, o sinergismo entre ambas as enzimas é sugerido, mas o papel da GPx2 parece ser mais importante, uma vez que a diferença de apenas um alelo entre as isoformas parece ser suficiente para prevenir a inflamação nesses animais (ESWORTHY et al., 2005). Portanto, a ativação da GPx2 pode prevenir respostas indevidas a estímulos inflamatórios e consequentemente evitar a iniciação/progressão da inflamação até a carcinogênese.

O desequilíbrio entre as citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias nas DII foi evidenciado em vários estudos. Sabe-se que o processo inflamatório coordenado é necessário para normalizar a resposta imune, no entanto quando crônico e excessivo, resulta em doenças auto-imunes que são induzidas por aumento em vários mediadores inflamatórios, como $\text{TNF-}\alpha$ (SANDS;KAPLAN,

2007), IL-17A, $\text{INF}\gamma$ e IL-6 (SMITH et al., 2015). Algumas dessas citocinas ($\text{TNF-}\alpha$ e IL-6) estão diretamente relacionadas ao fator nuclear potencializador de células B ativadas (NF- κ B), um potente fator de transcrição, importante para a ativação de mediadores pró-inflamatórios e pró-oxidantes envolvidos na resposta imune, tais como a COX-2 e a iNOS, enzimas envolvidas na síntese de $\text{O}_2^{\cdot-}$ e $\cdot\text{NO}$, respectivamente (GUSLANDI, 1998), e, conseqüentemente, na carcinogênese colônica (NAGENDRAPRABHU;SUDHANDIRAN, 2011). Além do EO, a via do NF- κ B pode ser ativada por citocinas como $\text{TNF-}\alpha$ e IL-1 β , bactérias e produtos de vírus, todos intimamente associados com a DII. NF- κ B também protege as células da apoptose, da necrose e do EO (por aumento da MnSOD), a fim de proteger o organismo contra infecção e lesão (PASPARAKIS, 2009). No entanto, a regulação positiva da via do NF- κ B promove a proliferação das células cancerosas e o resgate destas células originárias da morte celular e, por isso, a terapia biológica com agentes anti-NF- κ B tem sido alvo de vários estudos (HASSANZADEH, 2011).

A relação entre colite e câncer também está associada à ativação de caminhos de sinalização comuns relacionados ao tumor, incluindo mutações no gene da proteína 53 (p53), as alterações genéticas somáticas mais frequentemente relatadas no câncer humano, que levam ao acúmulo de produtos do gene p53 mutante em células tumorais que podem iniciar uma resposta imune com geração de anticorpos anti-p53 circulantes (p53Abs) (SOUSSI, 2000). Diversos estudos têm demonstrado que a super-expressão do gene p53 é encontrada em portadores das DII e este fato está intimamente associado com neoplasia, especialmente naqueles com displasia de mucosa. A ativação do p53 está intrinsecamente associada com o EO, através do estresse celular induzido pelo $\cdot\text{NO}$ e inflamação crônica, bem como níveis elevados da iNOS e aumento na mutação da TP53 (HUSSAIN et al., 2000). Staib et al. (2005) identificaram 14 genes cujas transcrições são comuns ao $\cdot\text{NO}$, ao H_2O_2 , a moléculas que atuam impedindo a replicação do DNA e a hipóxia, sendo que 8 deles são conhecidos como genes-alvo do p53 (STAIB et al., 2005).

A fim de regular os efeitos deletérios das ERONs, tecidos vitais são equipados com um intrincado sistema de defesa antioxidante. Esses sistemas de

controle consistem em enzimas já descritas (THANAN et al., 2015), e substâncias não enzimáticas como α -tocoferol, β -caroteno, vitamina C (Vit C), GSH, bilirrubina, ácido úrico, zinco, selênio e cobre (IOANNIDIS et al., 2011). Quando esses sistemas falham, ocorre o desequilíbrio oxidativo – ou EO (REZAIE;PARKER;ABDOLLAHI, 2007). O aumento das EROs na mucosa colônica de portadores das DII tem sido correlacionado não apenas com a severidade e progressão da doença, mas também com manifestações extra intestinais da RCUI, como as desordens hepatobiliares (JENA;TRIVEDI;SANDALA, 2012).

A inibição dos mediadores inflamatórios e da produção das EROs pode proporcionar uma importante proteção e tratamento terapêutico para as DII (WANG et al., 2008; TAHAN et al., 2011a; TRIVEDI;JENA, 2013b). Dessa forma, identificar novos antioxidantes-anti-inflamatórios, para o tratamento das DII vem recebendo grande atenção em todo o mundo e será discutido logo abaixo.

Como exemplo, alguns autores não observaram qualquer diferença (AKMAN;AKARSU;AKPINAR, 2012), redução (REIMUND et al., 2000) ou aumento (TÜZÜN et al., 2002) dos níveis plasmáticos/eritrocitários, de enzimas antioxidantes em pacientes com inflamação intestinal ativa. No estudo de Achitei et al (2013), os autores encontraram modificações séricas significativas nos níveis de marcadores do EO de pacientes com DII, tais como diminuição nas atividades da SOD e GPx, redução no perfil antioxidante e aumento da PL, mesmo durante a fase de remissão (ACHITEI et al., 2013). Em biópsias teciduais de portadores de DC e RCUI, foi encontrada elevação nos níveis de MDA (BOUZID et al., 2014), confirmando o dano nas membranas celulares, além de redução da GPx e GSH na mucosa inflamada de portadores da DC (PINTO et al., 2013). Uma possível explicação, fornecida por esses autores, para justificar a menor atividade para GPx e SOD na fase de remissão é o consumo de antioxidantes presentes na dieta ou através de suplementos durante a fase aguda. Outra hipótese é que portadores das DII, mesmo na fase de remissão, apresentam uma menor defesa antioxidante, isto é, eles apresentam um desequilíbrio redox pré-existente (OZ;ZHONG;DE VILLIERS, 2012).

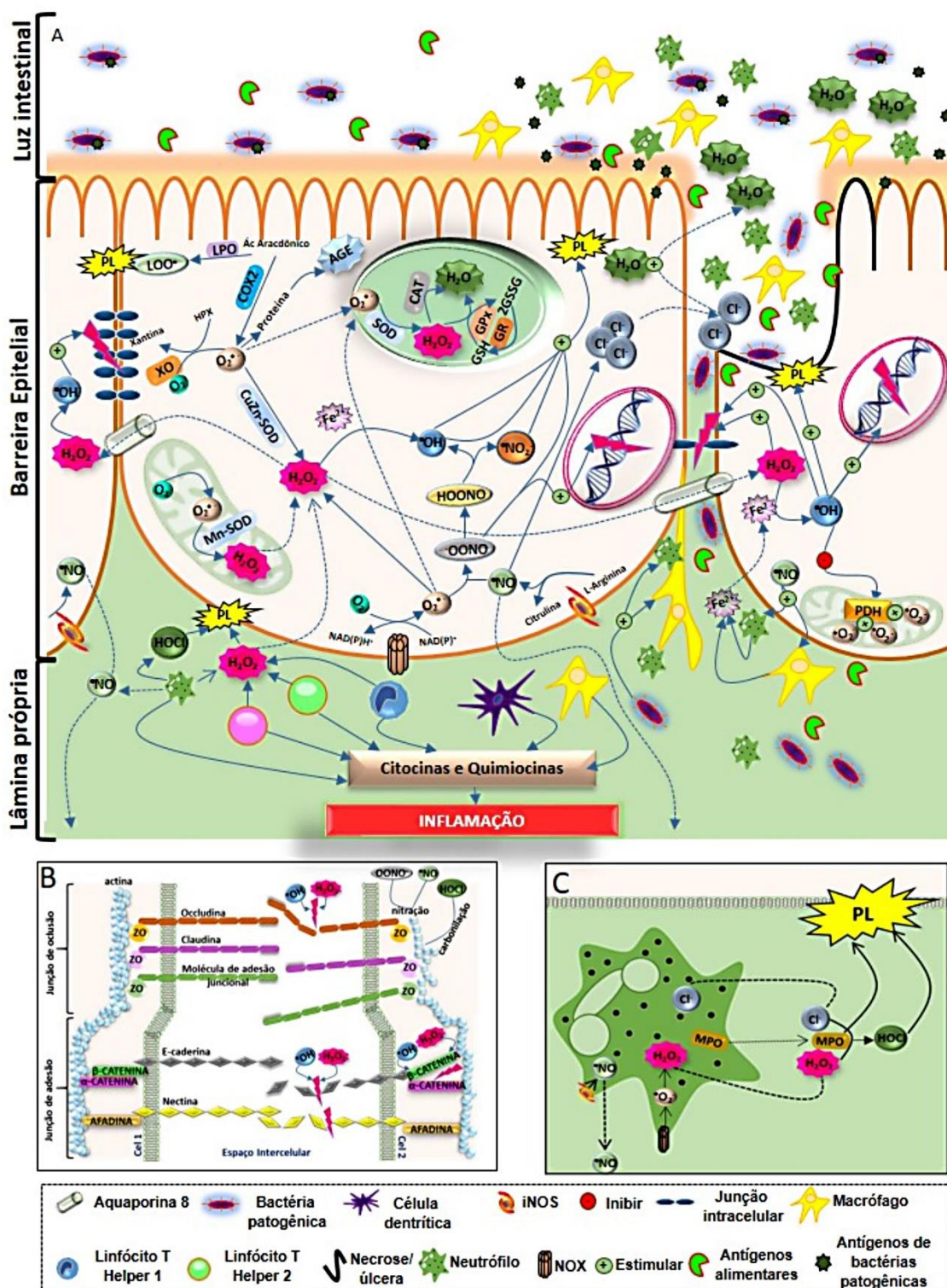
Um resumo das alterações oxidativas (Figura 4) e a relação entre EO e inflamação nas DII (Figura 7) são discutidas nos tópicos 3.2 e 3.3.

Apesar das dificuldades em comparar a capacidade antioxidante, devido aos diferentes métodos utilizados nas análises, ao uso do agente antioxidante de forma isolada *versus* em combinação com outros compostos, os produtos naturais ou sintéticos, puros ou em associação, alimentos funcionais ou compostos isolados, dentre outros que tiveram sua capacidade antioxidante testada através de biomarcadores de EO, foram listados na Tabelas de 3 a 6. Várias controvérsias e resultados contraditórios estão descritos nesta tabela e apontam para a necessidade de investigações experimentais adicionais.

1.3.2 Correlação entre estresse oxidativo e complicações clínicas na colite ulcerativa

As EROs são produzidas através de diversas vias metabólicas: (1) na mitocôndria, durante o processo respiratório, a cadeia transportadora de elétrons normalmente transforma de 2-3% do oxigênio (O_2) em $O_2^{\bullet-}$ (complexo I e III). Então, essa molécula reativa sofre dismutação pela Mn-SOD e gera (2) H_2O_2 . No citosol, o $O_2^{\bullet-}$ pode ser gerado pela (3) xantina oxidase (XO), (4) COX2 e (5) NOX e gera (6) os AGE que estão envolvidos com o processo inflamatório, ou podem formar (7) H_2O_2 através da ação da enzima Cobre-Zinco-SOD (CuZn-SOD). O H_2O_2 também pode ser produzido por (8) células imunes: monócitos, linfócitos e neutrófilos (principalmente), provenientes da infiltração dos leucócitos, característica das DII. Além disso, o H_2O_2 , diferentemente do $O_2^{\bullet-}$, tem vida média longa e elevada permeabilidade, facilitada pelo canal de água (9) aquaporina-8.

Figura 5- Estresse oxidativo e sua relação com os processos fisiopatológicos das doenças inflamatórias intestinais.



Fonte: Adaptado de MOURA et al. 2015^a

Legenda: AGE = produtos finais de glicação avançada; CAT = catalase; Cl⁻ = íons cloreto; COX2 = ciclooxigenase 2; CuZn- SOD = Cobre-Zinco superóxido dismutase; Fe²⁺ = íon ferroso; GPx = glutathiona peroxidase; GR = glutathiona redutase; GSH = glutathiona reduzida; GSSG = glutathiona oxidada; H₂O = água; H₂O₂ = peróxido de hidrogênio; HOCl = ácido hipocloroso; HOONO = ácido peroxinitroso; HPX = hipoxantina; MnSOD = manganês superóxido dismutase; LPO = lipoxigenase; MPO = mieloperoxidase; NAD(P)⁺ = nicotinamina adenina dinucleotídeo (fosfato) oxidada; NAD(P)H = nicotinamida adenina dinucleotídeo (fosfato) reduzida; •NO₂ = dióxido de nitrogênio; O₂ = oxigênio; O₂^{•-}; ânion radical superóxido; •OH = radical hidroxila; •NO = óxido nítrico; •ONO = peroxinitrito; PDH = piruvato desidrogenase; PL = peroxidação lipídica; XO = xantina oxidase; ZO = *Zonula occludens*.

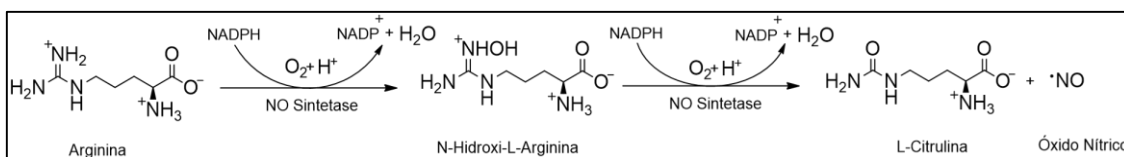
Obs.: As descrições metabólicas dos números contidos nas figuras encontram-se no item 1.3.2.

No citosol, íons metálicos como o ferroso (Fe²⁺), o cúprico (Cu²⁺), o cobalto (Co²⁺) e o cromo (Cr²⁺), através de (10) reações de Fenton e Haber-Weiss, reagem com H₂O₂ formando o radical hidroxila (•OH), que apresenta elevada toxicidade e pode causar de forma direta a (11) PL. Outras ações do •OH são: (12) fragmentação do DNA; (13) inativação do complexo enzimático piruvato desidrogenase (PDH); (14) despolarização da proteína mucina e (15) destruição das junções apicais intracelulares. Essas ações danosas causam (11) destruição tecidual e morte celular e então úlceras na mucosa, dano típico da DII; (12) mutagenicidade e câncer; (13) aumento da geração de O₂^{•-} mitocondrial e EO, que tem relação direta com a severidade da doença; (14) formação diminuída da camada mucosa e promoção de (15) translocação bacteriana, que estimula o recrutamento de macrófagos e neutrófilos, bem como o aumento da permeabilidade intestinal; além de (16) facilitar a infiltração de leucócitos e neutrófilos, acarretando em inflamação. Uma outra enzima presente no citosol, a LPO também causa PL, por meio da formação de lipoperóxidos (LOOH) (17) (BIERHAUS et al., 1998; BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; BHARDWAJ, 2010; BHATTACHARYYA et al., 2014).

Muitas das ERNs são formadas a partir do •NO, produzido pela iNOS que converte *L*-arginina em *L*-citrulina (18), por meio da reação descrita na Figura 6. O •NO reage com O₂^{•-}, formando (19) o ONOO⁻ que se torna ácido peroxinitroso (ONOOH) (20). Este último gera uma nova espécie, o •NO₂ (21), que também causa PL. O radical ONOO⁻ é altamente reativo e pode causar (12) fragmentação do DNA e estimulação às ERNs e PL. O •NO causa ações adversas no

colonócito. Este gás estimula (22) a secreção de cloreto (Cl^-) para a mucosa com uma conseqüente (23) saída de água para o lúmen intestinal, levando à diarreia osmótica, o mais frequente sintoma das DII. As ERNs são ainda mediadores quimiotáticos de macrófagos e neutrófilos que estimulam (24) a liberação de íon férrico (Fe^{3+}) pelas células de defesas (25) para o meio intracelular. Apesar do $\cdot\text{NO}$ ter uma vida média de $\cong 3$ s, esta molécula pode se (26) difundir pela camada muscular (músculo liso) e causar relaxamento não-colinérgico e não-adrenérgico e, conseqüentemente, levar ao megacólon tóxico, uma complicação clínica comum às DII (GUSLANDI, 1998; ANDREW;MAYER, 1999; ALDERTON;COOPER;KNOWLES, 2001).

Figura 6- Reação de formação do óxido nítrico a partir de óxido nítrico sintetase induzível



Fonte: Autora

Devido ao rompimento da permeabilidade intestinal, antígenos derivados tanto da digestão de alimentos como das bactérias comensais patogênicas, podem superar a barreira da mucosa desprotegida e provocar uma contínua resposta imune intestinal que posteriormente leva ao dano tecidual. A resposta inflamatória, geralmente, resulta em injúria epitelial continuada, que causa erosão e ulcerações levando ao aumento da exposição à microbiota intestinal e amplificação da resposta imune (BRENNAN et al., 2003; PRAVDA, 2005).

A defesa celular antioxidante envolve a ação de substâncias enzimáticas e não enzimáticas presentes nos peroxissomas. Nesta organela, o H_2O_2 é convertido em água (H_2O) pelas enzimas (27) catalase, principalmente nos processos inflamatórios, e (28) GPx. Para que os peroxissomas produzam GPx, há a necessidade de converter GSH à sua forma oxidada (GSSG). Para que a

GSH seja então regenerada, a presença da enzima glutathione redutase é exigida (ciclo da glutathione) (Figura 5A) (PIECHOTA-POLANCZYK;FICHNA, 2014).

As junções intercelulares do epitélio intestinal (Figura 5B) são constituídas pelas junções de oclusão (JO), junções de adesão (JA) e desmossomos. As JO epiteliais formam uma barreira contra a entrada de alérgenos, toxinas e patógenos através do epitélio para dentro do tecido intersticial. As ERONs podem promover destruição tanto das JO quanto das JA. Por outro lado, $\bullet\text{NO}$ e ONOOH causam nitração da actina presente no citosol, enquanto o H_2O_2 e o $\bullet\text{OH}$ podem levar à desfosforilação (serina/tirosina) ou fosforilação (tirosina) da proteína ocludina – conectada à actina através da ZO (*Zonula occludens*) (1, 2 ou 3) – e fosforilação (tirosina) da β -actina –que conecta a E-caderina com a α -catenina e essas, à actina. Tanto o rearranjo da actina (causado pela nitração) quanto a (des)fosforilação das proteínas de adesão/ligação, promovem destruição das junções intracelulares, disfunção da barreira intestinal e consequente aumento da permeabilidade intestinal, o que permite a infiltração de neutrófilos/bactérias/toxinas e, dessa forma, causam o processo inflamatório (ALZOGHAIBI, 2013).

Os neutrófilos são a principal fonte de ERONs durante o processo inflamatório (Figura 5C). Essas células produzem $\text{O}_2^{\bullet-}$ a partir da NOX e $\bullet\text{NO}$ através da ação da iNOS. A enzima MPO catalisa a reação entre o H_2O_2 e o Cl^- que gera o HOCl. Ambos, MPO e HOCl, causam PL e dano tecidual (Figura 4C) (BRENNAN et al., 2003).

Nesse contexto, conseguiu-se identificar uma estreita relação do EO com a lesão de membrana e as ulcerações de mucosa consequentes à peroxidação lipídica, responsáveis pela dor em cólica e perdas de sangue características do portador de DII; episódios de diarreia, resultantes do extravasamento de íons cloro que ocorre devido à elevação da concentração de $\bullet\text{NO}$ no citosol; infiltração bacteriana, através da destruição das junções intercelulares, tanto por oxidação como por carbonilação, acarretando em perda da barreira física entre os colonócitos, permitindo a entrada de bactérias, antígenos bacterianos e de alimentos, na, até então, estéril lâmina própria; megacólon tóxico, consequência

da difusão do $\bullet\text{NO}$, um importante vasodilatador, até as camadas musculares; e por fim, câncer, decorrente dos constantes ataques oxidativos ao DNA.

1.3.3 Doença Inflamatória Intestinal ou doença intestinal inflamatória e oxidativa? Interação entre as vias do Nrf2, NF- κ B e p53.

Em situações de equilíbrio imune e redox (Figura 8A), o cólon está protegido externamente (luz intestinal) pela eubiose (equilíbrio entre bactérias benéficas e patogênicas), que limita a produção de substâncias tóxicas como os lipopolissacarídeos (LPS), presentes na membrana das bactérias patogênicas e, pela presença do muco, que compõe uma barreira física contra a entrada de bactérias; bem como pelas junções intercelulares que mantêm a integridade da mucosa (BRINGIOTTI et al., 2014; MORAN et al., 2014).

No interior da célula, o equilíbrio redox é mantido pela presença de antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos que combatem as ERONs naturalmente geradas. Como dito no item anterior, mitocôndria, XO, COX2 e NOX são os principais formadores do radical $\text{O}_2^{\bullet-}$ enquanto o $\bullet\text{NO}$ é produzido, principalmente, pela iNOS, que juntamente com a NOX, é ativada durante processos inflamatórios (VASCONCELOS et al., 2007).

É importante salientar que em situações fisiológicas, a formação dessas ERONs é mantida em baixas concentrações no citosol, o que garante sua ação benéfica sobre os mediadores nucleares Nrf2, NF- κ B e p53. O Nrf2, que se encontra constantemente degradado (através da via ubiquitina-proteossomo) através das vias metabólicas dependentes da Keap1 (do inglês *kelch-like ECH-associated protein 1*), tem essa degradação reduzida e encontra-se estabilizado, quando em concentrações fisiológicas de ERONs (KOBAYASHI et al., 2004; TAGUCHI;MOTOHASHI;YAMAMOTO, 2011). Quando ativado, o Nrf2 desloca-se para o interior do núcleo, formando um heterodímero com a pequena proteína Maf (fibrosarcoma músculo-aponeurótico). Em seguida, o Nrf2 regula a expressão de diversos genes com ação anti-inflamatória e antioxidante, que têm

em comum uma ação potencializadora denominada elemento de resposta antioxidante (ARE) (BUELNA-CHONTAL;ZAZUETA, 2013).

Genes relacionados à síntese das seguintes moléculas são ativados pelo Nrf2-ARE: GSH, GPx, tiorredoxina redutase, tiorredoxina, peroxirredoxina, SOD1, SOD2, SOD3, catalase, glutathione S-transferases, uridina 5'-difosfoglucuronosiltransferase, NAD(P)H:quinona oxidoredutase 1 (NQO1), hemoxygenase 1 (HO1), epóxido hidrolase (EPHX), ferritina H, metaloproteínas 1 e 2, glutamato-cisteína ligase (GSL), proteína associada à resistência multidroga (MRP) tipo 2 e 3, além de proteínas ligadas à formação do proteossoma (JUNG;KWAK, 2010). Nas DII, acredita-se que o Nrf2 desempenhe um importante papel na manutenção da integridade intestinal, regulando diversas citocinas e induzindo a produção das enzimas envolvidas na fase II de detoxificação (TRIVEDI;JENA, 2013b; TRIVEDI et al., 2015).

Em contrapartida, no EO, as ERONs atuam evitando a ruptura da ligação entre o Nrf2 e a Keap1, impedindo assim a translocação desse fator para o interior do núcleo e, conseqüentemente, o estímulo à transcrição de genes antioxidantes e anti-inflamatórios, perpetuando, dessa forma, o EO e a inflamação, característicos do portador de DII (JUNG;KWAK, 2010).

Dessa forma, a via Keap-1-Nrf2-ARE pode ser considerada o maior mecanismo de defesa contra o EO. Nesse contexto, os inibidores da ligação proteína-proteína entre o Keap 1 e o Nrf2, surgem como uma alternativa terapêutica de grande eficiência.

Magesh, Chen e Hu (2012), publicaram uma interessante revisão acerca do potencial terapêutico de pequenas moléculas moduladoras da via Keap1-Nrf2-ARE. Esses autores classificaram essas pequenas moléculas em três classes: ativadoras e inibidoras da ARE, baseando-se na última ação biológica dentro da cascata metabólica envolvendo a expressão dos genes mediados pela ARE e por fim, os inibidores diretos da interação Keap1-Nrf2 e que parecem apresentar maiores vantagens sobre os inibidores indiretos (KERN;HANNINK;HESS, 2007).

Dentre as substâncias classificadas como ativadoras do Nrf2 estão aquelas que inibem indiretamente a interação entre Keap1-Nrf2, através de ligação com resíduos de cisteína. Nesse grupo são encontradas a curcumina e seus análogos sintéticos salicilcurcuminoídes e bis[2-hidroxibenzilideno]acetona, o éster fenetil-etílico do ácido cafeico e o éster etílico do ácido ferúlico, diversos flavonoides como a quercetina e a genisteína, alguns terpenos, diterpenos e triterpenos, diversos polifenóis como o resveratrol, catequinas do chá verde, quinonas, carotenoides como o licopeno, dentre outros (Figura 7 A). Por outro lado, entre as substâncias que agem inibindo ou inativando o Nrf2 (Figura 7 B), ou seja, que agem reduzindo a defesa antioxidante, tem-se o ácido ascórbico e o todo-*trans*-ácido retinoico, alguns nutracêuticos encontrados naturalmente em plantas, como o brusatol (*Brucea javanica*), o flavonóide luteolina e alguns produtos de bactérias como o ocratoxina (*Aspergillus* e *Penicillium* subespécies) (B) (MAGESH;CHEN;HU, 2012).

A terceira classe de moléculas, que atuam sobre o Nrf2, inclui as moléculas que inibem diretamente a ligação entre esse fator nuclear e a Keap1 através de ligações não covalentes. Esta ação direta, segundo Abed et al. (2015), apresenta maior vantagem sobre os inibidores indiretos uma vez que estes têm elevado risco de reagir com outras proteínas que apresentem resíduos de cisteína (ABED et al., 2015). Alguns peptídeos sintéticos que mimetizam o Nrf2 têm se mostrado promissores nessa ação (HANCOCK et al., 2012; HANCOCK et al., 2013; JIANG et al., 2014).

Salienta-se que algumas substâncias, como o ácido lipoico, parecem atuar sobre o Nrf2 por outra via independente do Keap1 (MOURA et al., 2015b). Portanto, investigações sobre terapêuticas farmacológicas e não farmacológicas não se detém exclusivamente na ação desses produtos sobre a conexão entre Keap1 e Nrf2.

Ainda na mucosa saudável, a baixa concentração de ERONs, juntamente com a baixa atividade inflamatória característica de indivíduos saudáveis (Figura 8A), observada pela limitada ativação de receptores pró-inflamatórios como o receptor tipo 1 (TNF1) do fator de necrose tumoral- α (TNF- α), receptor (IL-1R) de interleucina 1 β (IL-1 β), receptor (RAGE) dos AGE e os toll-like 4 (TLR4) (que

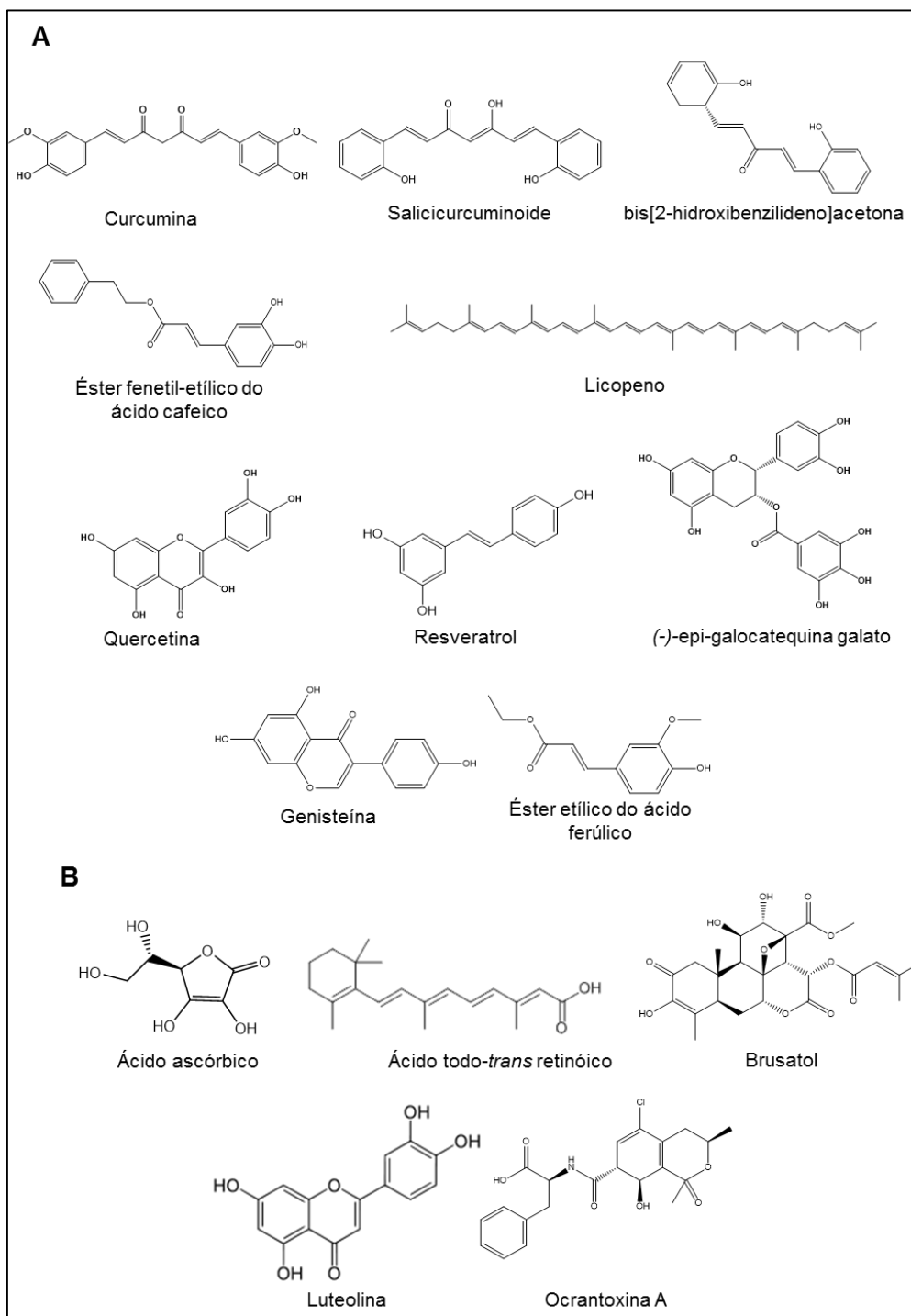
reconhecem os LPS), promovem uma controlada ativação canônica ou clássica, que está associada à expressão de genes pró-inflamatórios, (por fosforilação – P – de resíduos de serina específicos; ou oxidação – Ox – da cisteína) do complexo I κ B quinase (IKK composto pelo NEMO, também conhecido como IKK γ , e as subunidades IKK α e o IKK β). A ativação do complexo I κ B quinase leva à formação do I κ B α fosforilado que se dissocia do dímero NF- κ B ativo (formado pelas subunidades p50 e p65). O I κ B α sofre uma série de ubiquitinações e é, então, degradado pelo proteossoma. O NF- κ B ativo pode então penetrar no núcleo e ativar a transcrição gênica (PASPARAKIS, 2009). Quando a situação imunológica está alterada, ou quando há elevação das ERONs e/ou diminuição na defesa antioxidante, ocorre então a super estimulação da liberação do NF- κ B e, conseqüentemente, sua ação sobre a modulação gênica (Figura 8B).

Dentre os genes ativados pelo NF- κ B, encontram-se tanto os pró-oxidantes/inflamatórios, quanto os antioxidantes. Os efeitos antioxidantes do NF- κ B são pouco explorados e parecem resultar do mecanismo de defesa celular à injúria causada pelo aumento das ERON. Dentre os genes antioxidantes ativados estão a MnSOD, a CuZnSOD, a cadeia pesada de ferritina, que previne o EO, através da inibição da reação de Fenton, mediada pela presença de íon ferroso e posterior formação do \cdot OH (MORGAN;LIU, 2011). Outros estudos também relacionaram o NF- κ B com a elevação na expressão da catalase (ZHOU;JOHNSON;RANDO, 2001), tiorredoxina 1 e 2, que atuam protegendo proteínas do dano oxidativo (carbonilação de proteínas) (DJAVAHERI-MERGNY et al., 2004; KAIRISALO et al., 2007).

Nas DII, dentre os artigos que compõem esta revisão, não foi observada ação gênica antioxidante decorrente do NF- κ B, e sim sua ação pró- inflamatória e pró-oxidante classicamente conhecida. A presença desse mediador nuclear já foi identificada na mucosa de pacientes com DII (ELLIS et al., 1998; SCHREIBER;NIKOLAUS;HAMPE, 1998), o que indica sua relação com a gênese e/ou progressão da doença (PASPARAKIS, 2009). Dentre os genes pró-oxidantes ativados através do NF- κ B, destacam-se a iNOS, a COX2, a XO e a LPO. Já entre os agentes pró-inflamatórios, encontram-se o TNF- α , a IL-1, IL-6, IL-12 e IL-23, além de diversas caspases que apresentam estreita relação com

a morte celular (MORGAN;LIU, 2011). Um resumo sobre a relação dessas citocinas e a patogênese das DII pode ser visto na Tabela 2.

Figura 7- Estrutura química de alguns compostos que atuam inibindo (A) ou estimulando (B) a interação Keap1-Nrf2



Nas DII, dentre os artigos que compõem esta revisão, não foi observada ação gênica antioxidante decorrente do NF- κ B, e sim sua ação pró- inflamatória e pró-oxidante classicamente conhecida. A presença desse mediador nuclear já foi identificada na mucosa de pacientes com DII (ELLIS et al., 1998; SCHREIBER;NIKOLAUS;HAMPE, 1998), o que indica sua relação com a gênese e/ou progressão da doença (PASPARAKIS, 2009). Dentre os genes pró oxidantes ativados através do NF- κ B, destacam-se a iNOS, a COX2, a XO e a LPO. Já entre os agentes pró-inflamatórios encontram-se o TNF- α , a IL-1, IL-6, IL-12 e IL-23, além de diversas caspases que apresentam estreita relação com a morte celular (MORGAN;LIU, 2011). Um resumo sobre a relação dessas citocinas e a patogênese das DII pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2- Citocinas estimuladas pelo fator nuclear kappa B (NF- κ B) e sua relação com a patogênese das doenças inflamatórias intestinas.

CITOCINA	RELAÇÃO COM AS DII
TNF- α	↑ IL-12; causa apoptose de enterócitos; ↓ regulação de moléculas envolvidas nas junções intercelulares; (+) síntese de quimiocinas, moléculas de adesão e diversos mediadores inflamatórios.
IL-1	↑ recrutamento de neutrófilos; (+) síntese de IL-6 e o desenvolvimento de tumor
IL-6	Ativa células T e previne apoptose; induz a ativação de macrófagos; ativa proteínas de fase aguda; ↑ proliferação de células epiteliais e de fatores de crescimento tumoral;
IL-12	Induz a diferenciação dos TH1; (+) produção de citocinas tipo TH1; ativa células imunes inatas
IL-23	Ativa células T e macrófagos; ↑ produção de TNF- α ; estabiliza o fenótipo das células efectoras TH17

Adaptado de (NEURATH, 2014; OLESEN et al., 2016)

Legenda: ↑ = aumenta; ↓ = diminui; (+) = estimula; IL = interleucina; TH = Células T Helper; TNF- α = fator de necrose tumoral alfa.

Outro mediador celular diretamente relacionado com o EO nas DII é a p53, já discutida anteriormente. Essa proteína, em situações de equilíbrio redox,

bloqueia a fosforilação da I κ B α e, por conseguinte, a liberação do NF- κ B ativo. O p53 também estimula a apoptose de células que apresentem dano ao DNA, evitando dessa forma sua proliferação (Figura 8A). Assim como o NF- κ B, a p53 também está envolvida com estímulo a genes antioxidantes, tais como as enzimas MnSOD e GPx1; os sestrinos, família composta por 3 genes, *sesn1*, *sesn2* e *sesn3* que produzem diferentes proteínas envolvidas com hipóxia e morte celular; os TIGAR (reguladores da glicólise e apoptose induzida pela p53), que são genes envolvidos com a regulação das EROs, ciclo celular e reparação do DNA; a GLS2 (glutaminase 2), a qual previne a disfunção mitocondrial, otimizando a cadeia transportadora de elétrons e posterior geração de energia, além de elevar o conteúdo de GSH intracelular; dentre outros (BUDANOV, 2014).

Por outro lado, durante o EO, o aumento das EROs juntamente com o dano ao DNA provocado por algumas dessas espécies (H_2O_2 , $\cdot OH$ e $OONO\cdot$), promove a mutação do p53 (STAIB et al., 2005). Esse p53 mutante (p53M) tem ação contrária a p53, ou seja, ao invés de inibir, ele estimula a ativação do NF- κ B, causando indiretamente elevação dos genes pró-oxidantes e pró-inflamatórios (Figura 8B) (STAIB et al., 2005; HORVATH et al., 2015). A p53M também causa a ativação de pró-oncogenes, intimamente relacionados com o desenvolvimento do CCR além de *per se* inibir a apoptose, estimulando assim, a proliferação descontrolada das células com DNA alterado (RADOVIC et al., 2006).

Sabe-se, atualmente, que a mutação do p53 está presente em 40% a 50% dos casos de CCR (TAKAYAMA et al., 2006). Um interessante trabalho desenvolvido por Hamouda et al. (2011), avaliou a inter-relação entre o EO e a presença de anticorpos anti-p53 em biópsias colônicas de portadores de RCUI que apresentavam ou não displasia, comparativamente a indivíduos saudáveis. Esses autores observaram que todos os pacientes com RCUI apresentaram maiores níveis de AGEs, metaloproteínas e anticorpos anti-p53 além de menores níveis de GSH. Os portadores de RCUI associado à displasia (leve a moderada), apresentaram essas alterações mais intensas que aqueles sem displasia (com exceção apenas para metaloproteínas), indicando que o EO e o dano celular

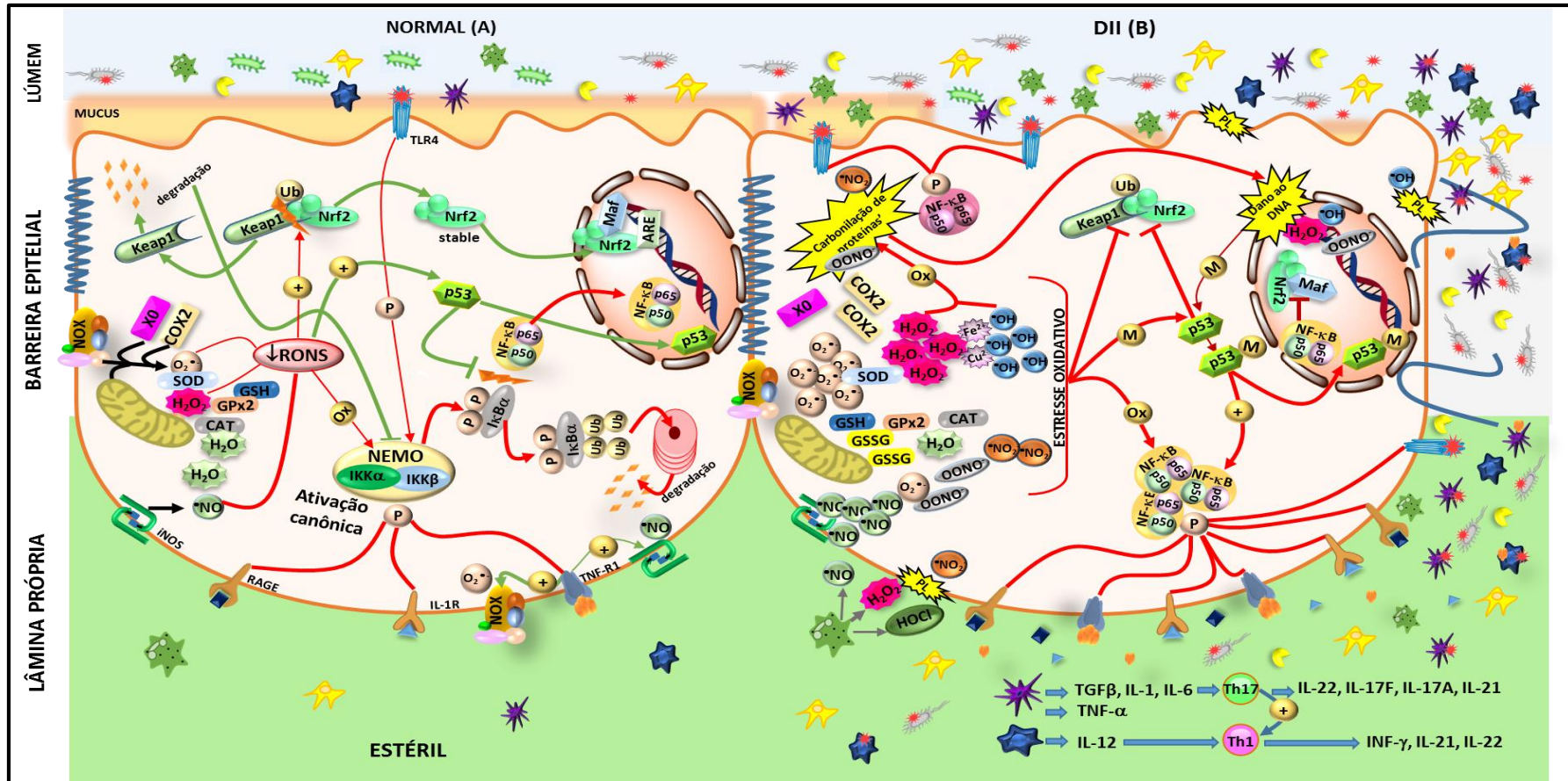
oxidativo têm papel ímpar na RCUI, especialmente na progressão da colite para carcinogênese (HAMOUDA et al., 2011).

Através dessa intrínseca teia de mediadores celulares e nucleares, confirma-se que a inflamação e a progressão das DII estão diretamente relacionadas ao desencadeamento e intensidade do EO. No entanto, a identificação de biomarcadores desse desequilíbrio redox em tecidos de biópsia, soro ou em outros fluídos biológicos, como urina e saliva, de portadores da DC ou RCUI, quando se testam opções terapêuticas alternativas, ainda é pouco explorado pelos pesquisadores. Outras questões primordiais que podem influenciar na compreensão do uso dessas estratégias de tratamento é o entendimento do EO como causa ou consequência das DII e quando seu uso pode ser mais efetivo ao paciente, se na fase sintomática, assintomática, ou em ambas.

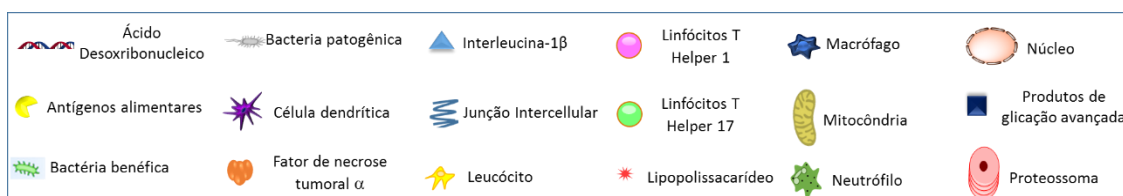
1.3.4 – Biomarcadores do estresse oxidativo

Como mencionado anteriormente, o EO é o acontecimento fisiopatológico crucial nas DII. Portanto, é fundamental identificar os melhores biomarcadores para estas doenças, a fim de verificar quando a terapia aplicada é ou não eficaz no controle de seus sintomas. Enzimas antioxidantes como a SOD, catalase e GPx e os grupo sulfidril não enzimáticos, exercem um papel fundamental na defesa orgânica contra o excesso de ERONs formadas, contudo, mudanças no seu perfil parecem ser de difícil identificação, como pode ser visto nos diversos estudos sobre as DII.

Figura 8- Inter-relação entre o estresse oxidativo e a inflamação nas doenças inflamatórias intestinais: o papel das vias envolvendo o NF-κB, Nrf2-ARE e P53 na mucosa normal (A) e na doença inflamatória intestinal (DII) (B)



Fonte: Autora



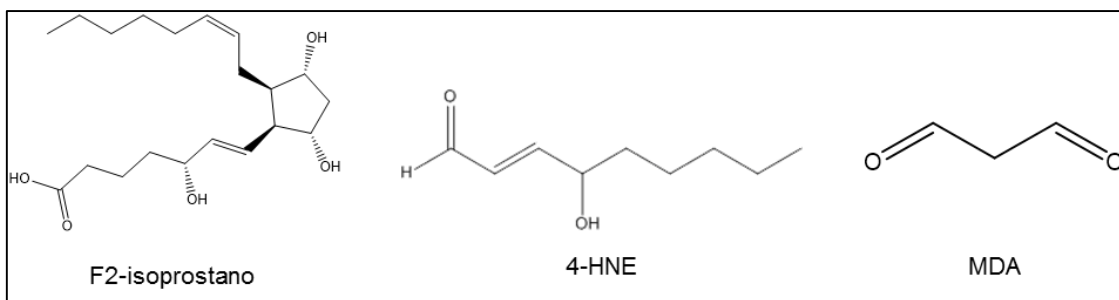
Legenda: ARE = elemento de resposta antioxidante; CAT = catalase; COX2 = ciclooxigenase 2; Cu = cobre; Fe²⁺ = íon ferroso GPx = glutationa peroxidase; GSH = glutationa reduzida; GSSG = glutationa oxidada; IL = interleucina; IL-1R = receptor da IL-1; UNF γ = interferon gama; Keap1 = *kelch-like ECH-associated protein 1*; M = mutação/mutante; Maf = fibrosarcoma músculo-aponeurótico; MPO = mieloperoxidase; NF- κ B = fator nuclear kappa intensificador das células B ativadas; NOX = nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase; Nrf2 = fator nuclear tipo 2 derivado do eritroide; Ox = oxidação; P = fosforilação/fosforilada; p53 = proteína 53; PDH = piruvato desidrogenase; PL = peroxidação lipídica; RAGE = receptor das espécies finais de glicação avançada; SOD = superóxido dismutase; TGF β = fator transformador de crescimento beta; TLR4 = receptor toll-like 4TNF-R1 = receptor tipo 1 do fator de necrose tumoral alfa; Ub = ubiquitinação; XO = xantina oxidase.

É bem documentado que indivíduos com DC e RCUI apresentam aumento da PL (BOUZID et al., 2014) e, que por isso, os níveis de MDA (Figura 9) ou de TBARS (um método indireto de detecção do MDA) são extensivamente utilizados como biomarcadores do dano oxidativo (AMINI-SHIRAZI et al., 2009; COSTA et al., 2015; YEOM;KIM, 2015). Contudo, uma vez que outros materiais biológicos podem reagir com o ácido tiobarbitúrico, acarretando em elevação nos níveis de TBARS, este marcador deve ser substituído por outros mais específicos, como hidroperóxidos, isoprostanos e dienos conjugados, mas, assim como o MDA, todos apresentam vantagens e limitações, como necessidade de equipamentos específicos e, muitas vezes, de elevado custo, necessidade de adaptação para amostra biológica, dentre outros (NIKI, 2014). Dentre essas moléculas, o F2-isoprostano (Figura 9), medido por espectrometria de massas, tem sido apontado como o melhor indicador de PL não enzimática em condições normotóxicas (FORMAN et al., 2015).

A MPO, uma heme proteína secretada por fagócitos, especialmente neutrófilos, é um marcador de infiltração leucocitária e inflamação. Elevação na atividade da MPO e na síntese de \bullet NO, encontrada em biópsia de cólons, tem se correlacionado positivamente com a progressão das DII (JOO, Minjae et al., 2015). Diversas investigações têm demonstrado uma correlação significativa com outros marcadores de EO como o MDA e o H₂O₂, em pacientes com

síndrome metabólica (FONSECA et al., 2014). No intestino, MPO está presente nos macrófagos e neutrófilos derivados da infiltração na mucosa inflamada e da ruptura da barreira intestinal. Essas células produzem mediadores inflamatórios (citocinas e quimiocinas) e EO através da geração de HOCl e oxidação de ácidos graxos insaturados presentes na membrana plasmática (BRENNAN et al., 2003)

Figura 9- Estrutura química do F2-isoprostano, 4-hidroxinonenal (4-HNE) e malondialdeído (MDA), importantes biomarcadores da peroxidação lipídica



Fonte: Autora

Segundo Hartman (2014), além de levar à PL, o aumento na expressão da iNOS e a consequente elevação nos níveis de $\bullet\text{NO}$ (HARTMANN et al., 2014), estão fortemente associados com a redução na pressão do esfíncter anal em ratos com colite induzida e, por conseguinte, no aumento nas crises diarreicas e outros sintomas das DII. A iNOS ou NOS2 é uma das três isoformas da NOS. Enquanto a iNOS é encontrada em macrófagos e células do músculo liso, as demais isoformas NOS1/nNOS e NOS3/eNOS são encontradas, principalmente em neurônios e endotélio, respectivamente. Outra diferença marcante entre as isoformas é que, ao contrário da nNOS e eNOS, a iNOS não é expressa constitutivamente e sua atividade ocorre de forma independente de influxos anteriores de cálcio (NATHAN, 1992). Além disso, a iNOS permite a produção de $\bullet\text{NO}$, em grande quantidade, como parte do mecanismo de morte celular, em resposta à presença de lipopolissacarídeos (LPS), citocinas e glicocorticoides. Dessa forma, esta enzima e seus metabólitos estão envolvidos no choque séptico e desordens inflamatórias (KALYANARAMAN, 2013).

Outro metabólito comum, a GSH, tem sido utilizada como um indicador alternativo, tanto para a inflamação quanto para o EO, uma vez que seus níveis intracelulares sofrem modificações devido à sua ação no “pool” extracelular, o qual se correlaciona com sua função de desintoxicação e proteção celular de injúrias causadas por agentes químicos ou oxidantes (WITAICENIS et al., 2012). Nas doenças inflamatórias, por exemplo, o consumo de GSH pode aumentar drasticamente (HALL, 1999). Em indivíduos com DII, resultados contraditórios têm sido encontrados tanto para os níveis de GSH quanto para a relação GSH/GSSG. Em biópsias colônicas já foram observados desde redução (TSUNADA et al., 2003), ausência de alterações nos níveis de GSH (KRUIDENIER et al., 2003), assim como aumento nos níveis de GSSG (TSUNADA et al., 2003). Já em modelos animais de colite, os níveis de GSH estão normalmente reduzidos (RISE;PRABHU;GURUVAYOORAPPAN, 2012; PRABHU;GURUVAYOORAPPAN, 2014; RABELO SOCCA et al., 2014).

De acordo com Saktievel et al. (2014), a atividade da SOD aumentou após a indução da colite por meio da administração de 2 mL de ácido acético, via retal (enema único) (SAKTHIVEL;GURUVAYOORAPPAN, 2014). A elevação da SOD e de outros antioxidantes pode ser explicada pelo fato de nas DII, tanto a inflamação quanto o EO estarem presentes e a elevação da defesa antioxidante poderia proteger o tecido do dano oxidativo. Por outro lado, em outros estudos com modelos animais de colite induzida por ácido acético (RISE;PRABHU;GURUVAYOORAPPAN, 2012; ALEISA et al., 2014), ou induzida por ácido trinitrobenzenossulfônico (TNBS), também administrado via retal, (WANG et al., 2010; RABELO SOCCA et al., 2014; XU;ZHANG;JI, 2015), a atividade da SOD apresentou-se reduzida, o que claramente indica aumento do EO, que causa dano celular através da PL em membranas celulares e oxidação de proteínas celulares (ALEISA et al., 2014). Resultados semelhantes foram observados para a GPx. De acordo com Rabelo Soca et al. (2014) e Dost et al. (2009), a atividade da enzima GPx, em ratos com RCUI induzida por TNBS, aumentou (DOST et al., 2009; RABELO SOCCA et al., 2014), enquanto Müller, Blum e Mueller (2013), estudando a RCUI induzida por SSD, identificaram uma redução significativa na atividade desta enzima (MUELLER;BLUM;MUELLER, 2013).

O reconhecimento das ERONs e das modificações proteicas ocasionadas pelo EO como sinalizadores celulares tem aberto um novo campo de conhecimento na regulação celular e promovido um novo caminho de controle no processo de adoecimento. Tal abordagem tem se provado viável também para a expressão de genes reguladas pelo NF- κ B (HADDAD, 2002). Este fator é ativado quando receptores de membrana celular, tais como o receptor para o IL-1R, TNFR1, NOX e os toll-like tipo 4 (TLR4) ativam diversos mediadores celulares que promovem a fosforilação da forma inativa do NF- κ B, o I κ B α . Após entrar no núcleo, o mediador NF- κ B estimula genes pró-inflamatórios, pró-oxidantes e pró-apoptóticos, como por exemplo a COX2, iNOS, caspases, dentre outros (MOURA et al., 2015b).

Ainda no campo dos fatores de transcrição, outro mediador inflamatório, o Nrf2, está emergindo como um importante marcador do EO. Quando estimulado, este mediador apresenta atividade antioxidante, contrariamente ao NF- κ B, pois atenua a fosforilação do I κ B α e, conseqüentemente, a liberação do NF- κ B (THIMMULAPPA et al., 2006). O Nrf2 também estimula a ativação de outras duas dúzias de genes envolvidos em atividades anti-inflamatórias e antioxidantes tais como o elemento de resposta antioxidante (ARE), NAD(P)H quinone oxidoreductase-1 (NQO-1), heme oxigenase-1 (HO-1), peroxirredoxina 1, γ -glutamilcisteína ligase, GPx, e glutatona disulfeto redutase (KIM;CHA;SURH, 2010). Camundongos *knockout* para o gene Nrf2 (Nrf2^{-/-}) têm sido usados com sucesso como modelo experimental de indução à colite, tornando os animais mais susceptíveis à ação do SSD, confirmando a forte ligação existente entre esse mediador e as DII (WANG et al., 2015). Esses pesquisadores avaliaram, ainda, a ação de um composto sintético antioxidante e anti-inflamatório, o 3-(3-piridilmetilideno)-2-indolinona, que atua estimulando o Nrf2 e confirmaram que os animais *knockout* para o Nrf2, quando previamente tratados com o composto ativador desse mediador celular, tornaram-se mais resistentes à indução à colite, o que reforça a hipótese do papel fundamental do Nrf2 na gênese da RCUI (WANG et al., 2015).

Entretanto, mais recentemente, alguns resultados vêm lançando dúvidas da necessidade do Nrf2 para que ocorra a ativação do ARE (diretamente

envolvida na expressão gênica de enzimas antioxidante). Kathiria et al. (2013) identificaram um importante efeito da proibitina 1, uma proteína envolvida na progressão do ciclo celular, apoptose e atividade de fator transcripcional. Esta proteína encontra-se com seus níveis diminuídos em biópsias colônicas de portadores de RCUI e DC e também em modelos animais de indução à colite. Ainda segundo esses autores, a proibitina 1 mantém elevada a ativação dos ARE e diminui os níveis intracelulares de EROs, além de aumentar as concentrações colônicas do HO-1 e NQO-1 (KATHIRIA et al., 2013). Outro aspecto ainda pouco explorado sobre o Nrf2 é seu papel pró-oxidante. Nesse contexto, Zucker et al. (2014) descobriram que o Nrf2 estimula o fator de transcrição tipo Kuppel (Klf9), que causa morte celular (ZUCKER et al., 2014).

Nesse contexto, diversos agentes, em especial compostos dietéticos, são utilizados para modificar ou modular alvos moleculares tais como marcadores inflamatórios e de EO, com o objetivo de prevenir ou melhorar a RCUI (SAXENA et al., 2014). Contudo, diante das divergências de resultados encontrados entre os mais diversos marcadores, fica clara a necessidade de maiores investigações sobre biomarcadores específicos do perfil redox, em ambas condições clínicas das DII: fase ativa e assintomática.

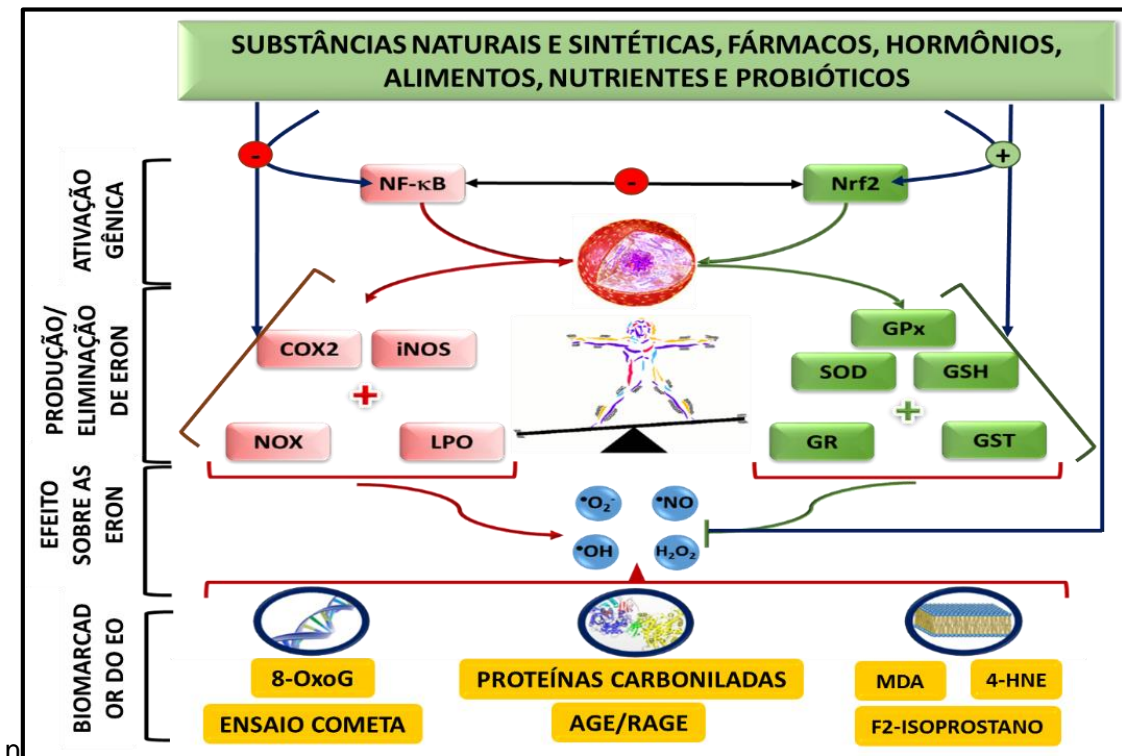
Um resumo sobre os biomarcadores encontrados nesta revisão pode ser visto na Figura 10.

1.3.5 –Terapia Antioxidante

Quando a capacidade antioxidante da mucosa é prejudicada, o uso de terapias não tradicionais como fármacos, hormônios, substâncias naturais ou sintéticas, alimentos, plantas e organismos vivos que atuam ou eliminando as EROs, ou inibindo dano celular (PL, modificação de proteínas ou DNA), ou ainda aumentando a capacidade antioxidante (enzimática ou não enzimática), podem se tornar benéficos quando usados de forma isolada ou associada a medicamentos anti-inflamatórios (KANNAN;GURUVAYOORAPPAN, 2013). Assim, diferentes substâncias que atuam nas diversas vias moleculares,

apresentam menores efeitos adversos, e têm menor custo, mostram-se agentes potenciais no tratamento das DII, com redução na sua severidade, e, por conseguinte, causam menor dano sistêmico.

Figura 10- Principais biomarcadores de estresse oxidativo encontrados em doenças inflamatórias intestinais publicados entre 2009 a 2016/01



Fonte: Adaptado de MOURA et al. 2015a

- a) Fármacos, hormônios, compostos sintéticos e substâncias derivadas de outras fontes diferentes das fontes vegetais

O tratamento farmacológico da DII tenta minimizar os sintomas associados a alterações estruturais e funcionais na membrana mucosa (SEIDNER; LASHNER, 2005). A terapia atual com agentes imunossupressores e corticoides (Figura 2) pode causar sérios efeitos colaterais tais como transtornos gastrintestinais (diarreia, náuseas e dor abdominal), anemia, carcinogênese, hepato e nefrotoxicidade, além de reações de hipersensibilidade (PAIOTTI et al., 2013). Outra importante observação refere-se à menor ou à ausência de

resposta de alguns indivíduos a essas medicações (KANNAN;GURUVAYOORAPPAN, 2013).

I. Antagonistas tipo 1 da angiotensina II

Dentre os estudos encontrados nesta revisão, os antagonistas do receptor da angiotensina II (Ang II), telmisartan (TLM) e olmesartan (Figura 2) apresentaram resultados interessantes (Tabela 3). Esses fármacos atuam sobre os receptores tipo 1 (AT1) da Ang II e como tal, reduzem sua ação vasoconstritora. Sua ação inflamatória ocorre por meio da supra regulação/ativação da NOX com conseqüente geração de $O_2^{\cdot-}$ e ativação da sinalização mediada pelo NF- κ B e posterior produção de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, fatores de crescimento e moléculas de adesão, que causam inflamação e fibrose tecidual (VAZIRI et al., 2007). Dentre os diversos candidatos a antagonistas do receptor da Ang II, tais como o vasartan e o olmesartan, o TLM foi o único a apresentar características anti-inflamatórias e antioxidantes. Além de ser um antagonista AT1 da Ang II, ele é um agonista dos receptores ativados por proliferadores do peroxissoma gama (PPAR- γ), um fator de transcrição nuclear que tem papel na regulação do metabolismo de carboidratos e lipídeos, e expressão de genes envolvidos na supressão da inflamação, sendo este efeito independente do seu efeito redutor da pressão arterial. Isso demonstra um efeito protetor marcante sobre a RCUI (ARAB et al., 2014a).

De acordo com Arab et al. (2014a), o tratamento oral com TLM em ratos, na dose de 10 mg.kg.d⁻¹ por 1 semana antes e mais 4 dias após a indução da RCUI, suprimiu a produção das EROs através da inibição da expressão gênica da NF- κ B/p65, COX2 e iNOS, assim como da inibição da expressão proteica do NF- κ B/p65. Outras ações antioxidantes atribuídas ao TLM foram a supressão da PL, varredura do \cdot NO, aumento nos níveis da GSH, da capacidade antioxidante total (TAC) e nas atividades da SOD e GPx (ARAB et al., 2014a). No estudo de Guerra et al. (2015), analisou-se o uso oral de TLM em diferentes dosagens (1, 3 ou 5 mg.kg.d⁻¹) por 3 dias antes da indução e 2 h e 24 h após a indução da

RCUI. Esses autores mostraram que animais que receberam a dosagem de 5 mg.kg⁻¹, apresentaram menor atividade de MPO colônica, bem como menores níveis de MDA (GUERRA et al., 2015). Esses achados demonstram os possíveis efeitos benéficos do TLM para o tratamento das DII, mediados através da modulação oxidativa e inflamatória na mucosa colônica.

II. Inibidores da hidroximetilglutaril CoA redutase

A classe de fármacos conhecida como estatinas, nesta revisão representada pela sinvastatina e rosuvastatina, estudadas por Maheshwari et al. (2015), demonstraram um importante efeito antioxidante, confirmados a partir da redução na atividade da MPO, diminuição na PL e aumento nas atividades da SOD e glutationa redutase (GR). Além de atenuar o EO, esses fármacos, especialmente a sinvastatina, também melhoraram os parâmetros histológicos no modelo utilizado de indução de colite (TNBS) (MAHESHWARI et al., 2015). O interesse em investigar esta classe de medicamentos na RCUI deve-se ao fato desses fármacos apresentarem ação anti-inflamatória e protetora sobre as células, independentemente do seu efeito hipolipemiante (ODA;KEANE, 1999).

Tabela 3- Ação de fármacos/hormônios sobre marcadores de estresse oxidativo nas doenças inflamatórias intestinais: artigos publicados de 2009-2016/01.

FÁRMACO/ HORMÔNIO	MECANISMO MOLECULAR	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE														
			↓ ERONs		↓ SÍNTESE DAS ERONsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE					
			*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2	CAO
FÁRMACOS																	
Telmisartan	Antagonista do receptor da Angiotensina II	(ARAB et al., 2014a)	X		X	X		X	X			X		X	X		X
Olmesartan		(GUERRA et al., 2015)					X		X								
Rivastigmina	Agente colinérgico	(BATTERSHILL; SCOTT, 2006)					X		X					X			
Aminoguanidina	Inibidor seletivo da iNOS	(SHIFRIN et al., 2013)					X		X								
Sildenafil citrate (Viagra)	Disfunção erétil	(MOUZAOU; RAHIM; DJERDJOURI, 2012)			X		X		X								
		(ISERI et al., 2009)					X		X					X			
Setarud (IMOD)	Imunomodulador	(KARAKOYUN et al., 2011)					X		X								X
Carvedilol	Bloqueador não seletivo β-adrenoceptor	(BAGHAEI et al., 2010)	X						X		X	X	X	X	X		
Espironolactona	Antagonista do receptor da aldosterona	(FATANI et al., 2015)		X			X	X									
Fluvoxamina	Inibidor seletivo da recaptção da serotonina	(SEHIRLI et al., 2015)					X										
Fc11a-2 (1-etil-5-metil-2-fenil-1H-benzo[d]imidazol)	-	(MINAIYAN et al., 2015)					X										
Sinvastatina		(LIU et al., 2013)					X		X			X			X		
		(MAHESHWARI et al., 2015)					X		X			X			X		

FÁRMACO/ HORMÔNIO	MECANISMO MOLECULAR	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE														
			↓ EROns		↓ SÍNTESE DAS EROnsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE					
			*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2	CAO
Rosuvastatina	Inibidor da hidroximetilglutaril COA redutase	(MAHESHWARI et al., 2015)					X		X			X			X		
Amlodipina	Bloqueador do canal de cálcio	(EL MORSY;KAMEL ;AHMED, 2015)					X		X			X					
Lazaroid U-74389G	Análogos não corticoides da metilprednisolona	(MARGONIS et al., 2015)					X		X						X		
HORMÔNIOS																	
Melatonina	Metabolismo do sono	(TRIVEDI et al., 2015)				X	X	X	X						X	X	
		(TRIVEDI;JENA, 2013a)				X			X						X	X	
		(SAYYED et al., 2013)						X	X								
		(TAHAN et al., 2011b)					X					X					
		(PARK et al., 2015)			X												
Ghrelin	Estimulante do apetite e da motilidade gastrointestinal	(KONTUREK et al., 2009)					X		X					X			
		(MATUSZYK et al., 2015)							X			X					
Adrenomedullina	Peptídeo gastrointestinal	(TALERO et al., 2011)	X			X	X										

Legenda: - = não altera; * = estudos em humanos; ↓ = reduz CAO = capacidade antioxidante; CAT = catalase; COX 2 = ciclooxigenase tipo 2; DNA = ácido desoxirribonucleico; GPx = glutaciona peroxidase; GR = glutaciona redutase; GSH = glutaciona reduzida; GST = glutaciona S-transferase; iNOS = óxido nítrico sintetase induzível; Iκ-Bα = fator nuclear do gene polipeptídico tipo kappa potencializador de inibidores de células B, alfa; PL = peroxidação lipídica; LPO = lipoxigenase; MPO = mieloperoxidase; NF-κB = fator nuclear Kappa de células B ativadas; *NO = óxido nítrico; NOX = nicotinamida dinucleotídico fosfato oxidase; Nrf2 = fator nuclear eritroide 2; PTN = proteína; Ref = referência; EROns = espécies reativas de oxigênio e nitrogênio; EROs = espécies reativas de oxigênio; SOD = superóxido dismutase.

III. Hormônios

Outra terapêutica não tradicional, testada com sucesso nas DII, é a terapia hormonal, com a grelina e especialmente com a melatonina (MEL) (Tabela 3).

O uso da grelina, um peptídeo contendo 28 aminoácidos, produzido na mucosa gástrica, no tratamento das DII, se baseia na sua ação estimulante sobre o hormônio de crescimento, além de levar ao ganho de peso, através da redução da utilização da gordura como fonte energética pelos tecidos (KOJIMA et al., 1999). Acredita-se, ainda, que a grelina seja capaz de regular a resposta inflamatória, pois as células de defesa como os monócitos/macrófagos, células dendríticas e linfócitos B, possuem receptores específicos para esse hormônio (DIXIT et al., 2004). Nesse sentido, Konturek et al. (2009) e Matuszyk et al. (2015), avaliaram a ação da grelina em diferentes modelos de indução da colite (TNBS e SSD, respectivamente) e observaram a redução dos níveis de MDA bem como a elevação na atividade da SOD nos animais que receberam o hormônio, via i.p. (KONTUREK et al., 2009; MATUSZYK et al., 2015).

Quimicamente, a MEL ou *N*-acetil-5-metoxitriptamina é um derivado do aminoácido essencial triptofano. No TGI, a MEL oriunda da glândula pineal ou da síntese *de novo* que ocorre dentro do próprio TGI, atua de forma direta em muitos tecidos gastrintestinais, tanto nas formas autócrina e parácrina, como também endócrina, influenciando a função e regeneração epitelial, modulando o meio intestinal e reduzindo seu tônus muscular, atuando nas células musculares lisas (TERRY et al., 2009). Como pode ser visto na revisão de Trivedi et al. (2015), existe um grande conjunto de evidências que mostra o efeito protetor da MEL em vários ensaios experimentais e clínicos (TRIVEDI et al., 2015). Ela desempenha um papel importante como regulador da inflamação, bem como na adequação dos sistemas imune e antioxidante nas desordens intestinais (TAKAGI;INADA;NAITO, 2013). Em experimentos animais foi demonstrado que a MEL tem ação anti-inflamatória através da inibição, IFN- γ , TNF- α , IL-6 e \bullet NO. A MEL também apresenta propriedades antioxidantes como sequestrador de radicais livres: reduzindo os níveis de \bullet OH, ONOO \cdot , RO $_2\bullet$ e oxigênio singlete (GALANO;TAN;REITER, 2011); inibindo a expressão de COX2, e a ativação do

NF- κ B (DONG et al., 2003) e da iNOS (PARK et al., 2015). Todos esses resultados em conjunto sugerem que a MEL exerce papel benéfico na RCUI através de redução ou controle da inflamação e EO.

De acordo com Tahan et al. (2011), camundongos que receberam 100 mg.kg.d⁻¹ de MEL, via i.p., por 3 dias, apresentaram redução na produção de EROs, através da inibição da MPO, assim como diminuição nos danos causados pelas EROs, identificado através da redução na concentração colônica de MDA. Ainda nesse estudo, os autores observaram uma melhora na defesa antioxidante não enzimática, com aumento nos níveis de GSH, e enzimática, com estímulo para a atividade da SOD (TAHAN et al., 2011b). Em outro estudo, com camundongos, conduzido por Trivedi et al. (2015), uma menor dosagem de MEL foi testada (1 mg.kg.d⁻¹ i.p. por 8 e 18 semanas), na colite induzida por SSD, e este hormônio também apresentou importantes ações antioxidante e anti-inflamatória, como a redução nas atividades da MPO e COX2, nas expressões colônicas do transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (STAT3) e do NF- κ B, dos níveis colônicos de TBARS e do dano ao DNA (TRIVEDI et al., 2015).

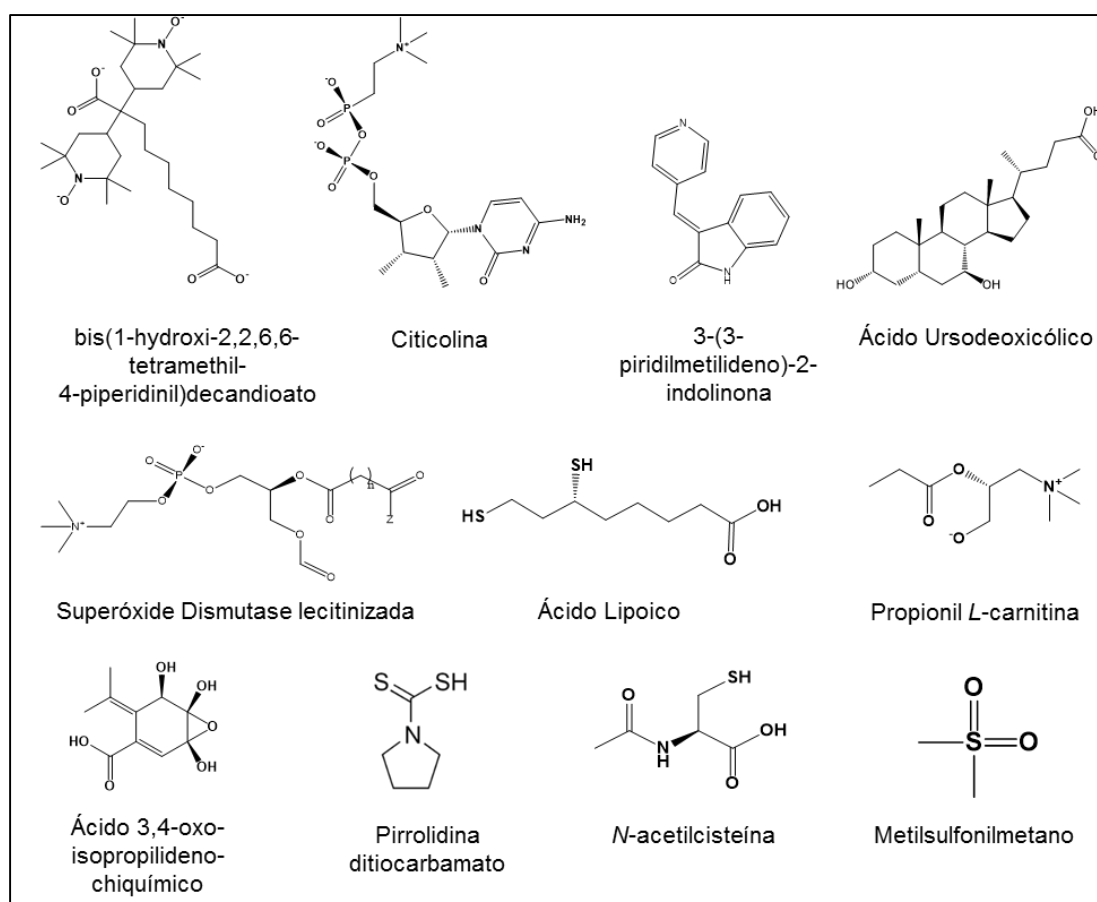
Mudanças no metabolismo também têm sido observadas em portadores da RCUI, em presença de MEL. Essas mudanças estão correlacionadas com a severidade da doença e segundo Chojnacki et al. (2011), a terapia coadjuvante com MEL pode ajudar na manutenção da fase de remissão destes pacientes (CHOJNACKI et al., 2011). Apesar de nenhum desses estudos ter avaliado EO, o benefício potencial da MEL é claro. Estudos clínicos que avaliem os biomarcadores de estresse oxidativo são necessários para ampliar a investigação do mecanismo de ação desse hormônio.

IV. Substâncias sintéticas

Uma substância sintética (pró-droga) com diversos efeitos antioxidantes, testada com sucesso na RCUI foi a *N*-acetilcisteína (NAC) (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**) (Tabela 4). Ela age como precursor da cisteína e posteriormente da GSH. Sendo um tiol (R-SH), a NAC pode ser oxidada por

vários radicais além de servir como um nucleófilo (SAMUNI et al., 2013). A NAC é um antioxidante sintético que tem demonstrado efeitos positivos tanto em modelos experimentais da RCUI (SIDDIQUI et al., 2006; DE ANDRADE et al., 2015), como em ensaios clínicos em seres humanos (GUIJARRO et al., 2008).

Figura 11- Substâncias sintéticas com ação antioxidante testada no tratamento das doenças inflamatórias: artigos publicados entre 2009 a 2016/01.



Fonte: Autora

A redução na capacidade antioxidante no meio intracelular é causada ou por redução nos níveis da GSH ou aumento nas concentrações de GSSG (ATKURI et al., 2007). Baixos níveis de GSH têm sido detectados tanto em portadores da DII, como em modelos animais de indução à colite (AMROUCHE-MEKKIOUI;DJERDJOURI, 2012). A NAC aumenta a defesa antioxidante por meio do fornecimento de cisteína, que é necessária para a síntese de GSH.

Adicionalmente, a NAC reduz os níveis de diversas moléculas reativas ($\cdot\text{OH}$, $\text{NO}_2\cdot$ e radical carbonato $\text{CO}_3\cdot^-$) (SAMUNI et al., 2013), além de ser um importante quelador de metais como cobre, ferro, cádmio, mercúrio e chumbo, os quais têm relação direta com a resposta inflamatória (KASPERCZYK et al., 2014).

As propriedades anti-inflamatória e antioxidante da NAC têm sido observadas também através da inibição do NF- κ B (HADDAD, 2002) e essa propriedade pode contribuir no controle dos sinais e sintomas das DII. Segundo Amrouche-Mekkiouy e Djerdjouri (2012), a administração de 150 mg.kg.d^{-1} de NAC, via oral, por 45 dias, nos intervalos de 3 ciclos de indução de RCUI por SSD, reduziu de forma moderada os efeitos do dano oxidativo sobre lipídeos e proteínas colônicas, diminuiu significativamente MPO colônico e $\cdot\text{NO}$ sérico, e melhorou a defesa antioxidante tecidual através da elevação da GSH e catalase. Esses dados, em conjunto, sugerem que a NAC dietética, administrada por 45 dias, pode ser benéfica para as DII (AMROUCHE-MEKKIOUI;DJERDJOURI, 2012).

Dentro da categoria de “antioxidantes sintéticos e químicos derivados de outras origens, diferentes das fontes vegetais” nossa revisão encontrou produtos naturalmente encontrados no corpo humano ou em outros organismos vivos, não-probióticos. Neste grupo, destaca-se de forma interessante, a SOD modificada e a propionil-L-carnitina (PLC) (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**) (Tabela 4). Ambas as substâncias já se encontram em fase clínica de investigação, em virtude do seu elevado poder terapêutico, contudo, nesta revisão, devido ao tempo determinado de busca, não foram encontradas publicações clínicas que avaliaram biomarcadores do EO e por isso esses estudos não puderam ser incluídos nos resultados descritos na Tabela 4.

Tabela 4- Ação de compostos sintéticos, agentes químicos derivados de fontes não naturais sobre marcadores de estresse oxidativo, nas doenças inflamatórias intestinais: artigos publicados de 2009-2016/01.

SUBSTÂNCIA	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE														
		↓ ERONs		↓ SÍNTESE DAS ERONsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE					
		*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2	CAO
COMPOSTOS SINTÉTICOS																
N-acetilcisteína (NAC)	(AMROUCHE-MEKKIOUI;DJERDJOURI, 2012)	X				X		X				X		X		
	(ANCHA et al., 2009)	X		X	X											
	(ROMAGNOLI et al., 2013)												X			
	(URAZ et al., 2013)					X		X		X			X			
	(YOU et al., 2009)		X			X		X					X			
Bis(1-hydroxi-2,2,6,6-tetrametil-4-piperidinil) decandioato	(VASINA, 2010)					X										
	(VASINA et al., 2009)					X		X								
Ácido 3,4-oxo-isopropilideno-chiquimico (ISA) (derivado do ácido chiquimico (<i>Illicium verum</i> Hook))	(XING, J. et al., 2012)	X		X		X		X								
	(XING et al., 2013)			X	X	X	X	X		X		X				
	(XING, J.-F. et al., 2012)	X		X		X		X		X		X				
3-(3-Piridilmetilideno)-2-indolinona	(WANG et al., 2015)						X								X	
Chito-oligossacarídeo	(AZUMA et al., 2015)			X	X	X	X									
Peptídeo P-317	(SOBCZAK et al., 2014)					X										
Nesfastina-1	(OZTURK et al., 2015)															
Pirrolidina ditiocarbamato	(YIN et al., 2015)						X								-	
AGENTES QUÍMICOS DERIVADOS DE FONTES DIFERENTES DAS VEGETAIS																
Superóxido dismutase recombinante <i>Lactobacillus fermentum</i>	(HOU et al., 2014)				X	X	X			X						
Superoxide Dismutase lecitinizada	(ISHIHARA et al., 2009)				X	X										
Ácido lipoico	(TRIVEDI;JENA, 2013b)			X	X	X	X						X	X		

SUBSTÂNCIA	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE													
		↓ EROns		↓ SÍNTESE DAS EROnsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE				
		*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2
Citicolina	(EK et al., 2014)				X		X					X			
Propionil-L-carnitina	(SCIOLI et al., 2014)	X			X										
Butirato, <i>Lactobacillus casei</i>, e L-carnitina	(MOEINIAN et al., 2014)				X		X							X	
Metilsulfonilmetano (suplemento dietético)	(AMIRSHAHROKHI; BOHLOOLI; CHINIF ROUSH, 2011)				X		X				X		X		
Spirulina (massa seca da <i>Arthrospira platensis</i> - microalga)	(ABDELKHALEK; GHAZY; ABDEL-DAIM, 2014)						X								
	(ABDEL-DAIM et al., 2015)				X		X		X	X		X			
<i>Dunaliella salina</i> (microalga)	(ABDEL-DAIM et al., 2015)				X		X		X	X		X			
<i>Aspergillus nidulans</i> (fungo)	(SINGH et al., 2011)														
<i>Inonotus obliquus</i> (fungo)	(MISHRA et al., 2012)		X		X										
Acido Ursodesoxicólico (ácido biliar secundário)	(MARTÍNEZ-MOYA et al., 2013)		-	-	-										

Legenda: - = não altera; * = estudos em humanos; ↓ = reduz CAO = capacidade antioxidante; CAT = catalase; COX 2 = cicloxigenase tipo 2; DNA = ácido desoxirribonucleico; GPx = glutiona peroxidase; GR = glutiona redutase; GSH = glutiona reduzida; GST = glutiona S-transferase; iNOS = óxido nítrico sintetase induzível; Iκ-Bα = fator nuclear do gene polipeptídeo tipo kappa potencializador de inibidores de células B, alfa; PL = peroxidação lipídica; LPO = lipoxigenase; MPO = mieloperoxidase; NF-κB = fator nuclear Kappa de células B ativadas; *NO = óxido nítrico; NOX = nicotinamida dinucleotídeo fosfato oxidase; Nrf2 = fator nuclear eritroide 2; PTN = proteína; Ref = referência; EROns = espécies reativas de oxigênio e nitrogênio; EROs = espécies reativas de oxigênio; SOD = superóxido dismutase.

Devido à sua elevada capacidade de sequestrar EROs, a SOD tem despertado grande interesse científico. No entanto, esta enzima apresenta tempo de “clearance” celular extremamente rápido, elevada instabilidade, além de imunogenicidade *in vivo*, o que torna seu uso clínico muito limitado (PORFIRE et al., 2014). Por outro lado, várias tentativas de se obter SOD ativa e estável têm sido realizadas, com sucesso, na inflamação pulmonar assim como nas DII (MANNI et al., 2011). Inshihara et al. (2009) utilizaram uma forma lecitinizada da Cu/Zn-SOD (PC-SOD) humana (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), a qual quatro moléculas derivadas da fosfatidilcolina foram covalentemente ligadas a cada dímero da SOD. Esses autores observaram que a PC-SOD, pela via intravenosa (i.v.) diminuiu diversos marcadores inflamatórios, como a MPO e o NF- κ B/p65 (ISHIHARA et al., 2009). De fato, a administração de 40 mg.kg.d⁻¹ de PC-SOD por 14 dias, tem se mostrado segura e eficaz na redução no Índice de Atividade da Doença (IAD), um protocolo utilizado para avaliar a severidade de sinais e sintomas das DII (SUZUKI et al., 2008).

Outra forma de SOD modificada testada nas DII é a SOD recombinante (obtida a partir do *Lactobacillus fermentum*) (rec-SOD). Essa rec-SOD, ofertada via oral, foi capaz de melhorar o desequilíbrio redox através do aumento da defesa antioxidante (SOD), diminuição na PL, e similarmente ao estudo de Inshihara et al. (2009) com a PC-SOD, a rec-SOD também reduziu MPO e a expressão do NF- κ B/p65 intestinais (HOU et al., 2014). Cabe ressaltar que ambos os estudos foram realizados em modelos animais.

A PLC é um éster natural que tem seus níveis reduzidos em portadores de RCUI. Sugere-se que a PLC pode servir como precursor da *L*-carnitina uma molécula que atua como antioxidante e que tem papel essencial no metabolismo energético, uma vez que transporta ácidos graxos de cadeia longa ativados para dentro da matriz mitocondrial, induzindo à β -oxidação (HOU et al., 2014). Em um estudo clínico que já se encontra na fase II, a PLC causou redução nos sintomas (dor e sangramento retal) dos portadores de RCUI, quando comparados ao grupo que recebeu placebo (MIKHAILOVA et al., 2011). Infelizmente, esse estudo clínico multicêntrico não investigou marcadores de EO. Contudo, é possível inferir que, assim como identificado por Scioli et al. (2014), a PLC pode ser um importante agente sequestrador e inibidor da síntese de EROs, uma vez

que esses clássicos sintomas têm na sua gênese o desequilíbrio redox (SCIOLI et al., 2014). Estes estudos, utilizando modelos experimentais e futuros estudos em pacientes com RCUI contribuem para fundamentar o uso clínico da PLC como uma alternativa terapêutica segura, porém doses seguras e estudos de longo prazo, ou seja, que avaliem a ação dessa substância durante a fase assintomática e sintomática, são ainda necessários para garantir uma correta recomendação pelos profissionais de saúde.

b) Polifenóis e outros compostos ativos naturais derivados de plantas medicinais

Polifenóis, ou compostos fenólicos, referem-se a um vasto grupo de moléculas encontradas principalmente em plantas, que se caracterizam quimicamente pela presença de um ou mais anéis fenólicos e um ou mais grupos hidroxila ligados diretamente aos anéis aromáticos. Eles podem ser classificados em cinco grupos estruturais: ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas, estilbenos e lignanas. Um crescente corpo de evidências indica que os polifenóis são fitoquímicos promotores da saúde (WANG et al., 2013). Eles possuem propriedades antioxidantes, atuando diretamente como sequestradores de espécies reativas, ou indiretamente através da interação com proteínas específicas das vias de sinalização que estão envolvidas em diferentes funções biológicas (BIASI et al., 2011).

Polifenóis podem interferir com a indução das vias de sinalização da NF- κ B e MAPK (proteína quinase ativadas por mitógenos) nas células intestinais. A maior parte dos polifenóis estudados exibe comportamento anti-inflamatório através da inibição da ativação da cascata de NF- κ B (ROMIER et al., 2009). Adicionalmente, alguns polifenóis têm demonstrado diferentes ações relacionadas à barreira intestinal. No estudo experimental de Shigeshiro et al. (2013), a administração dos seguintes polifenóis: curcumina, quercetina, naringenina ou hesperetina, levou, coletivamente, a uma restauração dos efeitos causados pelo SSD, em parte, através da regulação da barreira das JO, uma das responsáveis pela manutenção das junções intercelulares entre os

colonócitos, cuja alteração estrutural pode ser causada pelas diversas ERONs. Estas espécies, por sua vez, causando aumento da permeabilidade intestinal com conseqüente infiltração de toxinas, bactérias, leucócitos e neutrófilos, culminando em processo inflamatório colônico (PRAVDA, 2005; PIECHOTA-POLANCZYK;FICHNA, 2014). Apesar de Shigeshiro et al. (2013) não ter demonstrado uma relação direta entre os polifenóis estudados e EO, é sabido que esses compostos podem reduzir os efeitos deletérios causados pela presença de ERONs na mucosa intestinal. As estruturas dos polifenóis testados como antioxidantes na DII podem ser vistas na Figura 12.

I. Resveratrol

Dentre os polifenóis, a classe relacionada ao resveratrol é reconhecida como uma das mais extensivamente estudada. Estes compostos são amplamente distribuídos em todos os alimentos de origem vegetal, tais como uvas roxas, em certos frutos, e em amendoins. Um fator limitante para a utilização de resveratrol no tratamento da DII é a sua baixa biodisponibilidade, devido à sua rápida absorção e metabolismo extensivo no trato gastrointestinal superior e fígado.

A fim de melhorar a sua utilização para o tratamento desta doença, um sistema de liberação de resveratrol, específico para o cólon foi desenvolvido para superar a sua baixa solubilidade, estabilidade limitada, alta metabolização no trato gastrintestinal superior. Essa fórmula apresenta maior eficácia, restaurando e defesa antioxidante enzimática e não enzimática (ABDIN;SARHAN, 2011; DAS;CHAUDHURY;NG, 2011). No entanto, apenas um dos artigos encontrados nesta revisão é um estudo piloto (SAMSAMI-KOR et al., 2015), e este observou importantes efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios especialmente sobre o mediador NF- κ B, confirmando sua possível ação benéfica sobre a RCUI e que esse resveratrol-colon-específico pode, inclusive, apresentar efeitos anticâncer (ULLAH et al., 2014). Em outro estudo, Abdin (2013) investigou o uso de uma formulação de resveratrol-colon-específica em ratos com RCUI e observou uma diminuição expressiva na atividade de MPO (ABDIN, 2013). Resultados similares

também foram observados em outra forma do resveratrol: o *trans*-resveratrol estudado por Larrosa et al. (2010) e Yao et al. (2011) (LARROSA et al., 2010b; YAO et al., 2011).

Apesar destes resultados promissores, a dose de resveratrol capaz de maximizar os benefícios de saúde, sem levantar problemas de toxicidade continua a ser uma área controversa de debate (ROCHA et al., 2009). De fato, vários estudos têm demonstrado que o resveratrol pode ter uma potente toxicidade não específica para células normais, particularmente células endoteliais, em condição de baixo status oxidativo. O resveratrol, em alta concentração, é reconhecido como um composto perigoso e não como um antioxidante, por sua metabolização através de enzimas anti-xenobióticas, produzindo assim EROs (POSADINO et al., 2015). Com base nestas evidências confirma-se a necessidade de determinar as doses ótimas de resveratrol para manter a saúde dos indivíduos.

II. Curcumina

A curcumina, um polifenol hidrofóbico, é o principal representante dos curcuminoides, constituintes químicos principais da especiaria açafrão e do curry em pó (Figura 12) O açafrão é preparado a partir da raiz da planta *Curcuma longa*, um membro da família do gengibre. Ela é nativa da Índia e sudeste da Ásia e tem sido utilizada para tratar uma ampla gama de doenças comuns, especialmente as doenças inflamatórias, tanto nas formas oral como tópica, na medicina ayurvédica indiana, há pelo menos 4000 anos, bem como em medicamentos tradicionais chineses, árabes, dentre outros (EPSTEIN; SANDERSON; MACDONALD, 2010). Seus efeitos benéficos sobre as DII foram observados em modelos animais (HANAI; SUGIMOTO, 2009), em ensaios *in vitro* (MCCANN et al., 2014), e em investigações clínicas (HANAI et al., 2006; JURENKA; ASCP, 2009). Os principais efeitos atribuídos à curcumina estão relacionados às atividades anti-inflamatórias e anticancerígenas. No entanto, na análise da Tabela 5, podemos observar que a curcumina, sozinha, ou em combinação com outras plantas, tais como *Ginkgo biloba*

(MOTAWI;RIZK;SHEHATA, 2012), ou compostos como a aminoguanidina (MOUZAOU;RAHIM;DJERDJOURI, 2012), mostrou efeitos antioxidantes importantes, como a diminuição de PL e da produção de ERONs, bem como aumento de enzimas antioxidantes. Estes resultados confirmam o potencial da mesma como novo tratamento para as DII.

III. Quercetina

A quercetina (Figura 12) foi capaz de prevenir a lesão oxidativa e a morte celular por meio de vários mecanismos, como por exemplo, via sequestro de EROs, e como modulador endógeno de GSH (GUAZELLI et al., 2013). Tem sido relatado que a quercetina desempenha um papel importante na proliferação e cinética de indução de apoptose e o ciclo celular em cultura de células (MOURIA et al., 2002). A capacidade antioxidante da quercetina ocorre sobre diversas moléculas reativas como $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$, RO_2^{\bullet} , RO^{\bullet} , $\bullet NO$ e $ONOO^-$. De acordo com essas propriedades, Dodda et al. (2014) testaram diferentes doses orais de quercetina (50 e 100 mg.kg.d⁻¹), por 10 dias, na RCUI induzida por TNBS. Nesse estudo, os autores afirmaram que ambas as dosagens atenuaram a atividade da MPO e os níveis de MDA no cólon, assim como os níveis séricos de $\bullet NO$. Paralelamente, a quercetina foi capaz de melhorar a defesa antioxidante através da elevação nos níveis de GSH (DODDA et al., 2014). No estudo de Guazelli et al. (2013), a quercetina foi administrada na forma de microcápsulas e também reduziu MPO e aumentou GSH, ambos no cólon, bem como elevou a capacidade antioxidante total (GUAZELLI et al., 2013).

Adicionalmente à sua ação antioxidante direta, alguns polifenóis, como a quercetina, atuam na manutenção da função de barreira intestinal através da inibição da proteína cinase C selectiva δ (PKC δ) (SUZUKI;HARA, 2011), o que resulta na promoção da fosforilação da ocludina de JO da junção intercelular. Embora não se conheça o mecanismo preciso sobre como a quercetina media a promoção de proteínas da JO, fica claro que esse flavonoide induz a fosforilação da ocludina em modelos celulares, contribuindo para a arquitetura das JO (SUZUKI;HARA, 2009).

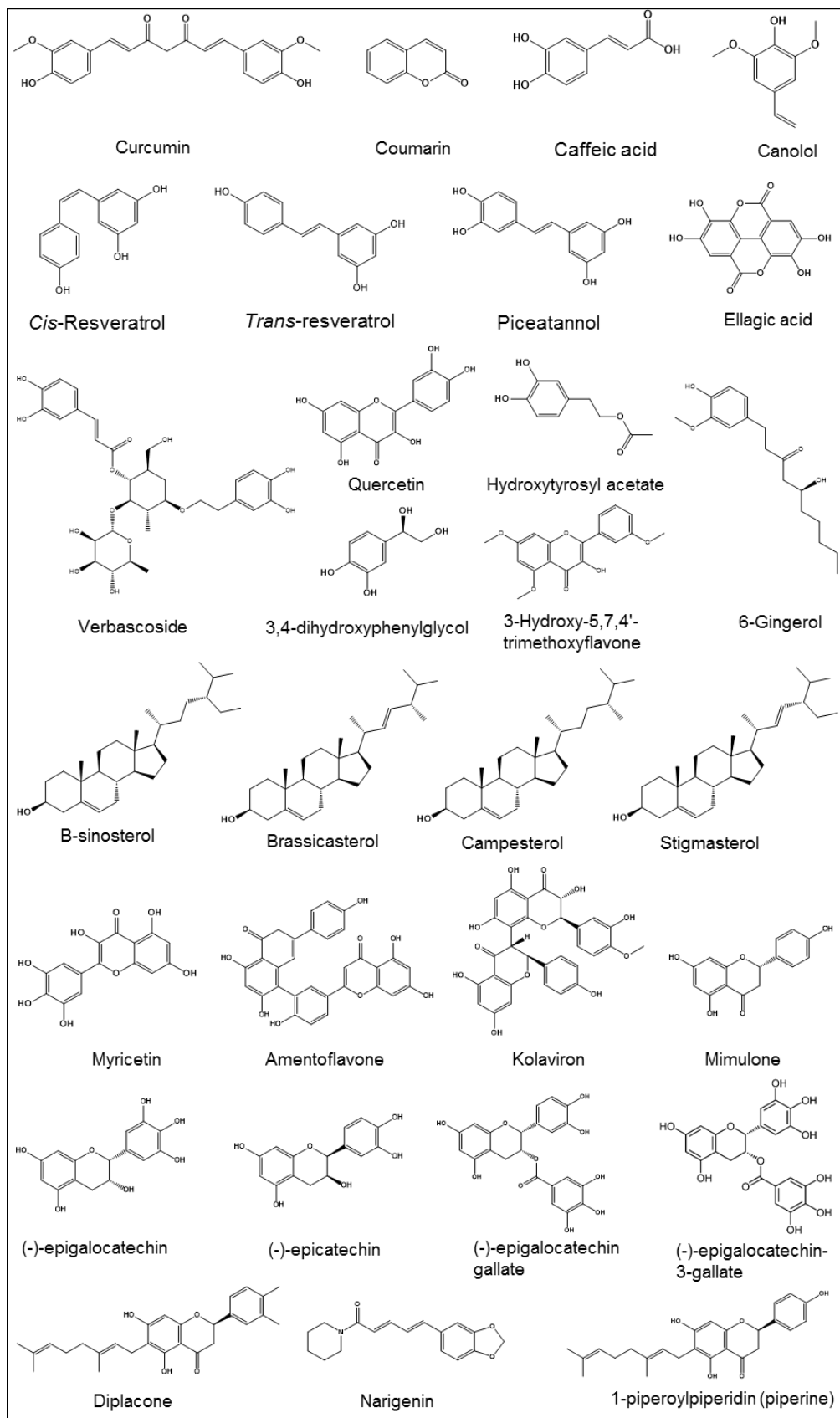
SUBSTÂNCIA	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE														
		↓ EROns		↓ SÍNTESE DAS EROnsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE					
		*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2	CAO
Probiótico recombinante	(GARDLIK;PALFFY;CELEC, 2012)							-	-							
Cepas modificadas de <i>Lactobacillus casei</i> BL23	(LEBLANC et al., 2011)										X	X				
Cepas de <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> B3; Cepas de <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> A13	(SENGÜL et al., 2011)							X			X	X	X	X		
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> FC	(NISHITANI et al., 2009)			X				X								
Ultrabiotique® (<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i> e <i>Bifidobacterium breve</i>).	(TOUMI et al., 2013)	X														
<i>Lactobacillus fermentum</i>	(MANÉ et al., 2009)						X									
TR5 (<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Latobacillus acidophilus</i> , e <i>Latobacillus casei</i>)	(JEONG et al., 2015b)		X	X	X	X	X	X			X					
<i>Lactobacillus pentosus</i> var. <i>plantarum</i> C29	(JEONG et al., 2015a)		X	X	X			X						X		
<i>Lactococcus lactis</i>	(BALLAL et al., 2015)		X								X					
<i>Lactobacillus plantarum</i> 21	(SATISH KUMAR et al., 2015)	X						X						X		
POLIFENÓIS																
Resveratrol colóico específico	(ABDIN, 2013)					X										
Trans-Resveratrol	(LARROSA et al., 2010b)					X										
	(YAO et al., 2010)					X		X			X			X		
Resveratrol	(SINGH et al., 2010)				X											
	(SÁNCHEZ-FIDALGO, Susana et al., 2010)			X	X											
	(SAMSAMI-KOR et al., 2015)*						X									
	(ABDALLAH; ISMAEL, 2011)	X				X		X						X		
	(YOUN et al., 2009)			X			X									
	(YILDIZ et al., 2015)					X		X			-		X			

SUBSTÂNCIA	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE														
		↓ EROns		↓ SÍNTESE DAS EROnsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE					
		*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2	CAO
Piceatanol (análogo hidroxilado do resveratrol)	(YOUN et al., 2009)			X			X									
Ácido cafeico	(YE;LIU;HENDERSON, 2009)					X										
Ácido protocatecuico	(FAROMBI et al., 2015)	X	X	X	X			X					X			
Ácido gálico	(PANDURANGAN et al., 2015b)						X	X			X	X	X	X	X	
Óleo gálico	(BALAHA;KANDEEL;EL WAN, 2016)					X					X			X		
4-Vinil-2,6-dimetoxifenol (canolol)	(FANG et al., 2013)	X			X					X						X
Verbascosídeo	(MAZZON et al., 2009)			X		X		X								
Ácido elágico	(ROSILLO et al., 2011)			X	X	X	X									
	(MARIN et al., 2013)			X	X		X									
β-Sitosterol, campesterol, estigmasterol e brassicasterol	(ALDINI et al., 2014)							X								
Curcumina	(ARAFI et al., 2009)	X				X		X						X		
	(GOPU et al., 2015)							X	X		X	X				
	(TOPCU-TARLADACALISIR et al., 2013)					X		X			X	X	X			
	(MOTAWI;RIZK;SHEHATA, 2012)	X				X										
	(MOUZAOU;RAHIM;DJ ERDJOURI, 2012)			X		X		X								
Coumarina	(WITAICENIS;SEITO;DI STASI, 2010)					X		X						X		X
	(WITAICENIS et al., 2012)					X		X						X		
	(WITAICENIS et al., 2014)					X								X		
GL-V9 (5-hidroxi-8-metoxi-2-fenil-7-(4-(pirrolidina-1-il)butoxi)4H-cromen-4-one	(ZHAO et al., 2015)		X					X			X			X		X
Extrato dos polifenóis da maçã	(D'ARGENIO et al., 2012)				X											
Polifenóis do chá verde	(OZ;CHEN;DE VILLIERS, 2013)													X		

SUBSTÂNCIA	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE														
		↓ ERONs		↓ SÍNTESE DAS ERONsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE					
		*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2	CAO
<i>Epi-galocatequina-3-galato + 1-piperoilpiperidina (piperina)</i>	(BRÜCKNER et al., 2012)					X		X								
Piperina	(GUPTA et al., 2015)	X				X		X			X			X		
<i>Epi-galocatequina-3-galato paracetilada</i>	(CHIOU et al., 2012)			X	X		X									
<i>Epi-galocatequina-3-galato</i>	(MOCHIZUKI;HASEGAWA, 2010)					X										
Proantocianidina de sementes de uva	(LI et al., 2011)					X	X									
	(WANG et al., 2011)						X				X		X			
	(WANG et al., 2010)			X		X	X				X					
Quercetina	(DODDA et al., 2014)	X						X						X		
	(GUAZELLI et al., 2013)					X								X		X
	(JOO, M. et al., 2015)	X				X		X						X		
Diplacona	(VOCHYÁNOVÁ et al., 2015)				X						X	X				
Mimulona	(VOCHYÁNOVÁ et al., 2015)				X											
Amentoflavona	(SAKTHIVEL;GURUVA YOORAPPAN, 2014)			X	X			X			X			X		
Miricetina	(ZHAO et al., 2013)	X				X		X			X		X			
Naringenina (4,5,7-triidroxi flavonona)	(AL-REJAIE et al., 2013)	X						X			X	X				
Kolavirona	(FAROMBI et al., 2013)	X	X					X			X	X		X		
3'-Hidroxi-5,7,4'-trimetoxiflavona da <i>Zeyheria montana</i>	(SEITO et al., 2015)					X								X		
COMPOSTOS NATURAIS DERIVADOS DE PLANTAS																

Legenda: - = não altera; * = estudos em humanos; ↓ = reduz CAO = capacidade antioxidante; CAT = catalase; COX 2 = ciclooxigenase tipo 2; DNA = ácido desoxirribonucleico; GPx = glutiona peroxidase; GR = glutiona redutase; GSH = glutiona reduzida; GST = glutiona S-transferase; iNOS = óxido nítrico sintetase induzível; Iκ-Bα = fator nuclear do gene polipeptídeo tipo kappa potencializador de inibidores de células B, alfa; PL = peroxidação lipídica; LPO = lipoxigenase; MPO = mieloperoxidase; NF-κB = fator nuclear Kappa de células B ativadas; *NO = óxido nítrico; NOX = nicotinamida dinucleotídeo fosfato oxidase; Nrf2 = fator nuclear eritroide 2; PTN = proteína; Ref = referência; ERONs = espécies reativas de oxigênio e nitrogênio; EROs = espécies reativas de oxigênio; SOD = superóxido dismutase.

Figura 12- Polifenóis com ação antioxidante testada no tratamento das doenças inflamatórias: artigos publicados entre 2009 a 2016/01.



Fonte: Autora

IV. Classe das catequinas

Outros importantes polifenóis são os derivados do chá verde, especialmente a fração (-)-*epi*-galocatequina-3-galato (EGCG), que representa até 30% do peso seco das folhas de chá verde (GRAHAM, 1992). O chá verde é uma das bebidas mais populares em todo o mundo, sendo o segundo mais consumido, ao lado da água. Embora o chá verde seja constituído de mais de 2000 componentes, maior interesse tem incidido sobre os polifenóis que incluem EGCG, (-)-*epi*-galocatequina (EGC), (-)-*epi*-catequina galato (ECG) e (-)-*epi*-catequina (CE) (Figura 12), os quais têm potentes propriedades antioxidantes (SALAH et al., 1995).

A fim de melhorar a biodisponibilidade, estabilidade, e as atividades preventivas do EGCG, a forma EGCG-acetilada (AcEGCG) foi sintetizada por Lambert et al. (2006) (LAMBERT et al., 2006) e, posteriormente testada na RCUI por Chiou et al. (2012). De acordo com esses últimos autores, o consumo dietético da AcEGCG demonstrou melhores efeitos sobre a RCUI induzida por SSD (CHIOU et al., 2012). As ações antioxidantes da EGCG podem ser explicadas por diversos mecanismos, dentre eles, a ativação da via de sinalização mediada pelo Nrf2. Apesar disso, nenhum dos estudos encontrados avaliou a ação da EGCG sobre a atividade ou expressão de enzimas antioxidantes. Mas, assim como a quercetina, foi observado que a EGCG melhora as JO da barreira epitelial. Contudo, os mecanismos que explicam essa ação permanecem incertos (SHIGESHIRO; TANABE; SUZUKI, 2013).

Sobre as proantocianidinas/sementes de uva, foram encontrados 3 artigos que avaliaram seus efeitos sobre a RCUI. As sementes de uva contém aproximadamente 89% de protoantocianidinas, com dímeros (6,6%), trímeros (5,0%), tetrâmeros (2,9%) e oligômeros (74,8%) (KATIYAR, 2014). Os efeitos antiproliferativo, antioxidante e anticarcinogênico das GSPs podem ser explicados, parcialmente, pela sua ação na inibição de genes relacionados ao NF- κ B (WANG et al., 2010; LI et al., 2011; WANG et al., 2011). De acordo com Li et al. (2011), é possível considerar que as proantocianidinas suprimem a ativação dos inibidores da κ B quinase (I κ B), e a inativação do complexo I κ K e,

por conseguinte, inibem a degradação da $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ (LI et al., 2011). Esses polifenóis também são capazes de elevar as concentrações de SOD (WANG et al., 2010; WANG et al., 2011), o que confirma sua ação sobre a defesa antioxidante enzimática.

V. Outros polifenóis

Miricetina, naringenina, kolavirona e amentoflavona (Figura 12) também foram testados com sucesso no tratamento das DII (modelos animais). Esses compostos foram administrados via oral (BAGHAEI et al., 2010; HALLER et al., 2010; CIRULIS;SCOTT;ROSS, 2013), ou i.p. (SAKTHIVEL;GURUVAYOORAPPAN, 2014), e independente da rota utilizada, a maioria desses flavonoides mostrou habilidade em sequestrar radicais livres, especialmente o $\cdot\text{NO}$ (AL-REJAIE et al., 2013; FAROMBI et al., 2013; ZHAO et al., 2013; DODDA et al., 2014), reduzir a PL (AL-REJAIE et al., 2013; FAROMBI et al., 2013; ZHAO et al., 2013; DODDA et al., 2014; SAKTHIVEL;GURUVAYOORAPPAN, 2014), estimular a defesa antioxidante, principalmente através da ativação da SOD (AL-REJAIE et al., 2013; FAROMBI et al., 2013; ZHAO et al., 2013; DODDA et al., 2014; SAKTHIVEL;GURUVAYOORAPPAN, 2014) e GSH (FAROMBI et al., 2013; GUAZELLI et al., 2013; DODDA et al., 2014; SAKTHIVEL;GURUVAYOORAPPAN, 2014). Analisando esses resultados, o potencial terapêutico para o uso de flavonoides parece evidente. No entanto, deve ser salientado que concomitante aos efeitos benéficos, muitos possuem propriedades pró-oxidativas e que alguns têm potencial de toxicidade (SCHWEIGERT;ZEHNDER;EGGEN, 2001). Além disso, em virtude desse poder antioxidante ter sido testado apenas em modelos animais, ensaios clínicos são necessários para determinar a eficácia dos flavonoides, não só na fase aguda DII, mas também na fase de remissão, a fim de promover uma melhor qualidade de vida para pacientes com DII.

VI. Compostos naturais derivados de plantas

Outras substâncias naturais, derivadas de plantas, com elevado poder antioxidante têm sido identificadas. Uma metanálise recente sobre fitoterápicos em seres humanos, concluiu que plantas medicinais podem, de forma segura, induzir a resposta clínica e levar à fase de remissão em pacientes com DII (índice histológico e eventos adversos) (RAHIMI;NIKFAR;ABDOLLAHI, 2013). Por outro lado, nenhum parâmetro relacionado ao EO foi investigado. Além disso, nenhum extrato ou composto natural foi até o momento recomendado por sociedades internacionais de Terapia Nutricional, como terapia adjuvante para as DII (CARTER;LOBO;TRAVIS, 2004; KORNBLUTH;SACHAR, 2010).

Nesta revisão, foram identificados 24 compostos ativos testados em terapia nas DII (Tabela 5) (Figura 13), todos eles em modelos animais, com destaque para: 1) o pigmento indicaxantina, cuja atividade *in vitro*, envolve redução nas expressões da COX2 e iNOS, aliada à inativação da via do NF- κ B e, conseqüentemente, inibição na síntese das ERONs; além de apresentar atividade sequestrante de radicais livres (TESORIERE et al., 2014); 2) o alcaloide berberina, obtido do rizoma *Coptidis japonica* e da casca do caule do *Mahonia aquifolium*, cuja ação antioxidante na RCUi induzida por TNBS, envolve redução na produção das ERONs (através da inibição da COX2, iNOS e MPO) associada à diminuição do MDA e elevação da SOD, catalase e GSH (LEE;HYUN;KIM, 2010); 3) e os compostos ativos da *Cannabis sativa*, cannabigerol (BORRELLI et al., 2013) e cannabidiol (BORRELLI et al., 2009) (Figura 13), que apresentam ações não psicotrópicas e elevado poder antioxidante como “varredores” de ERONs e inibidores da expressão da enzima iNOS.

Apesar das diferentes alterações identificadas para defesa antioxidante, os compostos ativos utilizados no tratamento das DII foram capazes de melhorar o desequilíbrio redox, reduzindo o EO, através ou do aumento da defesa antioxidante ou diminuindo a síntese ou os danos causados pelos ERONs.

Assim, a identificação e caracterização de novos componentes anti-inflamatórios e antioxidantes derivados de plantas podem ajudar na melhoria de atuais fórmulas nutricionais.

Em face desta evidência, é possível afirmar que a terapia à base de plantas mostra resultados benéficos para a inflamação e EO, em modelos animais.

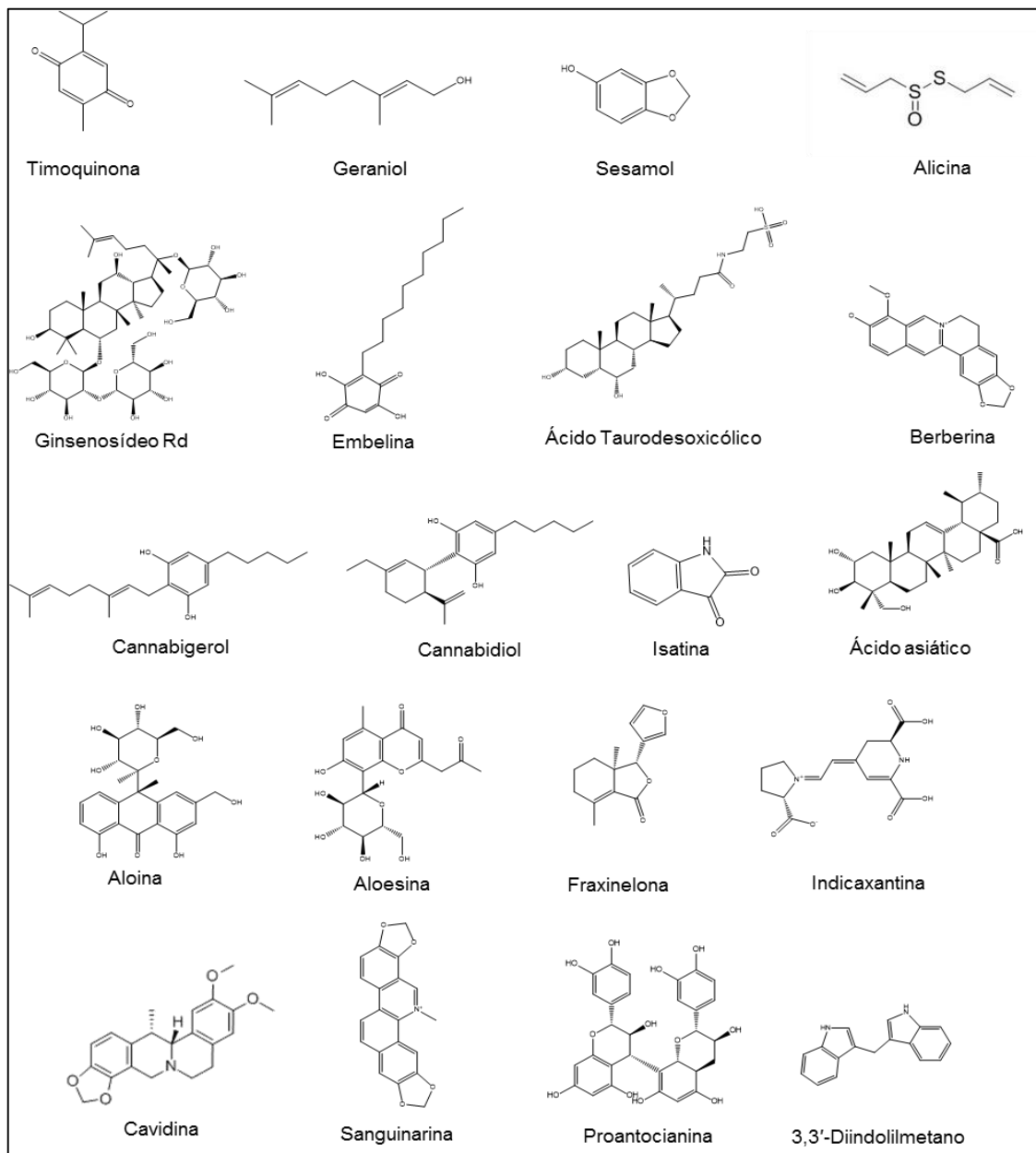
c) Alimentos funcionais, nutrientes antioxidantes e probióticos

O impacto dos alimentos funcionais sobre o curso das DII foi examinado por um pequeno número de fatores dietéticos específicos (Tabela 5).

I. Leite de camela

O leite de camela (LC) pode representar um potencial candidato à eficácia não farmacológica nas DII com reações adversas mínimas (ARAB et al., 2014b). Diferentemente de outros leites de ruminantes, este alimento é rico em diversos minerais (cálcio, ferro, magnésio, cobre e zinco), vitaminas (A, B2, C e E) e insulina e apresenta baixa concentração de gordura, colesterol, proteínas e açúcares (DARWISH; ABD RABOH; MAHDY, 2012). Ele também contém uma quantidade relativamente elevada de ácidos graxos poli-insaturados e linoleico, que são essenciais para a nutrição humana (AL HAJ; AL KANHAL, 2010). No que diz respeito ao elevado risco de má nutrição no decurso da DII, o suporte nutricional desempenha um papel crucial no tratamento destes pacientes. O LC tem sido consumido como um suplemento nutricional essencial com alta densidade energética e rico conteúdo de vitaminas para ajudar os pacientes imunodeficientes (ARAB et al., 2014b). A síndrome de má absorção tem sido identificada como um potencial desencadeante de sintomas das DII, tais como a dor abdominal, inchaço e distensão, hábitos intestinais alterados e desnutrição (BARRETT et al., 2009; WIECEK et al., 2014).

Figura 13- Compostos naturais derivados de plantas com ação antioxidante testada no tratamento das doenças inflamatórias: artigos publicados entre 2009 a 2016/01



Fonte: Autora

Além das suas diversas propriedades antioxidantes, o LC é rico em lactoferrina, uma proteína com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (LEGRAND et al., 2005). Em vista dessas características, Arab et al. (2014), avaliaram os efeitos do LC (10 mL.kg.d^{-1}) administrado por gavagem, uma semana antes da indução da colite e no 4º dia pós indução com TNBS. Uma

atenuação nas lesões colônicas, através da supressão do EO via redução da PL (identificada pelos menores níveis de MDA), síntese de ERONs (níveis reduzidos de ON[•] e de MPO), aliado a uma restauração da defesa antioxidante (elevação na capacidade antioxidante e nos níveis de GSH) foram observados no grupo que recebeu o LC (ARAB et al., 2014b).

Nesse sentido, mais estudos são necessários para avaliar a eficácia do LC como terapêutica adjuvante nas diversas fases das DII.

II. Azeite de oliva extra virgem

Outro alimento funcional que pode apresentar efeitos benéficos nas DII sem os efeitos indesejáveis que acompanham a farmacoterapia clássica é o azeite de oliva extra virgem (AOEV) (SÁNCHEZ-FIDALGO, S. et al., 2010). Ele é um ingrediente típico da dieta mediterrânea. É obtido a partir do fruto da oliveira unicamente por meios mecânicos ou outros meios físicos, em condições que não levam a alterações do óleo (SÁNCHEZ-FIDALGO et al., 2013b). O consumo desse azeite aumenta a atividade de enzimas antioxidantes tais como SOD, catalase e GPx e conseqüentemente atenua as DII (OLIVERAS-LÓPEZ et al., 2008; OLIVERAS-LÓPEZ et al., 2014). A função protetora do AOEV é o resultado da sua composição específica, incluindo proporções elevadas de ácidos graxos mono-insaturados (ácido oleico), uma presença equilibrada de ácidos graxos poli-insaturados e outros componentes menores, tais como o α -tocoferol, compostos fenólicos (CONDELLI et al., 2015), desde os simples fenóis (hidroxitirosol e tirosol), aldeídos secoiridoides, flavonoides e lignanas (acetoxipinoresinol, pinoresinol) (SÁNCHEZ-FIDALGO, S. et al., 2010).

Estudos anteriores têm demonstrado que portadores das DII têm risco elevado de desenvolver CCR. Estudos experimentais têm indicado que lipídeos dietéticos desempenham um importante papel no desenvolvimento do câncer, particularmente no tumor colônico (ITZKOWITZ, 2006). Por exemplo, demonstrou-se que as dietas ricas em gordura do tipo ômega 6 (ω 6) e ácidos graxos saturados promovem carcinogênese, enquanto que as dietas ricas em

ômega 3 ($\omega 3$) apresentam um efeito protetor (DAVIDSON et al., 2004; OWEN et al., 2004). Considerando que a inflamação crônica é um fator chave que predispõe ao aparecimento do CCR em portadores das DII, Takashima et al. (2014) avaliaram o AOEV dietético (5%) ofertado por 5 semanas a animais com colite induzida por SSD. No grupo suplementado foi observada supressão na expressão colônica da COX2 e iNOS (TAKASHIMA et al., 2014). Cabe ressaltar que a COX2 é expressa em resposta a fatores de crescimento (fator de crescimento transformador α), citocinas pró-inflamatórias (IL-1 α) (MÜLLER-DECKER; FÜRSTENBERGER, 2007), enquanto que a iNOS produz elevada quantidade de NO que se relaciona com iniciação, promoção e progressão de tumores (KAWANISHI et al., 2006). Esse estudo indicou que o consumo crônico de 5% de AOEV atenua de forma significativa, os danos causados pelo SSD (TAKASHIMA et al., 2014).

Como já demonstrado, compostos fenólicos são reconhecidos por seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antiproliferativos, antiarrítmicos, antiagregantes plaquetários e vasodilatadores, bem como sua capacidade de modular importantes vias de sinalização celular. Sendo assim, o AOEV apresenta um notável poder antioxidante decorrente da elevada concentração destes compostos (OLIVERAS-LÓPEZ et al., 2014), em sua constituição. Sánchez-Fidalgo et al. (2015) investigaram os efeitos do AOEV enriquecido com alguns polifenóis – o acetato de hidroxitirosila (HTy-Ac) e o 3,4-diidroxifenilglicol – ambos fornecidos dieteticamente na concentração de 0,1% (volume dietético), por 30 dias antes da indução aguda da RCUI com SSD. Apenas o grupo suplementado com HTy-Ac apresentou expressão reduzida para COX e iNOS. Adicionalmente, neste mesmo grupo foi identificado um bloqueio na via sinalizada pelo NF- κ B, melhora na função antioxidante através da inibição na atividade da MPO, e diminuição na infiltração intestinal de neutrófilos polimorfonucleares (SÁNCHEZ-FIDALGO et al., 2015).

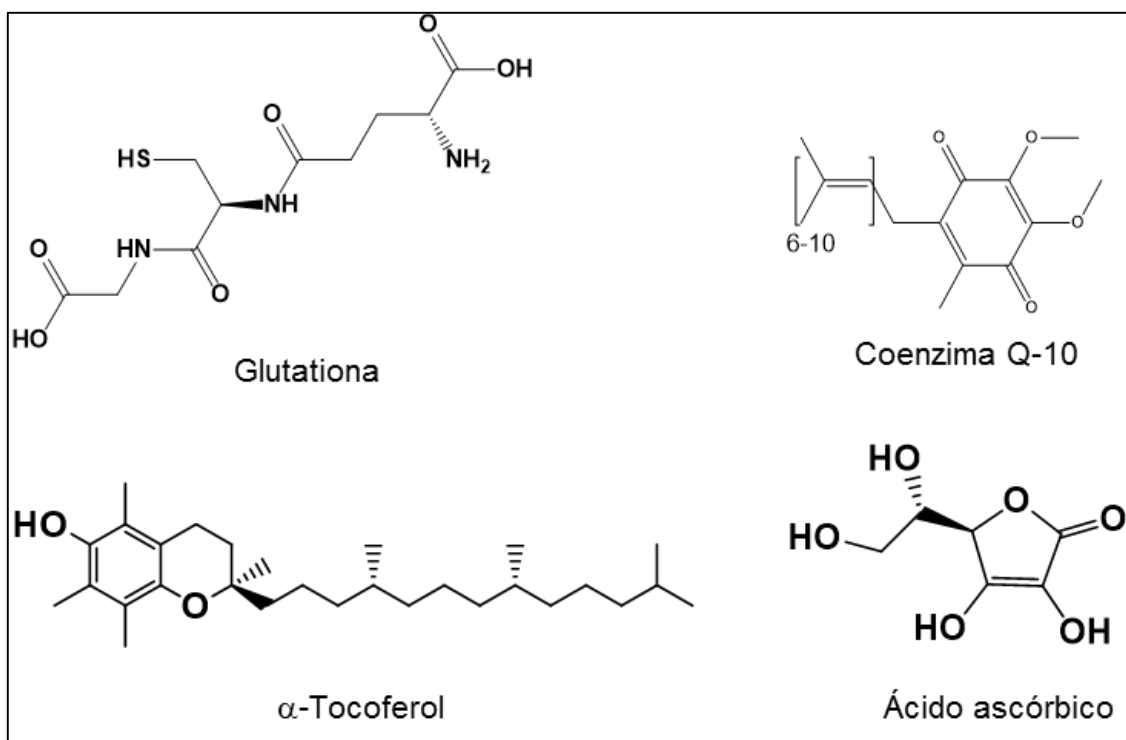
Dado o número reduzido de experimentos, abordando a atividade protetora do AOEV no CCR, as propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes dos compostos presentes neste alimento, estudos experimentais e clínicos adicionais são necessários, a fim de investigar se a ingestão do azeite de oliva

e quais doses são eficazes para atenuar OS e inflamação em portadores da RCUI.

III. Nutrientes antioxidantes

Alguns micronutrientes encontrados em alimentos, tais como α -tocoferol, a vitamina E (vit E) e o ácido ascórbico (vit C) (Figura 14), agem como defesas antioxidantes exógenas. Por esta razão, alimentos ricos em antioxidantes ou antioxidantes administrados como suplementos são aplicados em larga escala, na tentativa de aliviar os danos induzidos pelas ERONs e pela apoptose, tais como, alteração na modulação da resposta imune e imunidade inata, dentre outros (SEIFRIED et al., 2007).

Figura 14- Nutrientes com ação antioxidante testada no tratamento das doenças inflamatórias: artigos publicados entre 2009 a 2016/01.



Fonte: Autora

A vit E é o termo geral que abrange todos os tocoferóis e tocotrienóis biologicamente ativos e seus derivados (Figura 13). Numerosos efeitos benéficos à saúde têm sido propostos para a vit E, que são atribuídos a sua atividade antioxidante (VROLIJK et al., 2015). Nesse sentido, a vit E está associada com risco reduzido de doença cardíaca (JOSHIPURA et al., 2001) e do câncer de cólon (BOSTICK et al., 1993).

Quimicamente, a vit E é uma vitamina lipossolúvel, biologicamente ativa em tecidos e no plasma. Tocoferóis, portanto, protegem membranas lipídicas por extinguir/eliminar o oxigênio singlete (e potencialmente outras EROs, como a $\cdot\text{OH}$) (KAMAL-ELDIN;APPELQVIST, 1996).

O principal obstáculo à utilização da vit E no tratamento de doenças inflamatórias agudas tais como a RCUI, é a sua baixa solubilidade na água, dificultado sua ingestão oral, uma vez que a maioria dos veículos é hidrossolúvel, ou a administração por enema nos pacientes. Portanto, o uso de derivados de Vit E, como acetato de tocoferol e fosfato de α -tocoferol, que são mais solúveis em água (MIRBAGHERI, 2008), têm sido preferidos como suplementos dietéticos.

Apesar do efeito benéfico da vit C, que contribui para a regeneração da vit E (PACKER;WEBER;RIMBACH, 2001), estudos *in vivo* têm demonstrado resultados contraditórios, quando essa vitamina é administrada com outros antioxidantes. De acordo com Özkan et al. (2005), vit E, vit C e ácido lipoico (ALA) protegeram da lipoperoxidação, o ácido araquidônico presente no cérebro de ratos diabéticos e não diabéticos (ÖZKAN et al., 2005). Contudo, quando combinada com elevadas doses de vit E e de óleo de girassol oxidado, a vit C apresentou efeitos pró-oxidantes (ROUAKI et al., 2013).

α -Tocoferol pode ser utilizado sozinho (TAHAN et al., 2011a) ou em combinação com outros nutrientes (BITIREN et al., 2010; SCHEPENS et al., 2011). Os resultados mostraram ausência de efeito antioxidante no cólon, quando a Vit E foi utilizada com a Vit C e GSH (SCHEPENS et al., 2011). Algumas metanálises têm mostrado que os suplementos antioxidantes não resultam em benefício na saúde, mas, paradoxalmente, uma alta ingestão de antioxidantes está associada a um aumento da mortalidade (BJELAKOVIC et al.,

2007; MYUNG et al., 2010). Essas observações sugerem um efeito pró-oxidante dos antioxidantes e parece que esse efeito deletério está associado a mutações no Nrf2 (PERERA;BARDEESY, 2011).

Outros nutrientes importantes para a manutenção da homeostase intestinal são selênio (Se) e zinco (Zn), elementos essenciais para a reestruturação das enzimas antioxidantes, como GPx e SOD. O Se presente na GPx, que é essencial para combater EROs e para regenerar adipócitos por reacilação. Por outro lado, o Zn como um cofator da SOD também está envolvido com a defesa oxidante. Quando este mineral foi utilizado em combinação com a Vit E (BITIREN et al., 2010) ou com o anti-TNF α (um fármaco preconizado especialmente para o tratamento da DC) (BAROLLO et al., 2011), um improvável desequilíbrio redox foi observado tanto no plasma como no cólon (Tabela 5).

Entretanto, é fundamental antes de uma prescrição de qualquer antioxidante, compreender que cada substância tem seu próprio perfil bioquímico e que, por isso, os antioxidantes não devem ser tratados como uma classe única (VROLIJK et al., 2015).

Recentemente, em revisão conduzida por Di Stasi, Costa e Witaicenis (2015) avaliaram-se patentes focadas em compostos químicos, alimentos funcionais e terapia biológica útil para o tratamento da DII. O artigo selecionou 33 produtos patenteados durante o período 2013-2014 e apenas um deles foi incluído nesta revisão, o ALA. No entanto, os autores fazem críticas sobre a qualidade das patentes, uma vez que a maioria delas não são conclusivas, porque foram baseadas em dados de métodos específicos que não estão relacionados à inflamação intestinal. Além disso, estudos clínicos têm sido raramente descritos, limitando fortemente a sua avaliação e aplicabilidade médica (DI STASI;COSTA;WITAICENIS, 2015).

IV. Probióticos

Nos últimos anos, um interesse crescente na hipótese de que a disbiose intestinal pode resultar na deficiência imunológica associada às DII, resultou em

vários estudos sobre probióticos e prebióticos. As bactérias probióticas podem ser definidas como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (HALLER et al., 2010).

A ação antioxidante dos probióticos pode estar relacionada à eliminação de EROs, à quelatação de ions metálicos, à inibição de enzimas e à redução/inibição da auto-oxidação do ascorbato (LIN;YEN, 1999; TALWALKAR;KAILASAPATHY, 2003), bem como à síntese de enzimas antioxidantes por bactérias utilizadas nas fórmulas (LEBLANC et al., 2011).

O poder antioxidante dos probióticos tem sido demonstrado em indivíduos saudáveis através do aumento da capacidade antioxidante total, que avalia a capacidade da amostra em inibir a PL, e do status antioxidante total, que avalia a inibição do radical ferrilmioglobina relacionado a geração do H₂O₂ (SONGISEPP et al., 2005), na doença cardiovascular via redução na síntese de ERO (NARUSZEWICZ et al., 2002), e na doença hepática gordurosa não alcohólica em crianças (YANG et al., 2014).

Em um recente estudo *in vivo* e *in vitro* conduzido por Amaretti et al. (2013), que avaliou a eficácia dos *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, os autores identificaram que, dada a colonização do cólon pelos probióticos administrados, é concebível que o seu efeito protetor global pode estar relacionado com as atividades que ocorrem em nível intestinal, isto é, a secreção de enzimas como a SOD, as atividades quelantes de metais, a promoção da produção de biomoléculas, tais como exopolissacarídeos antioxidantes que têm demonstrado, *in vitro*, atividades antioxidantes e de "varredor" de radicais livres (AMARETTI et al., 2013).

Mesmo que um agente patogênico específico não tenha ainda sido identificado como um fator etiopatogênico e uma causa infecciosa definitiva não possa ser considerada por si só, o envolvimento da microbiota intestinal na patogênese destas doenças é geralmente reconhecido (CAMMAROTA et al., 2015). Vários estudos em pacientes com RCUI têm demonstrado efeitos anti-inflamatórios e melhoria dos marcadores clínicos como um resultado da utilização de probióticos, em especial *Escherichia. coli* Nissle 1917, VSL#3,

Lactobacilli e/ou *Bifidobacteria* (HALLER et al., 2010). No entanto, para a DC, nenhum benefício tem sido confirmado e por isso, seu uso não é recomendado (RAHIMI et al., 2008).

Apesar dos 14 estudos identificados nessa revisão serem todos em modelos animais, resultados importantes sobre o perfil redox foram observados, especialmente sobre a elevação da SOD, catalase, GPx (LEBLANC et al., 2011; SENGÜL et al., 2011), GSH (SENGÜL et al., 2011), bem como redução na MPO (TOUMI et al., 2013), •NO (MAÑÉ et al., 2009), MDA e danos proteicos (SIMEOLI et al., 2015).

No entanto, um resultado notável foi obtido por Gardlik et al. (2012) usando probióticos recombinantes. Segundo esses autores, apesar da não elevação dos níveis de MDA e de AGEs observados no grupo com colite induzida por SSD, a administração de todas as cepas de *E. coli* reduziram estes parâmetros, quando comparados ao grupo de controle (GARDLIK;PALFFY;CELEC, 2012). Este resultado sugere uma potencial ação antioxidante causada por probióticos e a utilização diária de 200 mg de *E. coli* Nissle 1917 (Mutaflor) pode ser uma opção para pacientes com RCUI, que não têm indicação ou não querem tomar mesalazina, como recomendado pela Sociedade de Gastroenterologia Britânica (MOWAT et al., 2011).

Outros resultados promissores foram observados por Simeoli et al. (2015), usando um simbiótico (*L. paracasei* + frutoligossacarídeos e arabinogalactana) na RCUI induzida por SSD. Esses autores confirmaram que essa formulação se mostrou efetiva não só na redução do dano oxidativo, como também na inflamação colônica e que isto se deveu à ação combinada entre pró e prebióticos (SIMEOLI et al., 2015).

Outra forma interessante e eficaz para garantir a manutenção das características protetoras dos probióticos é o uso de alimentos enriquecidos com esses microrganismos, em especial os produtos lácteos. Neste contexto, Plé et al. (2015) formularam um leite enriquecido com *Lactobacillus delbrueckii* e um queijo acrescido de *L. delbruecki* e *Propionibacterium freudenreichii*. Os resultados encontrados chamam a atenção para a efetividade destes componentes no tratamento da RCUI, visto que mudanças importantes foram

vistas em todos os quesitos analisados (histológicos, inflamatórios, oxidativos, imunológicos e de microflora intestinal) o que, segundo os autores, suportam evidências para um estudo piloto com pacientes portadores de RCUI (PLE et al., 2015).

No entanto, uma das dificuldades encontradas nesta revisão, em relação a estes nutracêuticos foi a diversidade de cepas bacterianas e doses terapêuticas utilizadas. Portanto, é fundamental investigar novas possibilidades terapêuticas de todos os probióticos para a DII, incluindo o seu potencial antioxidante.

d) Plantas medicinais

O uso de plantas medicinais e seus componentes ativos vem se tornando uma abordagem cada vez mais atraente para o tratamento de várias desordens inflamatórias entre os pacientes que não respondem ou que não querem tomar medicamentos tradicionais. Derivados de alimentos têm a vantagem de ser relativamente não tóxicos (BENGMARK, 2006).

O interesse científico na capacidade terapêutica de plantas e extratos vegetais pode ser verificado na Tabela 6 em que 56 artigos estudaram 54 plantas medicinais e registraram excelentes resultados no tratamento das DII. Aqueles que apresentaram ações antioxidantes mais amplas (sobre mais biomarcadores) foram: *Acacia ferruginea* (SAKTHIVEL;GURUVAYOORAPPAN, 2014), *Terminalia chebula* (GAUTAM et al., 2013), *Punica granatum* (SINGH;JAGGI;SINGH, 2009; LARROSA et al., 2010a), *Rhizophora apiculata* (PRABHU;GURUVAYOORAPPAN, 2014), e a *Bauhinia tomentosa* (KANNAN;GURUVAYOORAPPAN, 2013). Estes extratos contêm vários compostos ativos (flavonoides, taninos, polifenóis, saponinas, terpenos e outros fitoquímicos), que podem atuar simultaneamente em diferentes partes da cascata inflamatória e oxidativa e são geralmente considerados seguros, já que têm sido consumidos por gerações (ALGIERI et al., 2013).

Chama a atenção, nesse sentido, que a combinação dessas substâncias naturais, incluindo algumas ainda desconhecidas pela comunidade científica, possa atuar sinergicamente na redução da inflamação, controle dos sintomas

como diarreia e dor abdominal, minimização de lesões como as úlceras de mucosa, dentre outros., e por isso, sejam usadas por culturas tão antigas, como é o caso da China (XU;ZHANG;JI, 2015) (HAN et al., 2011; CHEN et al., 2015). Porém, mesmo com esse uso, por vezes milenar, e tendo sua ação “comprovada” como terapia popular, a ciência tradicional deve sempre buscar esclarecer mecanismos de ação, efeitos em órgão além daqueles que fazem parte do TGI, como fígado, vesícula, rins, uma vez que seu metabolismo pode modificar segundo a rota de administração (se i.p., oral, enema) e metabolização utilizadas, para que o uso dessas plantas medicinais seja realizado com segurança.

Tabela 6- Ação de plantas medicinais sobre marcadores de estresse oxidativo nas doenças inflamatórias intestinais: artigos publicados de 2009-2016/01.

PLANTA MEDICINAL	COMPOSTOS ATIVOS	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE														
			↓ ERONs		↓ SÍNTESE DAS ERONs			↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE						
			*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2	CAO
<i>Pfaffia paniculata</i> (Brazilian ginseng)	Triterpenos, saponinas + polifenóis, flavanoides, alcaloides	(COSTA et al., 2015)					X								X		
<i>Calculus bovis sativus</i> (Niuhuang)	Ácido cólico, desoxicólico, colesterol	(LI et al., 2015)					X		X			X					
<i>Raphanus sativus</i>	Vit C, tocoferol e polifenóis	(CHOI et al., 2015)					X										
<i>Sasa quepaertensis</i>	Aminoácidos, polifenóis, (ácido <i>p</i> -cumárico e tricina)	(YEOM;KIM, 2015)							X		X	X	X	X			
<i>Acacia ferruginea</i> <i>Acacia</i>	Flavonoides, compostos fenólicos, esteroides, terpenoides, alcaloides, saponinas e taninos	(SAKTHIVEL; GURUVAYOO RAPPAN, 2014)	X		X	X		X				X			X		
<i>Agave americana</i>	Saponinas, pectina	(MANNASAH EB et al., 2015)				X	X										
<i>Terminalia chebula</i>	Taninos, compostos fenólicos, triterpenoides	(GAUTAM et al., 2013)	X				X		X			X	X		X		
<i>Withania somnifera</i>	Withanolídeos	(PAWAR et al., 2011)	X	X					X				X				
<i>Cordyceps militaris</i>	Adenosina e polissacarídeos	(HAN;OH;PARK, 2011)	X		X				X								
<i>Ziziphora clinopoides</i>	Flavonoides	(AMINI-SHIRAZI et al., 2009)	X						X			X	X				X
<i>Patrinia scabiosaefolia</i>	Flavonoides e ácidos fenólicos (ácidos oleanônico, oleanólico e ursólico)	(CHO et al., 2011)			X		X								X		X
<i>Phlomis lychnitis</i>	Sesquiterpenoides, diterpenoides, triterpenoides,	(ALGIERI et al., 2013)			X		X								X		X
<i>Phlomis purpurea</i>		(ALGIERI et al., 2013)			X		X								X		X

PLANTA MEDICINAL	COMPOSTOS ATIVOS	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE													
			↓ EROns		↓ SÍNTESE DAS EROnsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE				
			*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2
	triterpenos saponinas e flavonoides															
<i>Gymnema sylvestre</i>	Ácido gimnêmico e antraquinonas	(ALEISA et al., 2014)	X							X					X	
<i>Hymenae astigonocarpa</i>	Taninos condensados e flavonoides	(ORSI;SEITO; DI STASI, 2014)					X		X						X	
<i>Euphorbia granuleta</i>	Compostos não polares ((S1;1-eto xipentacosano, S2: heptacosan-1-ol + S3: b-sitosterol) e flavonoides (S4; kaempferol, S5; kaempferol-3-glucosídeo + S6: kaempferol-3-galactosídeo)	(AWAAD et al., 2013)					X									
<i>Aegle marmelos</i> fruit	Ácido fenólico e flavonoides	(KASINATHAN et al., 2014)					X	X								X
<i>Vaccinium Macrocarpon</i> (Cranberrie)	Flavonoides e proantocianidinas	(XIAO et al., 2015)					X									
<i>Boswellia serrata</i>	Alcaloides, terpenoides, taninos, fenóis, saponinas e triterpenos pentacíclicos	(HARTMANN et al., 2014)	X		X					X						
<i>Teucrium persicum</i>	-	(ABDOLGHAF FARI et al., 2010)					X		X							X
<i>Rhizophora apiculata</i>	Flavonoides, taninos, catequinas, antraquinonas, ácido pirolignoso e siringol	(PRABHU;GURUVAYOORAPPAN, 2014)	X		X	X	X	X	X			X			X	
<i>Avicennia marina</i>	Esteroides, diterpenos, triterpenos, saponinas, flavonoides, alcaloides e taninos	(RISE;PRABHU;GURUVAYOORAPPAN, 2012)	X							X		X		X	X	

PLANTA MEDICINAL	COMPOSTOS ATIVOS	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE														
			↓ EROns		↓ SÍNTESE DAS EROnsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE					
			*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2	CAO
Pomegranate (<i>Punica granatum</i>)	Pollifenois (punicalaginas, punicalina, ácido elárgico, ácido glucosídeo e ácido elárgico livre)	(LARROSA et al., 2010a)	X		X	X				X							X
		(SINGH;JAGG I;SINGH, 2009)		X						X							
<i>Nigella sativa</i>	Timoquinona	(LEI et al., 2012)					X		X							X	
Extrato de brócolis e vários óleos essenciais (<i>Curcuma longa</i> , <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i>)	Isotiocianato (sulforafano), terpenos (timol, carvacrol, carnosol)	(MUELLER;BL UM;MUELLER , 2013)				X								X			
Espinafre (<i>Spinacia oleracea</i>)	Flavonoides e taninos	(OTARI et al., 2012)							X								
<i>Cordia dichotoma</i>	Compostos feólicos	(GANJARE et al., 2011)					X		X								X
St. John's Wort (<i>Hypericum perforatum</i>)	Hipericina, hiperforina, Flavonoides e derivados, xantinas derivadas e biapigenina	(DOST et al., 2009)					X							X		X, X	
Ginseng Americana (<i>Panax quinquefolius</i>)	Saponinas, polissacarídeos, poliinas, flavonoides, e óleos voláteis	(POUDYAL;LE ;DAVIS, 2012)			X	X			X								
Grape juice (<i>Vitis vinifera</i>)	Flavonoides e outros polifenóis	(JOHN;SHAHI DI, 2010)			X	X											
		(PAIOTTI et al., 2013)			X												
Black raspberries (<i>Rubus occidentalis</i>)	Polifenóis	(MONTROSE et al., 2011)				X			X								
<i>Jumihaidokuto</i> (mistura de 10 ervas japonesas)	Polifenóis	(SREEDHAR et al., 2015)												X			

PLANTA MEDICINAL	COMPOSTOS ATIVOS	Ref	AÇÃO ANTIOXIDANTE													
			↓ EROns		↓ SÍNTESE DAS EROnsS				↓ DANO OXIDATIVO			MELHORA NA DEFESA ANTIOXIDANTE				
			*NO	EROs	iNOS	COX2 LPO NOX	MPO	NF-κB /Iκ-Bα	PL	PTN	DNA	SOD	CAT	GPX	GR GSH GST	Nrf2
<i>Gegenqinlian</i> (mistura de quatro ervas chinesas)	Puerarina, baicalina, berberina, ácido glicirrizico e palmatina	(XU;ZHANG;JI, 2015)			X				X	X			X			
HuangqinTang (mistura de quatro ervas chinesas)	Flavonoides, monoterpene glicosídeos e triterpenoides saponinas	(CHEN et al., 2015)				X	X									
<i>Oenothera paradoxa</i>	Polifenóis, flavan-3-ols Galotaninos	(SAŁAGA et al., 2014)		X			X									
Suqingwan watered pílula (SWP) (13 tradicionais plantas medicinais chinesas)	-	(HAN et al., 2011)	X													
STW 5 (doses fixas combinadas de nove extratos de plantas)		(WADIE et al., 2012)					X				X		X	X		
Triphala (mistura de <i>Terminalia chebula</i> Retz, <i>Terminaliabellirica</i> (Gaertn.) Roxb. e <i>Emblica officinalis</i> Gaertn)	Ácido Galico	(KOPPIKAR et al., 2014)	X						X		X	X	X			
Extrato de uva	Polifenóis	(WANG et al., 2013)					X	X								
Extrato de vinho tinto	Polifenóis	(NUNES et al., 2013)	X		X	X		X								

Legenda: - = não altera; * = estudos em humanos; ↓ = reduz CAO = capacidade antioxidante; CAT = catalase; COX 2 = ciclooxigenase tipo 2; DNA = ácido desoxirribonucleico; GPx = glutationa peroxidase; GR = glutationa redutase; GSH = glutationa reduzida; GST = glutationa S-transferase; iNOS = óxido nítrico sintetase induzível; Iκ-Bα = fator nuclear do gene polipeptídico tipo kappa potencializador de inibidores de células B, alfa; PL = peroxidação lipídica; LPO = lipoxigenase; MPO = mieloperoxidase; NF-κB = fator nuclear Kappa de células B ativadas; *NO = óxido nítrico; NOX = nicotinamida dinucleotídeo fosfato oxidase; Nrf2 = fator nuclear eritroide 2; PTN = proteína; Ref = referência; EROns = espécies reativas de oxigênio e nitrogênio; EROs = espécies reativas de oxigênio; SOD = superóxido dismutase.

1.4 Conclusões e perspectivas futuras

Terapias alternativas para as DII são um vasto campo de interesse científico.

Nesta revisão sistemática, 166 diferentes substâncias com capacidade antioxidante, principalmente para RCUI, foram identificados. No entanto, poucos compostos foram avaliados mais de uma vez, incluindo: o antagonista do receptor de angiotensina II (NAGIB et al., 2013; ARAB et al., 2014a; GUERRA et al., 2015); os hormônios grelina (KONTUREK et al., 2009; MATUSZYK et al., 2015) e MEL (TERRY et al., 2009; TAHAN et al., 2011b; SAYYED et al., 2013; TRIVEDI;JENA, 2013a); as substâncias sintéticas *N*-acetilcisteína (ANCHA et al., 2009; YOU et al., 2009; AMROUCHE-MEKKIOUI;DJERDJOURI, 2012; ROMAGNOLI et al., 2013; URAZ et al., 2013), bis(1-hidroxi-2,2,6,6-tetrametil-4-piperidínil)decandioato (VASINA et al., 2009; VASINA, 2010) e o ácido 3,4-oxo-isopropilideno-shikimico (XING, J.-F. et al., 2012; XING, J. et al., 2012; XING et al., 2013); o resveratrol e alguns dos seus derivados (YOUN et al., 2009; LARROSA et al., 2010b; SÁNCHEZ-FIDALGO, Susana et al., 2010; SINGH et al., 2010; YAO et al., 2010; ABDALLAH;ISMAEL, 2011; ABDIN, 2013); a curcumina (ARAFÁ et al., 2009; MOTAWI;RIZK;SHEHATA, 2012; MOUZAOU;RAHIM;DJERDJOURI, 2012; TOPCU-TARLADACALISIR et al., 2013); as proantocianidinas da semente de uva (WANG et al., 2010; LI et al., 2011; WANG et al., 2011); a quercetina (GUAZELLI et al., 2013; DODDA et al., 2014); os derivados coumarínicos (WITAICENIS;SEITO;DI STASI, 2010; WITAICENIS et al., 2012; WITAICENIS et al., 2014); a microalga spirulina (ABDELKHALEK;GHAZY;ABDEL-DAIM, 2014; ABDEL-DAIM et al., 2015); as plantas medicinais (em forma de extrato ou de compostos ativos) *Punica granatum* (SINGH;JAGGI;SINGH, 2009; LARROSA et al., 2010a), *Embelia ribes* (KUMAR G et al., 2011; THIPPESWAMY et al., 2011); o gerandiol (MEDICHERLA et al., 2015; SOUBH;ABDALLAH;EL-ABHAR, 2015) e os compostos isolados da *Cannabis sativa* (BORRELLI et al., 2009; BORRELLI et al., 2013) e do suco de uva (PAIOTTI et al., 2013; MARCHI et al., 2014). A realização de uma metanálise com esses dados foi inviabilizada pelo reduzido

número de repetições, bem como devido à diversidade metodológica entre os trabalhos que utilizaram a mesma substância/composto.

Diversos biomarcadores do EO foram extensivamente utilizados em todos os estudos que fizeram parte desta revisão, em especial: \bullet NO; as enzimas pró-oxidantes MPO e COX2; o fator de transcrição NF- κ B; as enzimas SOD, catalase e GPx e o sistema de defesa não enzimático GSH. No entanto, poucos estudos identificaram substâncias com efeitos positivos sobre a expressão do Nrf2 (FANG et al., 2013; TRIVEDI;JENA, 2013a; b; TRIVEDI et al., 2015), e em vista de sua forte associação com o desequilíbrio redox e inflamação, como discutido anteriormente, a regulação do eixo de sinalização Nrf2-ARE pode estar fortemente associada com a intervenção farmacológica.

De acordo com Piganelli & Delmastro (2011), tratamentos ótimos poderiam incorporar antioxidantes em combinação com agentes anti-inflamatórios, tais como os inibidores da ativação de NF- κ B, e devem também considerar as limitações associadas com o uso de terapias com enzimas/proteínas intactas, tais como biodisponibilidade, acessibilidade celular limitada, a imunogenicidade, e o custo de produção (PIGANELLI;DELMASTRO, 2011). Neste contexto, nutracêuticos, alimentos e compostos naturais se encaixam muito bem no tratamento de DII.

Além do papel do EO na etiologia das DII, o aumento consistente das ERONs têm uma ação importante na recorrência da fase ativa e, conseqüentemente, o uso de antioxidantes pode ajudar na manutenção da fase de remissão (RANA et al., 2013).

Estudos experimentais em modelos animais são fundamentais para testar com confiança os diversos compostos isolados/extratos/nutracêuticos/hormônios/alimentos/nutrientes, antes de testes em seres humanos, e este fato explica por que apenas dois estudos relataram o uso de compostos em indivíduos: resveratrol (SAMSAMI-KOR et al., 2015) e o picogenol (em crianças) (KOLÁČEK et al., 2013) e que avaliaram biomarcadores do EO.

Dessa forma, o investimento científico no campo de tratamentos alternativos das DII, deve identificar substâncias que isoladas ou combinadas

atuem nas diversas vias metabólicas do estresse oxidativo, ou que contribuam para minimizar um efeito negativo de um fármaco tradicional ou que possam contribuir, na manutenção da fase assintomática, evitando sua evolução para fase aguda e o aparecimento de sinais e sintomas característicos dessa síndrome.

2. MODULAÇÃO COLÔNICA E HEPÁTICA PELA SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDO LIPOICO E/OU N-ACETILCISTEÍNA NA COLITE ULCERATIVA INDUZIDA POR SULFATO DE SÓDIO DEXTRANA EM RATOS

2.1 Introdução

As DII afetam 150-250 / 100.000 pessoas, especialmente nos países desenvolvidos e, ainda hoje, não têm etiologia definida, mas estão intimamente relacionadas com fatores genéticos e imunológicos (PONDER;LONG, 2013), à microbiota e, em particular, ao EO (PRAVDA, 2005).

A utilização de antioxidantes é considerada uma terapia complementar importante em várias condições tais como doenças cardiometabólicas, neurológicas e gastrointestinais, na prevenção do câncer e outros (GINTER;SIMKO;PANAKOVA, 2014).

O EO na RCUI tem relação não só com a etiologia, mas principalmente, com o desenvolvimento de sinais e sintomas característicos, tais como: aumento da permeabilidade intestinal, pela destruição das junções intercelulares (AMASHEH et al., 2009), aumento da infecção e inflamação por infiltração de neutrófilos (BHARDWAJ, 2010), presença de úlceras colônicas como uma consequência da PL e dos danos às proteínas (CADIRCI et al., 2007), e desenvolvimento de câncer, como consequência de danos ao DNA. No entanto, o curso desses sintomas e manifestações clínicas é heterogêneo, variando de acordo com o nível de RCUI: se leve, moderada ou grave, cuja classificação e critérios adotados podem variar de acordo com os autores (TRUELOVE;WITTS, 1955; DIGNASS et al., 2014).

Alguns antioxidantes exibem efeitos benéficos sobre diversas dessas patologias, especialmente o ALA (SHAY et al., 2009) e a NAC (HOU et al., 2015). As duas substâncias têm sido testadas separadamente na RCUI (KOLGAZI et al., 2007; ANCHA et al., 2009; AMROUCHE-MEKKIOUI;DJERDJOURI, 2012; TRIVEDI;JENA, 2013b) e combinadas em outras condições clínicas como

envelhecimento, intoxicação e exercício (THAKURTA et al., 2012; JANA et al., 2014; THAKURTA et al., 2014), com resultados positivos.

Devido à sua propriedade antioxidante, observada em ambas as formas: oxidada (ácido α -lipoico – ALA) e reduzida (ácido diidrolipoico – DHLA), o ALA é chamado de “antioxidante universal” (PACKER;WITT;TRITSCHLER, 1995). É, ainda, solúvel em ambientes hidrofílicos e lipofílicos, apresentando um elevado potencial redox de -0,32 V (vs Eletrodo Normal de Hidrogênio) (MOINI;PACKER;SARIS, 2002). Ademais, a dupla ALA/DHLA é um importante sequestrador do $O_2^{\bullet-}$, HOCl, ONOO⁻ e \bullet NO; é também um quelante de metais; é hábil em restaurar componentes da defesa antioxidante exógena como o α -tocoferol, o ácido ascórbico e o sistema formado pela GSH/GSSG (PACKER;TRITSCHLER;WESSEL, 1997). Por outro lado, é importante enfatizar que além de antioxidante, o ALA é um importante agente anti-inflamatório. Estudos *in vitro* sugerem que o ALA atua como inibidor da IKK2 (I κ B kinase-2), complexo enzimático responsável pela degradação do I κ B α e subsequente liberação do NF- κ B (YING et al., 2011). Outro efeito anti-inflamatório desempenhado pelo ALA é seu papel ativador do Nrf2, que, como mencionado no capítulo anterior, ocorre de forma independente do rompimento da ligação deste com sua proteína Keap 1, com a qual forma um complexo que impede a entrada do Nrf2 no interior nuclear, afim de estimular a transcrição gênica. Como consequência, o ALA eleva, de forma indireta, os níveis de enzimas antioxidantes como a GPx e a SOD (SHAY;MICHELS;LI, 2012).

A NAC é outro agente redutor extremamente potente e que, assim como o ALA, apresenta um elevado potencial redox (-0,063 V e -0,106 V vs. Orion 9103BN semi-micro eletrodo combinado) (SADOWSKA;MANUEL-Y-KEENOY;DE BACKER, 2005), além de ser um importante sequestrador de EROs e um forte quelante de metais (KASPERCZYK et al., 2014). Contudo, a maior ação antioxidante atribuída ao NAC é seu poder de melhorar as defesas antioxidantes não enzimáticas através do estímulo à síntese da GSH (KASPERCZYK et al., 2014). Os efeitos anti-inflamatórios da NAC também têm sido amplamente estudados e confirmados, especialmente através da inibição de NF- κ B (HADDAD, 2002).

Por outro lado, as manifestações extraintestinais das DII são pouco exploradas, assim como os efeitos sistêmicos dos tratamentos alternativos usados no controle dessas doenças. Dentre as manifestações extraintestinais mais frequentes destacam-se as desordens hepatobiliares. Um estudo pioneiro nesse aspecto foi o desenvolvido por Håkansson et al. (2012), em que os autores identificaram que após o fornecimento de 4% (g/v) de SSD por 7 dias, ocorreu importante injúria hepática, confirmada pelos maiores níveis séricos de hepatoglobina e por diversos achados histológicos, como pontos de necrose e balonização dos hepatócitos (HAKANSSON et al., 2012). Mais recentemente, em 2016, Farombi et al., utilizando 5% de SSD (g/v) por 5 dias, confirmaram a associação existente entre colite e injúria hepática, através de achados histológicos e da elevação sérica das transaminases (alanina aminotransferase – ALT e aspartato aminotransferase – AST) e fosfatase alcalina.

Concentrações mínimas de SSD foram encontradas nas células de Kupffer já no primeiro dia de tratamento com esse sal. Apesar da metabolização ser considerada lenta, visto que mesmo após 8 semanas de finalização da indução da colite, as células de Kupffer ainda apresentarem vestígios do SSD (KITAJIMA;TAKUMA;MORIMOTO, 1999), acredita-se que essas baixas concentrações não são responsáveis por toda injúria hepática observada. Esta decorre das alterações colônicas como a quebra da barreira intestinal e aumento da permeabilidade intestinal, observadas pela maior ativação de receptores como os TRL4 e elevação na concentração de LPS na circulação portal (GABELE et al., 2011; TRIVEDI;JENA, 2013c).

Essa estreita relação entre cólon e fígado pode ser justificada pela embriogênese comum entre os órgãos, bem como pela ligação existente entre o intestino e a veia porta (WIELAND et al., 2015). No entanto, o principal foco dos estudos que avaliam essa relação fígado-intestino é a microbiota, a qual tem recebido especial atenção devido à íntima conexão com a síndrome metabólica, obesidade e doença hepática não alcoólica (ABDUL-HAI;ABDALLAH;MALNICK, 2015).

Sabendo que a RCUI é um importante problema de saúde pública, que afeta principalmente jovens adultos, reduzindo substancialmente sua qualidade de vida e que o tratamento farmacológico apresenta diversos efeitos colaterais e que uma parcela da população não é responsiva aos tratamentos

convencionais, é de suma importância encontrar alternativas terapêuticas que contribuam para minimizar/evitar a progressão/agudização/reidiva da doença. Tendo em vista que o ALA e a NAC têm sido testados, tanto isoladamente como combinados com sucesso, em diversos sistemas biológicos e a forte associação entre intestino e fígado, o objetivo deste trabalho foi avaliar as ações antioxidante e anti-inflamatória do tratamento com ALA e/ou NAC, sobre os tecidos colônico e hepático em um modelo animal de RCUI.

2. Objetivos

2.2.1. Objetivo Geral

Avaliar a ação da suplementação oral dos antioxidantes ácido lipoico e *N*-acetilcisteína, isolados e combinados, sobre biomarcadores do estresse oxidativo e de inflamação nos tecidos intestinal e hepático, de ratos com colite ulcerativa leve induzida por sulfato de sódio dextrana.

2.2.1. Objetivos Específicos

- Avaliar o perfil bioquímico dos animais submetidos aos tratamentos com SSD e/ou ácido lipoico, *N*-acetilcisteína e ácido lipoico associado à *N*-acetilcisteína;
- Avaliar o perfil hematológico dos animais submetidos aos tratamentos com SSD e/ou ácido lipoico, *N*-acetilcisteína e ácido lipoico associado à *N*-acetilcisteína;
- Identificar alterações histológicas nos tecidos colônico e hepático dos animais submetidos aos tratamentos com SSD e/ou ácido lipoico, *N*-acetilcisteína e ácido lipoico associado à *N*-acetilcisteína;
- Comparar as mudanças nos perfis oxidativos colônico e hepático dos animais submetidos aos tratamentos com SSD e/ou ácido lipoico, *N*-acetilcisteína e ácido lipoico associado à *N*-acetilcisteína;
- Comparar as mudanças de citocinas pró- e anti-inflamatórias colônicas e hepáticas dos animais submetidos aos tratamentos com SSD e/ou ácido lipoico, *N*-acetilcisteína e ácido lipoico associado à *N*-acetilcisteína.

2.3. Material e Métodos

2.3.1 Reagentes e soluções

O SSD (massa molecular 36.000 – 40.000 Daltons) foi adquirido da empresa MP Biomedicals. O kit de citocinas (TNF- α , INF γ e IL-10) foi obtido da Milliplex MAP Mouse Cytokine/Chemokine Panel (Merck Millipore[®]). O coquetel de inibidores de protease foi obtido da Roche[®] (Mannheim, Alemanha). Tampão RIPA (10x) foi adquirido da (Cell Signaling Technology[®], Beverly, MA). ALA e NAC foram obtidos da empresa Ao Farmacêutico (Alagoas/Brasil). Todos os demais reagentes foram obtidos da Sigma–Aldrich Chemicals (Saint Louis, USA).

2.3.2 Equipamentos

Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) acoplado ao leitor de ultravioleta (UV) (SHIMATZU, SERIAL NO. L201550), freezer VIP Series Sanyo, espectrofotômetro (Tecan 200 Infinite, Mannedorf, Suíça), microscópico óptico Olympus BX51 acoplado ao sistema de câmera digital DP70, Toquio, Japão; e o leitor MAGPIX[®] Multiplex foram utilizados.

2.3.3 Animais, desenho experimental e aspectos éticos

Foram utilizados 30 ratos machos Wistar com 60 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Alagoas e divididos em 5 grupos com 6 animais cada:

- Grupo 1: Controle;
- Grupo 2: Colite Leve;

- Grupo 3: Colite leve tratado com ácido lipoico (ALA);
- Grupo 4: Colite leve tratado com *N*-acetilcisteína (NAC);
- Grupo 5: Colite leve tratado com ALA e NAC (ALA+NAC).

Nos cinco primeiros dias, os animais iniciaram adaptação à porção da dieta comercial gelatinizada (ainda sem suplementação). Às 9 h, os animais tinham sua ração retirada, sendo fornecida uma porção de aproximadamente 1 colher de chá (~ 5 a 6g) de dieta comercial triturada e acrescida de gelatina sem sabor e cor para formar liga, denominada, neste trabalho, de “porção gelatinizada” (Figura 15). Após a ingestão completa da ração ~ às 12 h, a dieta *ad libitum* era então fornecida.

Figura 15- Dieta gelatinizada contendo ou não os suplementos



Fonte: Autora

Do 1º ao 7º dia da fase experimental (Fase de pré-tratamento – PT), os animais dos grupos suplementados receberam 100 mg.kg^{-1} de ALA ou NAC, ou 100 mg.kg^{-1} de cada um dos antioxidantes (grupo ALA+NAC) incluídos na mistura na porção gelatinizada (Figura 15), seguindo o mesmo procedimento da fase de adaptação.

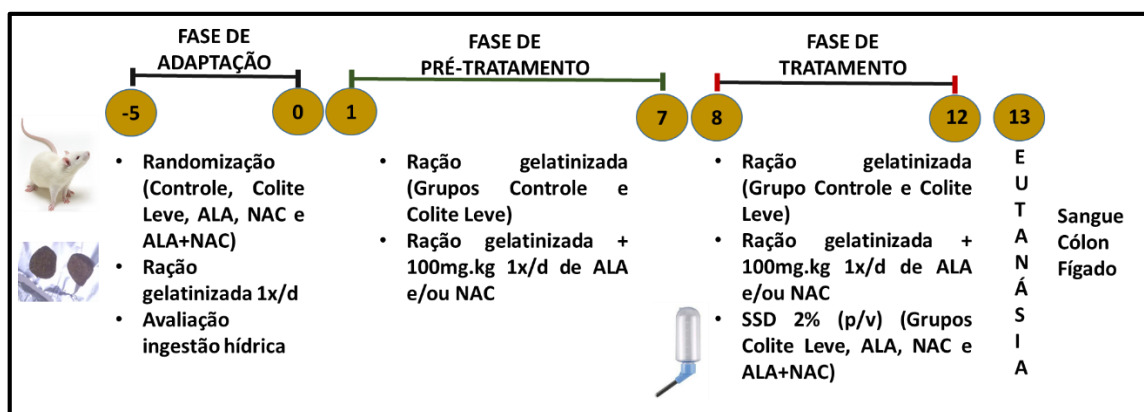
Do 8º ao 12º dia de experimento foi realizada a etapa de indução à colite associada à manutenção da suplementação nos grupos ALA, NAC e ALA+NAC (fase de tratamento). Durante esse período, os animais dos grupos 2 ao 5 receberam SSD a 2% (g/v) diluídos na água de beber. A ingestão média de água

foi anteriormente avaliada (fase de adaptação), para garantir a ingestão ideal do SSD.

Salienta-se que as doses dos antioxidantes utilizadas nesse protocolo encontram-se dentro da faixa de segurança para o modelo animal escolhido: ácido lipoico $<2.000 \text{ mg.kg.d}^{-1}$ (CREMER et al., 2006) e *N*-acetilcisteína $<6000 \text{ mg.kg.d}^{-1}$ (BONANOMI;GAZZANIGA, 1980).

No 13º dia, os animais foram anestesiados e eutanasiados. Um resumo do desenho experimental pode ser visualizado na Figura 16.

Figura 16- Representação esquemática do desenho experimental



Fonte: Autora

Durante toda a fase experimental, os animais foram acondicionados no Biotério Setorial da FANUT com ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura controlada ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e acesso livre à dieta e à água.

A composição da dieta comercial utilizada está listada na Tabela 7.

Tabela 7- Composição nutricional da dieta Nuvilab®.

COMPOSIÇÃO	Nuvilab®
Total de energia (kcal/kg)	3000
Proteína (%)	29,3
Carboidratos (%)	57,2
Lipídeos (%)	13,5
Umidade (máx.)	12,5%
Proteína Bruta (mín)	22,0%
Extrato Etéreo (mín)	4,5%
Matéria Mineral (máx.)	10,0%
Matéria Fibrosa (máx.)	8,0%
Cálcio (máx.)	1,4%
Fósforo (mín)	0,8%

Legenda: máx. = concentrações máximas; mín. = concentrações mínimas

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso em Animais da Universidade Federal de Alagoas sob o nº do processo 05/2014 (Anexo 1).

2.3.4 Eutanásia, coleta de sangue, análise bioquímica e preparação dos homogenatos teciduais

Ao final do experimento, após jejum por 12 h, os animais foram anestesiados com quetamina (100 mg.kg^{-1}) e xilazina (15 mg.kg^{-1}) administrados i.p. Na sequência, o sangue (7 a 8 mL) foi coletado por punção cardíaca. Realizou-se perfusão ventricular com solução salina contendo heparina a 2% (v/v) e em seguida seccionada a aorta. Na sequência foram retirados do cólon e fígado (Figuras 17 e 18). Estes foram, então, limpos com solução salina e as fezes retiradas do cólon para posterior pesagem (o cécum foi excluído devido a presença de fezes - Figura 18C) e, em sequência, distribuídas as porções para análise histológica (Figuras 17A e 18A) e de marcadores de EO e inflamatório (Figuras 17B e 18B).

O sangue coletado foi subdividido em dois tubos, um com ~ 2 mL, contendo EDTA como anticoagulante (padrão do laboratório), que foi agitado de forma leve, para evitar coagulação, sendo que deste material foi analisado: hemograma

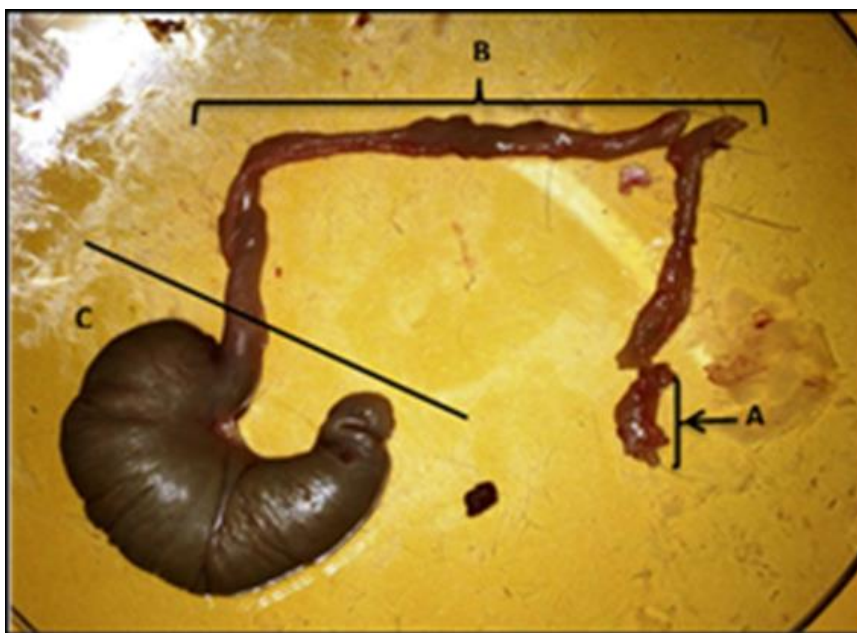
(eritrócitos – RBC, hemoglobina – HGB e leucócitos). O segundo tubo foi separado para avaliação do perfil bioquímico (\cong 5 mL), o qual foi centrifugado a 4.000 rpm/10 min, para posterior avaliação dos seguintes marcadores: glicemia e hemoglobina glicosilada (HbA1c); perfil lipídico (triglicerídeos – TG, colesterol total – CT, lipoproteína de alta densidade – HDLc, lipoproteína de muito baixa densidade – VLDLc e lipoproteína de baixa densidade – LDLc); proteína C-reativa (PCR); AST; ALT; fosfatase alcalina (FA); bilirrubina total (BT) e frações (bilirrubinas direta – BD – e indireta – BI); proteínas totais (PT), albumina (ALB) e globulinas (GLOB).

Todas as medições foram realizadas por espectrofotometria, com emprego de kits laboratoriais padronizados no laboratório UNILAB[®] (laboratório certificado).

Após retirada do sangue, seguiu-se com a perfusão de 5 mL de solução salina heparinizada (1:50 v/v) no ventrículo esquerdo. Por fim, a aorta foi então seccionada, sendo retirados cólon e fígado. Os órgãos foram lavados com solução salina para retirada de sangue e outros materiais biológicos e seccionados segundo a análise a ser realizada: histológica ou bioquímica (EO e perfil inflamatório) (Figuras 17 e 18).

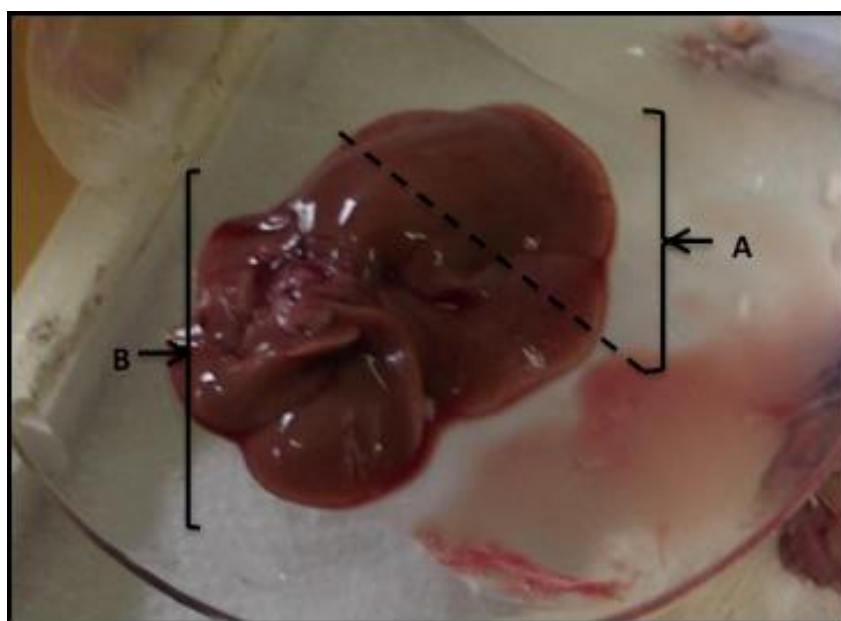
Os tecidos colônico e hepático destinados para avaliação bioquímica foram imediatamente armazenados em nitrogênio líquido e posteriormente no freezer a -80°C . Os homogenatos teciduais foram então preparados com tampão de lise contendo proteases de mamíferos e coquetel com inibidores de fosfatases e em seguida centrifugados a 14.000 rpm, por 20 min, e o sobrenadante separado em alíquotas para análise de proteínas e dos perfis oxidativo e bioquímico, sendo armazenados a -80°C .

Figura 17- Fragmentos do intestino utilizados para análise histológica (A) e do perfil oxidativo e inflamatória (B). A parte C foi excluída devido à elevada quantidade de fezes



Fonte: Autora

Figura 18- Fragmentos do fígado utilizados para análise histológica (A) e das atividades redox e inflamatória (B)



Fonte: Autora

2.3.5 Análise histológica

O segmento tecidual destinado às análises histológicas foi fixado com solução tampão contendo 10% de formol, por 24 h, sendo em seguida submetido a uma sequencia pré-determinada de banhos com álcoois em concentrações crescentes (70%, 80%, 90% e 100%), xilol e parafina. Posteriormente, as peças histológicas foram cortadas (5 μm) com auxílio de micrótomo e fixadas em lâminas histológicas.

As lâminas foram então coradas com hematoxina e eosina (HE), para avaliação de alterações na micro-arquitetura dos órgãos, ou com o kit de tricromo de Masson, para avaliação de deposição de tecido fibrótico. Os cortes foram fotografados em microscópio óptico e a quantidade de colágeno avaliada com auxílio do software ImageJ[®]; NIH, Bethesda, MD, USA.

2.3.6 Determinação de proteínas teciduais

A quantidade de proteínas nos tecidos colônico e hepático foi realizada através do método de Bradford (1976). Brevemente, 20 μL dos homogenatos do cólon (1:10) e fígado (1:20) foram transferidos para uma microplaca de leitura em duplicada e em seguida foram adicionados 250 μL do reagente de Bradford. Após 5 min de incubação à temperatura ambiente, realizou-se a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 595 nm (BRADFORD, 1976). Os valores de absorvância foram comparados aos obtidos com uma curva de calibração realizada com concentrações conhecidas (1 a 5 mg/dL) de albumina bovina padrão (Sigma).

2.3.7 Determinação de malondialdeído por HPLC-UV

O MDA é frequentemente utilizado como biomarcador padrão da peroxidação lipídica *in vivo*, em virtude da simplicidade do método e baixo custo (NIKI, 2014; SPICKETT et al., 2010). Diversos métodos foram desenvolvidos para determinação do MDA por HPLC em amostras biológicas. Neste estudo, adaptou-se o método descrito por Tatun et al., (1990) (VICKIE L. TATUM, 1990).

Antes do início das análises nos tecidos intestinal e hepático, procedeu-se à determinação da curva de calibração com padrão de MDA, obtido a partir do 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP). O TMP em meio ácido origina MDA, com o percentual aproximado de conversão de 98,4% (TSAKNIS et al., 1998)

Primeiramente, uma solução de TMP hidrolisado foi preparada a partir de 10 μ L de TMP diluído em HCl 0,1 M em um tubo de ensaio com tampa. Esta solução foi então aquecida em água fervente, por 5 min, e resfriada em água corrente. Em seguida, alicotou-se 1 mL da solução de TMP hidrolisado em um balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água milli-Q (Solução B). A curva de calibração foi construída com 9 pontos de concentração (0,2 nM a 42,0 nM).

Para realização das determinações foi utilizado HPLC-UV com Coluna de 5C 18, comprimento 259 mm e 4,6 mm de diâmetro interno, equipada com pré-coluna. O comprimento de onda utilizado para detecção de MDA foi de 270 nm e o tempo de retenção de \cong 2 min e 40 s. Toda análise em temperatura ambiente, foi realizada com fluxo constante de 1 mL/min em sistema isocrático, sendo injetados 20 μ L da amostra. O tempo total de leitura utilizado foi de 6 min. Como fase móvel, utilizou-se solução tampão trizma e acetonitrila para HPLC, na proporção de 9:1, respectivamente.

A solução tampão para MDA foi preparada segundo Esterbauer et al. (1984). Inicialmente, 3,6 g de tampão TRIZMA-Base foram diluídos em 1 L de água milli-Q. O pH foi então ajustado para 7,4. Este tampão foi armazenado em frasco âmbar, à temperatura ambiente por, no máximo, 7 dias (ESTERBAUER et al., 1984).

Para a realização das análises de MDA nos tecidos intestinal e hepático, fez-se necessário a preparação de uma solução de butil-hidroxitolueno (BHT) a 2%, em etanol 96%, sendo esta solução armazenada, sob refrigeração, por no máximo 7 dias.

Cerca de 50 mg do colon ou fígado foram homogeneizados com 400 μ L de tampão trizma-base e 40 μ L de solução de BHT. Em seguida, adicionou-se 440 μ L de acetonitrila grau HPLC. A solução formada foi então centrifugada a 4°C e 4.000 rpm, por 10 min, a 4°C. O sobrenadante foi filtrado através de unidade filtrante com membrana durapore de 0,22 μ m de poro, e homogeneizado com auxílio de vórtex. O volume de 20 μ L do filtrado foi injetado no HPLC e a leitura realizada a 270 nm.

Os valores das dosagens do MDA no tecido foram expressos em nanomolar (nM) e corrigidos para o peso em miligrama (mg) do tecido avaliado, obedecendo o fator de correção, de acordo com a equação:

$$\text{MDA tecidual real} = \frac{\text{MDA encontrado} \times 1000}{\text{Peso do tecido (mg)}}$$

2.3.8 Determinação de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) por espectrofotometria

A mensuração do H₂O₂ foi realizada através da adaptação do método de Pick & Keisari (1980), que se baseia na oxidação do vermelho de fenol pelo H₂O₂ mediada pela peroxidase de rabanete, conforme descrito abaixo.

Inicialmente foram preparadas todas as soluções que seriam utilizadas para curva de calibração e dosagem de H₂O₂ tecidual.

- a) Solução de vermelho de fenol (0,028 M) ou 0,01% (m/V). Esta solução pode ficar estocada em vidro âmbar por até 6 meses em temperatura de 4°C;

- b) Peroxidase de Rabanete 1 KU/mL (tampão fosfato pH 7). A enzima foi alicotada em pequenos volumes em diversos eppendorfs, cada um deles suficiente para uma análise, e estocada a -80°C ;
- c) Tampão de análise (pH 7,0), contendo tampão fosfato e 140 mM de NaCl e 5,5 mM de dextrose.

Em seguida, elaborou-se a curva de calibração, preparando-se uma solução padrão de H_2O_2 , utilizando 102 μL de H_2O_2 30% e completando o volume para 100 mL com água milli-Q, atingindo uma concentração de 0,01 M. Esta solução foi utilizada no mesmo dia em que foi preparada.

Desta solução padrão, foram retirados 10 μL e completado o volume de 1 mL com PBSe (Solução A), atingindo uma concentração de 100 μM . A partir desta solução A, foram elaborados 8 pontos de concentração para elaboração da curva de calibração (0,12 μM a 100 μM).

Para determinação dos níveis de peróxido tecidual, cerca de 50 mg dos tecidos foram homogeneizados em 1 mL do tampão de ensaio e centrifugados a 4.000 rpm, por 5 min, a 4°C . O sobrenadante (100 μL) foi transferido para microtubos contendo tampão de ensaio (volume final de 500 μL), 5 μL de vermelho de fenol e 4,25 μL de peroxidase de rabanete. Os microtubos foram incubados a 37°C , por 30 min. Transferiu-se então 200 μL para uma microplaca de leitura contendo 25 μL de hidróxido de sódio (1M). A leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 610 nm (PICK; KEISARI, 1980).

A concentração de H_2O_2 foi expressa em $\text{nmol.mg de proteína}^{-1}$, de acordo com a curva de calibração previamente estabelecida.

2.3.9 Determinação de enzimas antioxidantes por espectrofotometria

a) Superóxido Dismutase

A determinação da atividade da SOD baseiou-se na inibição da auto-oxidação do pirogalol (MARKLUND;MARKLUND, 1974). De forma resumida, 190 μL do homogenato colônico (1:5,5) e 20 μL (1:9,5) do homogenato hepático, em tampão de ensaio (tampão tris EDTA, pH 8,2), foram transferidos para microplaca de leitura em duplicata. Em seguida, adicionou-s 5 μL de pirogalol (2,52 mg de pirogalol em tampão fosfato – PBS – pH 6,5). A reação ocorreu por 20 min, à temperatura ambiente. Para finalizar a reação, 5 μL de HCl 1 M foram adicionados. A leitura foi realizada no comprimento de onda de 420 nm. Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade necessária para inibir 50% da autoxidação do pirogalol/min. Os resultados foram expressos em $\text{U.mg de proteína}^{-1}$.

b) Catalase

A atividade da catalase no homogenato tecidual foi medida espectrofotometricamente como a taxa de decomposição de H_2O_2 , tal como descrito por Xu et al. (2008). Uma unidade de atividade da catalase foi calculada cineticamente em dois pontos de tempo e definida como a constante de velocidade da reação de primeira ordem (k) (XU et al., 2008). A leitura foi realizada no comprimento de onda de 540 nm A atividade dessa enzima foi expressa em $\text{U.min.mL.mg de proteína}^{-1}$.

c) Glutathiona Peroxidase total

A atividade da GPx total foi medida em microplaca, através de adaptações do método de Flohe & Gunzler (1984). Brevemente, cerca de 50 mg do cólon ou fígado foram homogeneizados em 450 μL do tampão de ensaio (PBS 0,1 M +

EDTA 5 mM, pH 7,4) e centrifugado a 12.000 rpm, por 20 min, a 4°C. Uma alíquota de 20 µL do sobrenadante hepático (1:1) e 30 µL do sobrenadante intestinal foram transferidos para microplaca de leitura. Na sequência, foram adicionados o tampão de ensaio (volume final de 150 µL), 20 µL de glutatona redutase (GR) (0,048 U.mL⁻¹) e 20 µL de GSH (10 mM). A reação ocorreu por 10 min, a 37°C. Em seguida foram adicionados 20 µL de NADPH (1,5 mM) e 20 µL de *tert*-butil hidroperóxido (0,5 mM). A redução na absorvância foi medida em espectrofotômetro, por 5 min, no comprimento de onda de 340 nm. Uma unidade de GPx total foi definida como a quantidade da enzima capaz de catalisar a oxidação de 1 µmol de NADPH a NAD⁺, em 1 min (FLOHE;GUNZLER, 1984). Os resultados foram expressos em U.mg de proteína⁻¹.

2.3.10 Determinação dos níveis de nitrito por espectrofluorometria

A quantificação de nitrito nos tecidos foi realizada com base em protocolo já descrito por Misko et al. (1993), adaptado para microplaca (MISKO et al., 1993). Um volume de 20 µL do homogenato intestinal foi misturado com 2,3-diaminonaftaleno (50 µg,mL⁻¹ em HCl 0,2 M) e incubado por 10 min à temperatura ambiente. Para interromper a reação foram utilizados 5 µL de NaOH 2,8 M. As absorvâncias foram lidas em espectrofluorômetro no comprimento de onda de 540 nm. A concentração de nitrito foi comparada a curva de calibração utilizando concentrações conhecidas de nitrito padrão. Os resultados foram expressos como µM.mg de proteína⁻¹.

2.3.11 Determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) por espectrofotometria

A MPO foi determinada de acordo com o método descrito por Bradley, Christeen e Rothstein. (1982) com adaptações. Resumidamente, 25 a 50 mg do tecido hepático ou do cólon foram homogeneizados em 1 mL de tampão de

ensaio, pH 6,0 (PBS - 50 mm com 0,5% de brometo de hexadeciltrimetilamônio e EDTA - 5 mM em pH 6,0) e centrifugadas a 4.000 rpm, por 15 min, a 4 °C. Em seguida, o sobrenadante foi recolhido e centrifugado novamente a 12000 rpm, por 15 min (4 °C). Um volume de 100 L (1:1) do sobrenadante foi transferido em duplicata para uma microplaca. Em seguida foram adicionados 50 µL de solução de *orto*-dianisidina (0,8 mg.mL⁻¹). A microplaca foi incubada a 37 °C durante 15 min e logo em seguida, foram adicionados 50 µL de solução de H₂O₂ (0,3% v/v). Uma nova incubação foi realizada (37 °C por 10 min) e a leitura foi feita em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 460 nm. Uma unidade de MPO foi definida como a quantidade de H₂O₂ (em µmol) degradada por minuto. Os resultados foram expressos em U.mg de proteína⁻¹ (BRADLEY;CHRISTENSEN;ROTHSTEIN, 1982).

2.3.12 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) e glutathiona oxidada (GSSG) por espectrofotômetro

O conteúdo de GSH total e GSSG foi avaliado a partir da técnica descrita por Tipple & Rogers (2012), com algumas modificações. Inicialmente, a proteína total foi precipitada após centrifugação do homogenato tecidual (1.400 rpm por 10 min a 20 ° C) com ácido metafosfórico 5% (g/v) na proporção de 1:1. Na sequência, a GSH total e a GSSG foram medidas. Para obter GSH, o sobrenadante do homogeneizado sem proteínas foi diluído (1:20 cólon e fígado 1:200) em tampão de ensaio (PBS 0,1 M + EDTA 5 mM, pH 7,4). Em seguida, 30 µL (cólon) ou 150 µL (fígado) foram transferidos para a microplaca de leitura. Para o cólon, completou-se o volume final (150 µL) com tampão de ensaio. A reação foi então iniciada, adicionando-se 50 µL da mistura de reação 1 (5,5'-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzoico) – DTNB – 10 mM e GR – 4,2 U.mL⁻¹) e 50 µL da mistura de reação 2 (NADPH 1% g/v).

Para medida da GSSG, 50 µL do homogenato tecidual desproteínizado foi diluído em tampão de ensaio (1:50), contendo 5 µL de N-etilmaleimida (NEM) e centrifugado a 12.000 rpm por 20 min (20 °C). Essa solução foi então incubada

por 50 min, para completa complexação da NEM com a GSH. Para excluir esse complexo (NEM-GSH), evitando assim a inativação da GR a ser adicionada na reação, utilizou-se uma coluna de filtração LiChrolut®, RP-18 E. Em seguida, 200 µL desse eluente foram transferidos para microplaca de leitura, sendo então adicionados 50 µL da mistura de reação 1 e 50 µL da mistura de reação 2.

Em ambas as análises, a absorbância foi medida em espectrofotômetro, comprimento de onda de 412 nm, em uma cinética de 3 min, com leituras a cada 30 seg. As concentrações foram então obtidas após comparação dos resultados obtidos com curva de calibração padrão com concentrações conhecidas de GSSG (1nM a 10nM). Para cálculo da GSH, utilizou-se o seguinte cálculo: $GSH = GSH \text{ total} - (2x \text{ GSSG})$. Os resultados foram expressos em $nM.mg \text{ proteína}^{-1}$ (TIPPLE;ROGERS, 2012).

2.3.13 Determinação dos níveis do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interferon gama (INF γ) e interleucina 10 (IL-10)

A produção de citocinas e quimiocinas nos sobrenadantes de amostras de cólon e fígado foi quantificada por Milliplex MAP Painel de citocinas/quimiocinas para camundongos (Merck Millipore®), seguindo as instruções do fabricante. Brevemente, 25 µL do tampão de ensaio e dos controles 1 e 2 (fornecidos no kit) foram adicionados à placa. Na sequência adicionou-se mais 50 µL do tampão de ensaio em todos os poços. Em seguida, 25 µL das amostras e 25 µL do Mixing Bottle foram acrescentados. Após uma incubação de 2hs + lavagem da placa, adicionou-se 25 µL do anticorpo de detecção e seguiu-se com nova incubação por 1h. Foram então adicionados 25 µL da streptavidina (incubação por 30 min) e nova lavagem da placa. Após adição do fluído sheath (fluído específico do equipamento) a leitura foi então realizada sendo os resultados expressos em $pg.mg \text{ de proteína}^{-1}$.

2.3.14 Análise estatística

Para todas as análises realizadas a normalidade da distribuição foi checada através do teste de Komogorov-Smirnoff. As variáveis que se comportaram de acordo com a curva de distribuição gaugassiana foram analisadas pelos testes ANOVA e teste de Tukey, para comparação entre múltiplos grupos. Já aquelas que não apresentaram distribuição gaugassiana normal, foram avaliadas pelo teste de Kuskal Wallis e Dunn. A significância foi assumida quando $p < 0,05$. Foi utilizado o software GraphPad®Prism versão 5.0 para Windows (San Diego, CA, USA).

O teste t de *Student* foi usado apenas na comparação entre os grupos Controle x Colite Leve para confirmar/descartar a presença de distúrbio oxidativo/inflamatório causado pelo uso do SSD.

2.4. Resultados

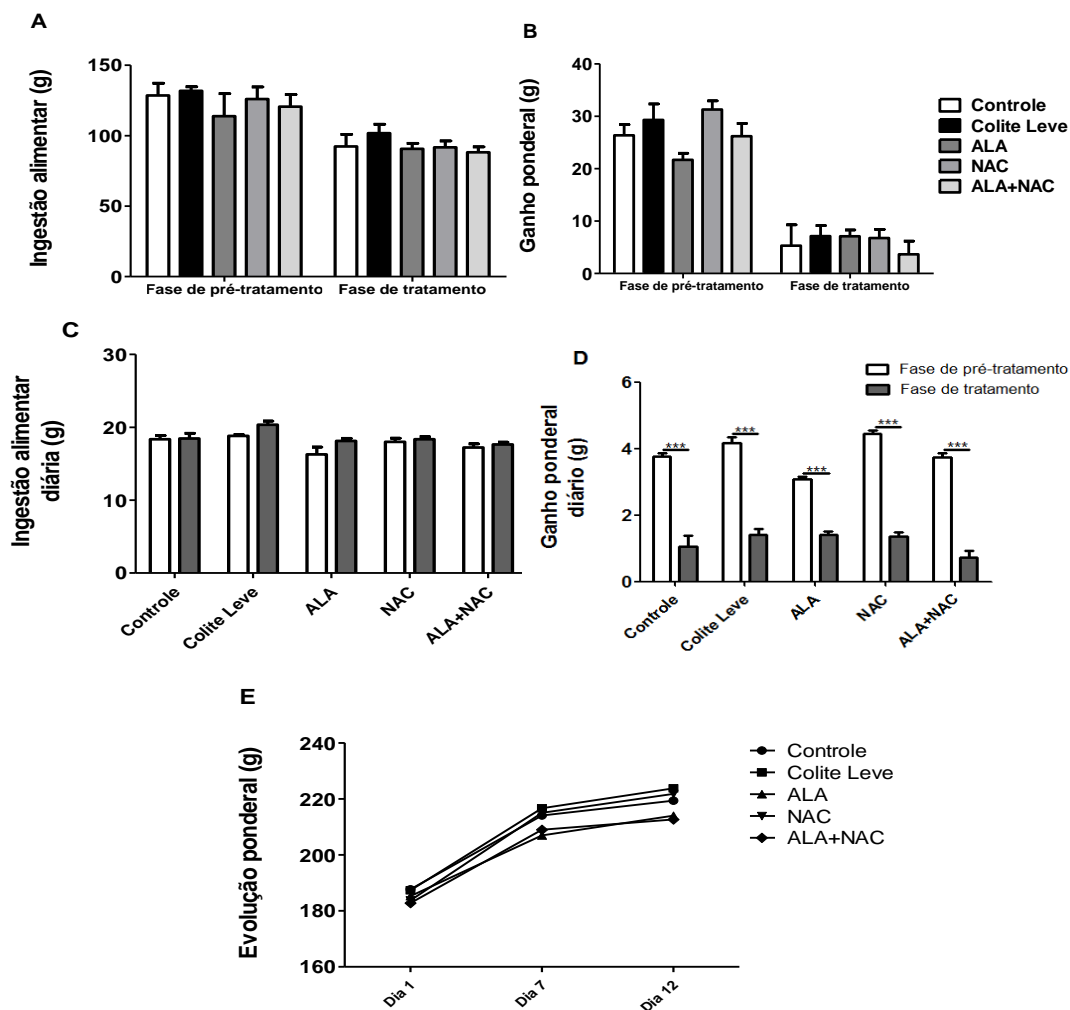
Para que a descrição dos resultados fique mais clara, estes foram divididos em três sub tópicos: dados gerais, marcadores colônicos e marcadores hepáticos.

2.4.1 – Dados gerais

- a) Colite leve e suplementação não altera peso corporal, ingestão alimentar ou pesos do intestino ou fígado

Em ambas as fases (pré tratamento e tratamento) do estudo, o uso do SSD ou dos suplementos antioxidantes não apresentaram efeitos sobre a ingestão alimentar total (Figura 19A), ganho ponderal (Figura 19B) e ingestão alimentar diária (Figura 19C). Na avaliação do ganho de peso diário – comparação de cada grupo segundo a fase experimental (Figura 19D) percebe-se uma significativa ($p < 0,001$) redução na ingestão alimentar em todos os grupos na fase de tratamento, decorrente possivelmente da maior adaptação ao ambiente/ração bem como à estabilização do crescimento decorrente da maior idade. A evolução do ganho de peso, de acordo com os dias de tratamento, pode ser observada na Figura 19E. Nenhuma alteração significativa nos pesos absoluto e relativo do cólon e fígado foi observada (Tabela 8). Também não ocorreu diferença estatística relacionada à ingestão de água resultante da adição do SSD durante a fase de tratamento.

Figura 19- Dados de ingestão e ganho de peso, segundo o grupo de tratamento



Legenda: ingestão alimentar total (g) (A), ganho ponderal por fase (g) (B), ingestão alimentar diária (g) (C), ganho ponderal diário (g) (D) e evolução ponderal (g) (E); ALA = ácido lipoico; ALA+NAC = ácido lipoico associado à N-acetilcisteína. Resultados expressos em média \pm EP. $p < 0,001$ (pós teste de Boniferroni).

b) Ácido lipoico associado à N-acetilcisteína eleva aminotransferases

O uso do SSD e NAC não causou alterações nos parâmetros sorológicos estudados. Entretanto, a suplementação de ALA reduziu os níveis de globulinas totais quando comparado ao grupo Colite Leve ($p < 0,01$). No entanto, essa alteração bioquímica não apresenta justificativa fisiológica visto que o parâmetro mais importante na avaliação da função hepática, albumina, permaneceu semelhante estatisticamente entre os grupos (Tabela 9).

Tabela 8- Pesos absoluto (g) e relativo do cólon e fígado, segundo o grupo de tratamento.

	Controle	Colite Leve	ALA	NAC	ALA+NAC
Cólon (g)	2,54±0,10	2,30±0,14	2,21±0,11	2,19±0,15	2,02±0,10
Razão cólon/peso corporal	0,01±0,00	0,01 ± 0,00	0,01±0,00	0,01±0,00	0,01±0,00
Fígado (g)	8,74±0,40	8,76 ± 0,28	8,57±0,31	8,22±0,39	8,40±0,14
Razão fígado/peso corporal	0,04±0,00	0,04 ± 0,00	0,04±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00

Legenda: ALA = ácido lipoico; ALA+NAC = ácido lipoico associado à N-acetilcisteína. Resultados expressos em média ± EP.

Por outro lado, é útil observar a ação da combinação do ALA com NAC sobre os marcadores de lesão hepática, ALT e AST. Analisando a tabela 9, percebe-se que o grupo ALA+NAC, não apenas se diferenciou estatisticamente do grupo controle ($p < 0,05$), mas também do grupo NAC ($p < 0,05$), sendo 2,2x e 2x maior que os níveis de ALT e AST encontrados no grupo que recebeu NAC de forma isolada, respectivamente. Apesar dessas enzimas não serem marcadores exclusivos de dano hepático, elevando-se em situações clínicas como cardiopatias e miopatias, quando analisados junto aos parâmetros oxidativos (Figura 27) e inflamatórios (Figura 28), torna a combinação de ALA+NAC preocupante para manutenção do equilíbrio metabólico hepático.

Tabela 9- Parâmetros bioquímicos plasmáticos segundo o grupo de tratamento

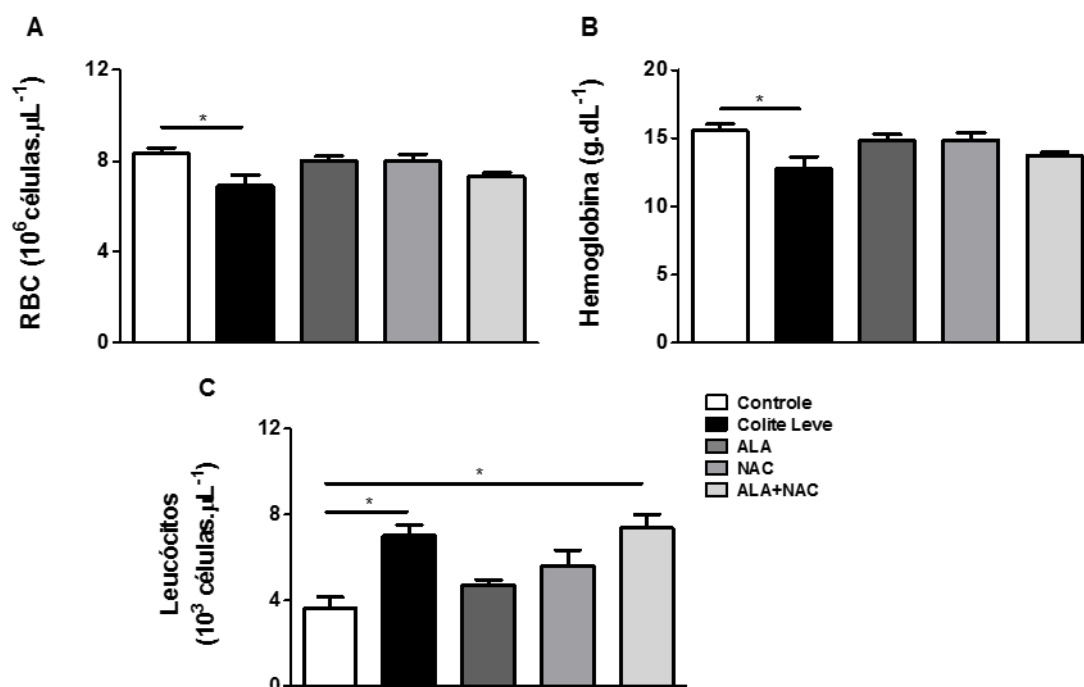
	Controle	Colite Leve	ALA	NAC	ALA+NAC
Hb1Ac (%) ^ψ	7,80 ± 0,15	7,97 ± 0,29	8,50 ± 0,40	8,13 ± 0,33	7,88 ± 0,28
Glicose (mg.dL ⁻¹)	189,00 ± 31,35	207,80 ± 38,77	196,00 ± 61,01	156,2 ± 23,66	176,40 ± 18,76
PCR (mg.dL ⁻¹)	2,22 ± 0,32	2,20 ± 0,16	1,90 ± 0,25	2,15 ± 0,30	2,18 ± 0,29
Cálcio (mg.dL ⁻¹)	9,25 ± 0,31	8,90 ± 0,29	8,13 ± 0,90	8,68 ± 0,23	8,64 ± 0,41
CT (mg.dL ⁻¹)	76,00 ± 7,69	65,75 ± 7,20	70,50 ± 5,50	72,25 ± 5,45	64,33 ± 8,67
TG (mg.dL ⁻¹)	55,50 ± 14,56	63,25 ± 14,48	53,50 ± 0,71	54,25 ± 7,01	50,20 ± 19,83
LDL-C (mg.dL ⁻¹)	37,56 ± 14,37	30,32 ± 5,67	31,80 ± 3,60	35,90 ± 5,37	29,96 ± 5,70
HDL-C (mg.dL ⁻¹)	27,33 ± 2,26	24,50 ± 1,76	28,00 ± 2,00	25,50 ± 0,87	23,60 ± 3,17
AST (U/L)	167,50 ± 27,91	194,00 ± 20,72	297,75 ± 59,74	153,40 ± 20,34	359,75 ± 76,95 ^{αδ}
ALT (U/L)	82,83 ± 5,83	104,25 ± 6,14	133,00 ± 24,78	85,25 ± 6,02	168,25 ± 38,60 ^{αδ}
FA (U/L)	420,50 ± 33,84	345,00 ± 12,45	315,00 ± 66,24	302,40 ± 46,64	305,00 ± 53,97
BT (mg.dL ⁻¹)	0,12 ± 0,00	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,10 ± 0,02
BD (mg.dL ⁻¹) ^ψ	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00
BI (mg.dL ⁻¹) ^ψ	0,10 ± 0,00	0,07 ± 0,02	0,08 ± 0,00	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,01
PT (g.dL ⁻¹)	5,24 ± 0,19	4,63 ± 0,48	4,20 ± 0,41	4,78 ± 0,17	4,66 ± 0,14
ALB (g.dL ⁻¹)	2,90 ± 0,27	2,28 ± 0,89	2,50 ± 0,46	2,74 ± 0,18	2,68 ± 0,15
GLOB (g.dL ⁻¹)	2,30 ± 0,09	1,95 ± 0,03	1,70 ± 0,15 ^{αα}	2,04 ± 0,10	1,98 ± 0,10

Legenda: ALA = ácido lipoico; ALA+NAC = ácido lipoico associado à *N*-acetilcisteína; ALB = albumina; BD = bilirrubina direta; ALT= alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; BI = bilirrubina indireta; BT = bilirrubina total; CT = colesterol total; FA = fosfatase alcalina; GLOB = globulina; Hb1Ac = hemoglobina glicosilada; HDL-C = lipoproteína de alta densidade; LDL-C = lipoproteína de baixa densidade; PT = proteína total; PCR = proteína C reactiva; TG = triglicérides. $\alpha = p < 0.05$ vs Controle; $\alpha\alpha = p < 0.01$ vs Colite Leve; $\delta = p < 0.05$ vs NAC (tukey test). ψ = Kuskall-Wallis. Resultados expressos em Média ± EP.

- c) ALA e NAC fornecidos isoladamente, mas não combinados, evitaram a redução nos níveis de hemoglobina, eritrócitos e leucócitos causadas pela colite leve

Uma redução significativa nos níveis de RBC e HGB (Figura 20 A e B) foi observado na Colite Leve, apesar de alterações clínicas como sangramento retal, diarreia e perda de peso não terem sido observadas entre os grupos. Adicionalmente, todos os tratamentos testados (ALA, NAC e ALA+NAC) conseguiram aumentar os níveis de RBC e HGB, porém permaneceram semelhantes estatisticamente aos grupos Controle e Colite Leve. Da mesma forma, ALA e NAC isolados foram capazes de minimizar a elevação de leucócitos (Figura 20 C), indicativo de processo infeccioso e/ou inflamatório, típica da RCUI, porém, quando esses antioxidantes foram administrados combinados, grupo ALA+NAC, não conferiram o mesmo efeito benéfico.

Figura 20- Marcadores hematológicos, segundo o grupo de tratamento



Legenda: Eritrócitos (RBC) (10^6 células. μL^{-1}) (A); hemoglobina (HGB) (g.dL $^{-1}$) (B); e leucócitos (10^3 células. μL^{-1}) (C) ALA = grupo Ácido Lipoico; NAC = grupo *N*-acetilcisteína; ALA+NAC = grupo ALA combinado com NAC; Resultados expressos em Média \pm EP; * = $p < 0,05$ (Teste de Tukey)

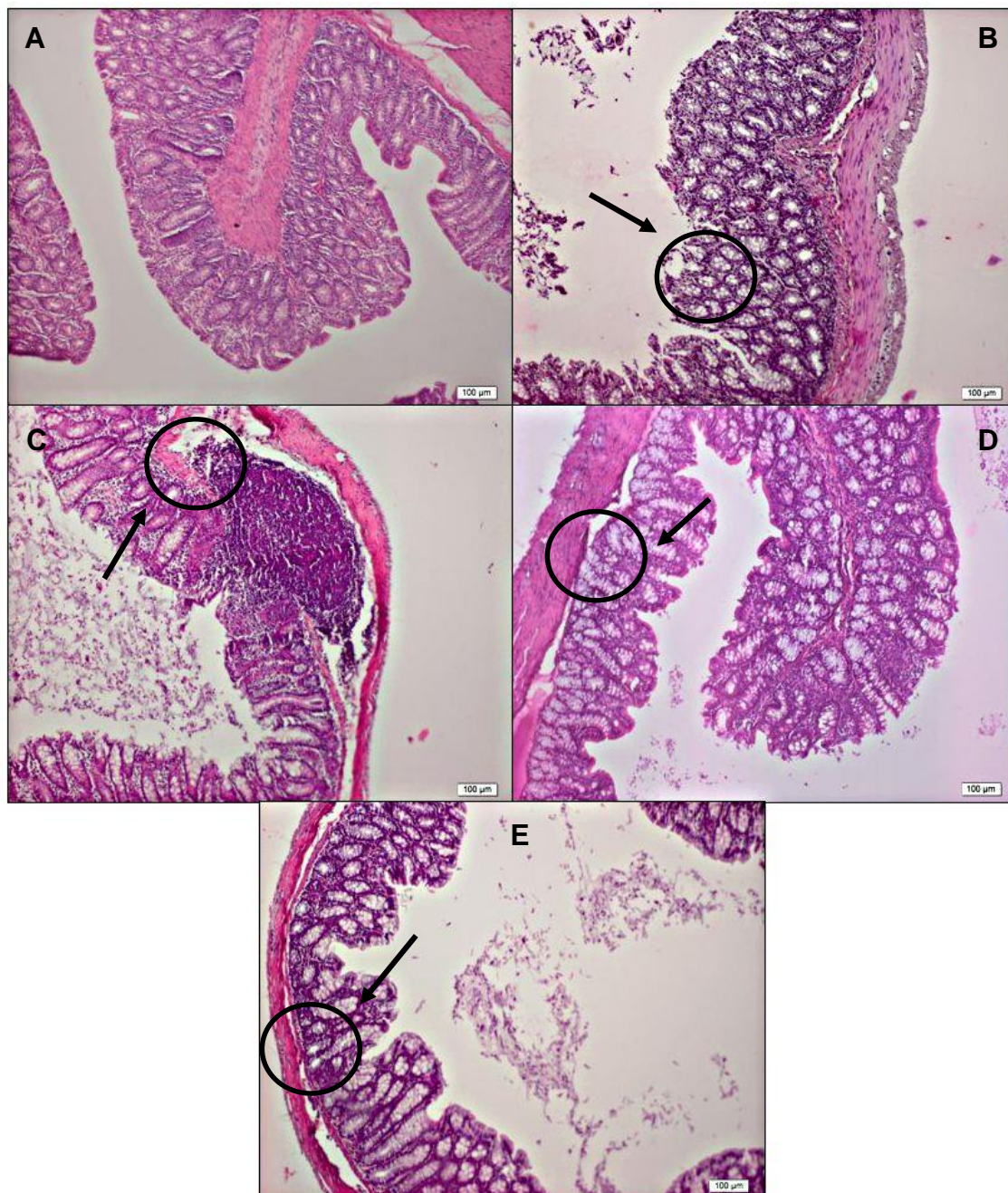
2.4.2 – Marcadores Colônicos

- a) ALA ou NAC melhoraram o dano histológico causado pelo SSD no grupo Colite Leve

A análise dos cólons dos animais tratados com SSD (grupo Colite Leve) confirmou a presença do dano histológico através do aumento da infiltração celular na submucosa, aumento da depleção nas células de Goblet, aumento na distorção/dano na arquitetura das criptas com abscessos e aumento na profundidade das erosões celulares (Figura 21B). Todos os grupos tratados com o SSD demonstraram algumas dessas alterações (Figura 21 C a E), porém as alterações morfológicas associadas à ingestão deste sal foram reduzidas nos tratamentos com antioxidantes, mostrando um efeito protetor destes na arquitetura da mucosa, quando comparados ao grupo Colite Leve.

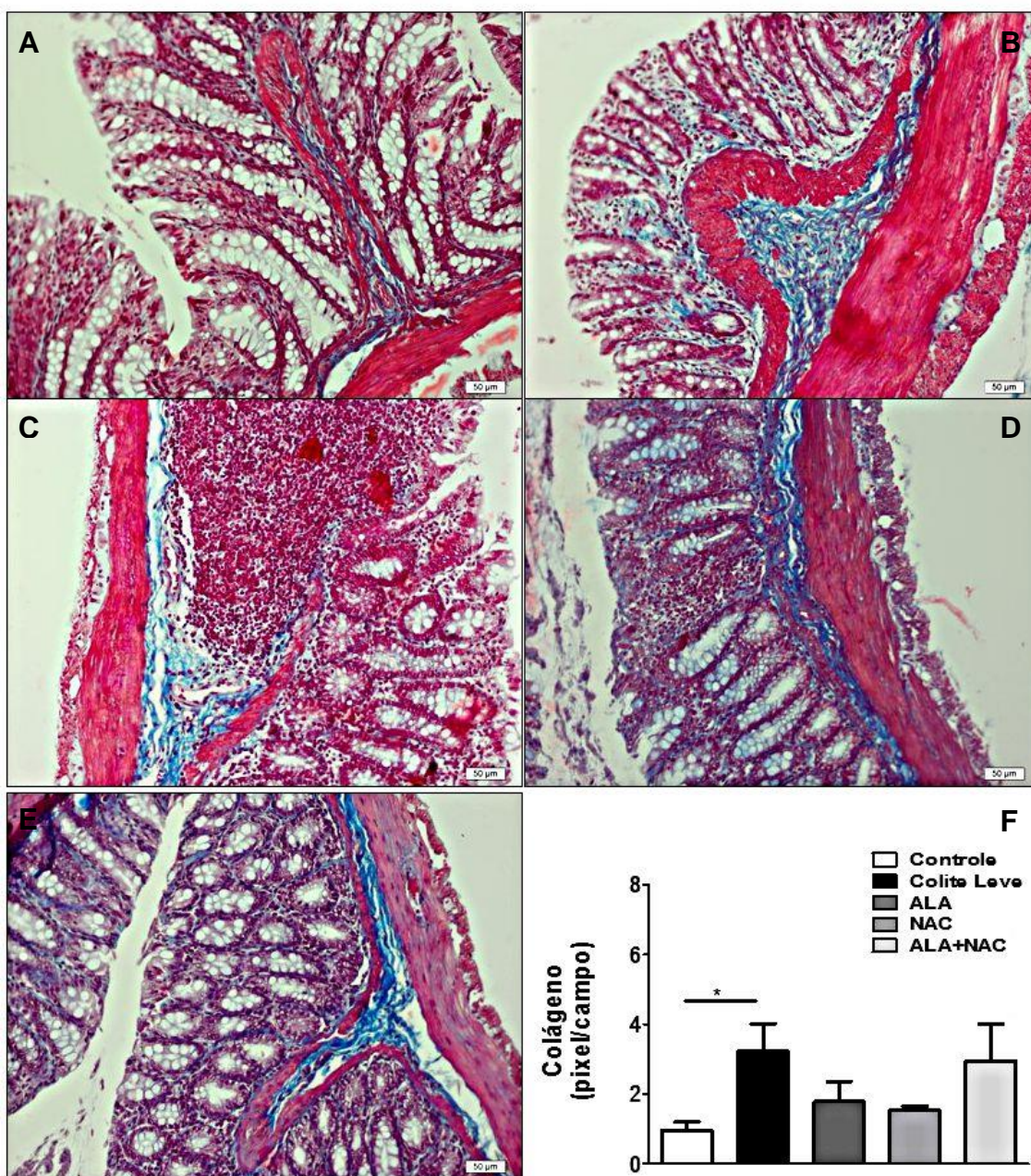
A deposição de colágeno, visualizada através da coloração azul, confirma a presença de tecido fibrótico, sendo essa deposição mais intensa no grupo Colite Leve (Figura 22B). Por outro lado, os tratamentos com ALA e/ou NAC (Figura 22 C a E) conseguiram reduzir essa deposição, mas não o suficiente para prevenir as lesões da RCUI leve e suas quantidades de colágeno mantiveram-se iguais aos grupos Controle e Colite Leve ($p>0,05$), o que pode ser confirmado ainda por todos os animais apresentarem algum grau de alteração histológica (Figura 22F).

Figura 21- Avaliação histopatológica colônica através da coloração com hematoxilina e eosina do cólon (aumento de 50x), segundo o grupo de tratamento



Legenda: A = Grupo Controle; B = Grupo Controle Leve; C = Grupo ALA (ácido lipoico); D = Grupo NAC (*N*-acetilcisteína); E = grupo ALA+NAC (ALA combinado com NAC). As setas mostram lesões colônicas e destruição das criptas intestinais; (B) a cor azul está presente em áreas com acúmulo de muco e colágeno, especialmente na lâmina própria, mucosa e entre as criptas.

Figura 22- Avaliação histopatológica colônica através da coloração de tricrome de Masson (aumento de 100x) (A, B, C, D e E) e contagem de colágeno (pixel/campo) (F), segundo o grupo de tratamento



Legenda: A = Grupo Controle; B = Grupo Controle Leve; C = Grupo ALA (ácido lipoico); D = Grupo NAC (*N*-acetilcisteína); E = grupo ALA+NAC (ALA combinado com NAC); F = Contagem de colágeno (pixel/campo): resultado representa média \pm EP do grupo; *= $p < 0,05$ (teste de Dunns).

- b) Dano oxidativo no cólon é o primeiro sinal bioquímico de dano intestinal observado na Colite Leve

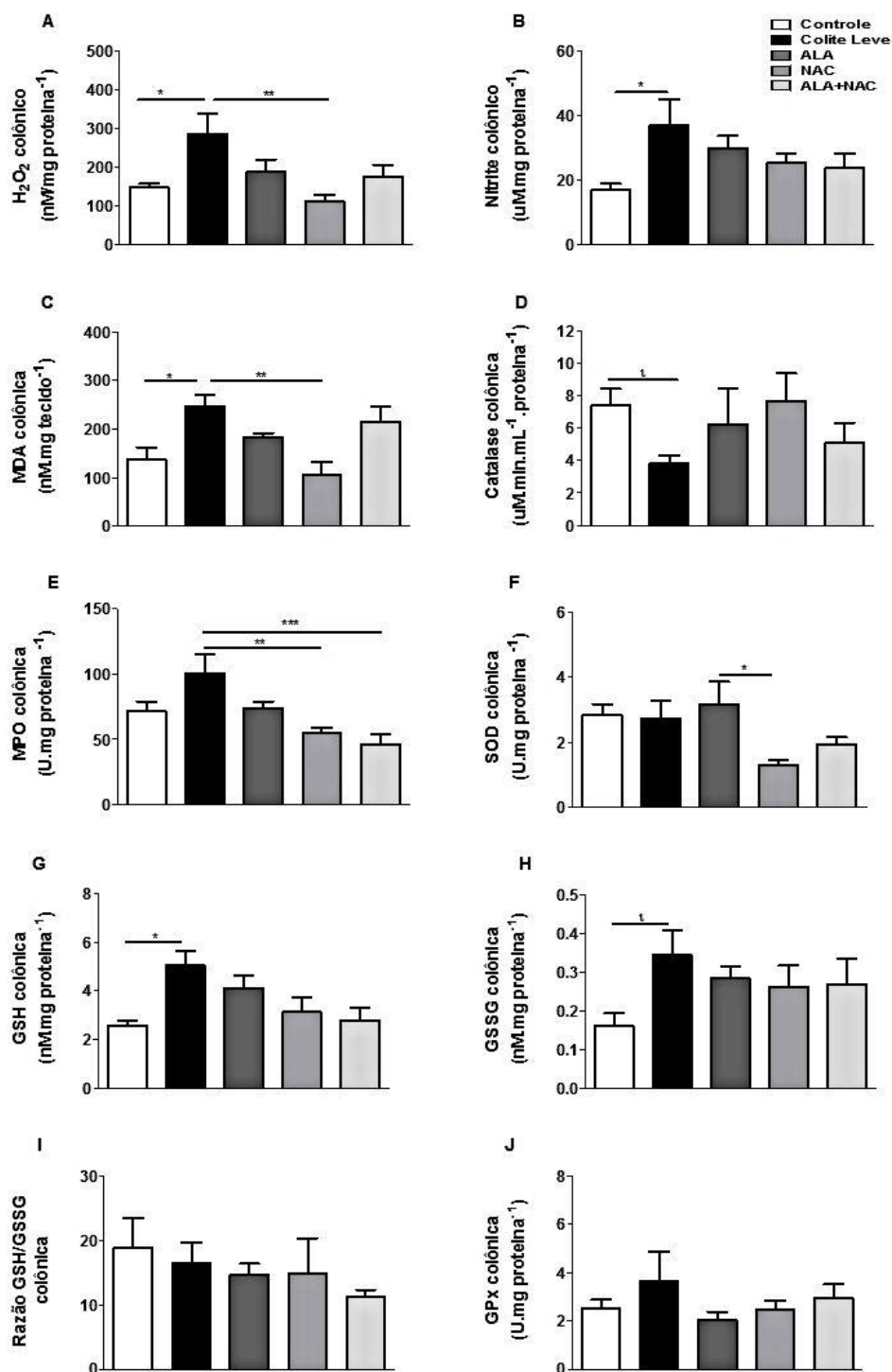
O dano oxidativo, representado pelo aumento dos níveis colônicos de H_2O_2 (Figura 23A), nitrito (Figura 23B) e MDA (Figura 23C), juntamente com a redução na atividade da catalase (Figura 23D), já estão presentes na Colite Leve, o que confirma o envolvimento do EO na gênese da RCUI. A NAC foi capaz de restaurar tanto o H_2O_2 quanto o MDA aos níveis do grupo Controle. Além disso, esse suplemento reduziu significativamente ($p < 0,05$) os níveis de MPO vs Colite Leve, o que confirma seu maior poder antioxidante relativamente ao ALA (Figura 23E). Adicionalmente, a NAC reduziu a atividade da SOD (Figura 23F) vs grupo ALA.

No grupo Colite Leve, pode ser observada uma elevação tanto dos níveis de GSH (Figura 23G) quanto de GSSG (Figura 23H), o que pode ser considerado como uma tentativa de resposta do organismo aos danos oxidativos inerentes da RCUI. Nenhuma alteração na razão GSH/GSSG (Figura 23I) ou na atividade da GPx (Figura 23J) foram observadas.

- c) Mudanças no perfil intestinal de citocinas não foram observadas na Colite Leve e a associação de ALA com NAC elevou inflamação

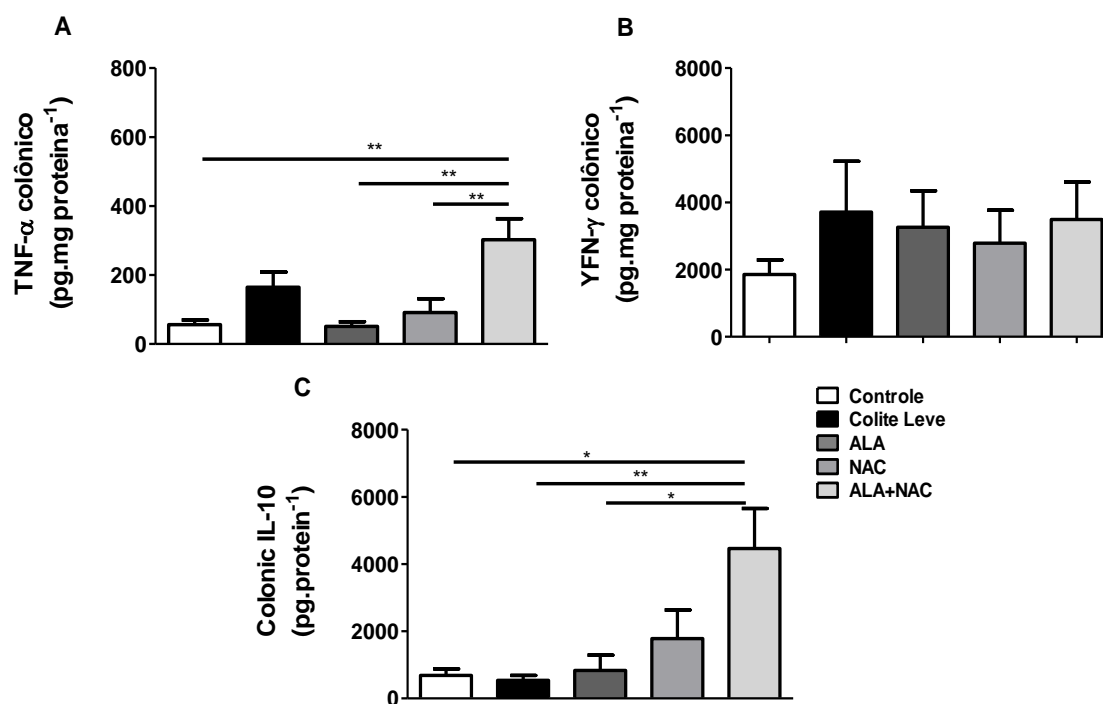
A inflamação colônica representada pelas citocinas $TNF-\alpha$ and $INF\gamma$, envolvidas na resposta imune, e a citocina anti-inflamatória IL-10, não estavam alteradas no grupo Colite Leve quando comparado ao grupo Controle (Figura 24 A, B e C). Apesar da elevação dos níveis de $TNF-\alpha$, estes não foram estatisticamente significantes ($p > 0,05$). Por outro lado, a combinação ALA+NAC aumentou significativamente tanto o $TNF-\alpha$ (comparativamente aos grupos ALA e NAC) (Figura 24A), quanto a IL-10 (Figura 24) (vs demais grupos).

Figura 23- Marcadores oxidativos colônicos, segundo o grupo de tratamento



Legenda: Níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (nM.mg de proteína⁻¹) (A); níveis de nitrito (μM.mg de proteína⁻¹) (B); níveis de malondialdeído (MDA) (nM.mg de tecido⁻¹) (C); atividade da catalase (μM.mim.mL⁻¹.mg de proteína⁻¹) (D); atividade da mieloperoxidase (MPO) (U.mg de proteína⁻¹) (E); atividade da superóxido dismutase (SOD) (U.mg de proteína⁻¹) (F); níveis de glutatona reduzida (GSH) (G) e glutatona oxidada (H); razão glutatona reduzida/oxidada (I); e atividade da glutatona peroxidase (GPx) (J): ALA (ácido lipoico); NAC (*N*-acetilcisteína); ALA+NAC (ALA combinado com NAC); * = p < 0,05; ** = p < 0,01 (teste de Tukey); *** = p < 0,001 (teste de Tukey); † = p < 0,05 (test t de student).

Figura 24- Marcadores da inflamação colônica, segundo o grupo de tratamento



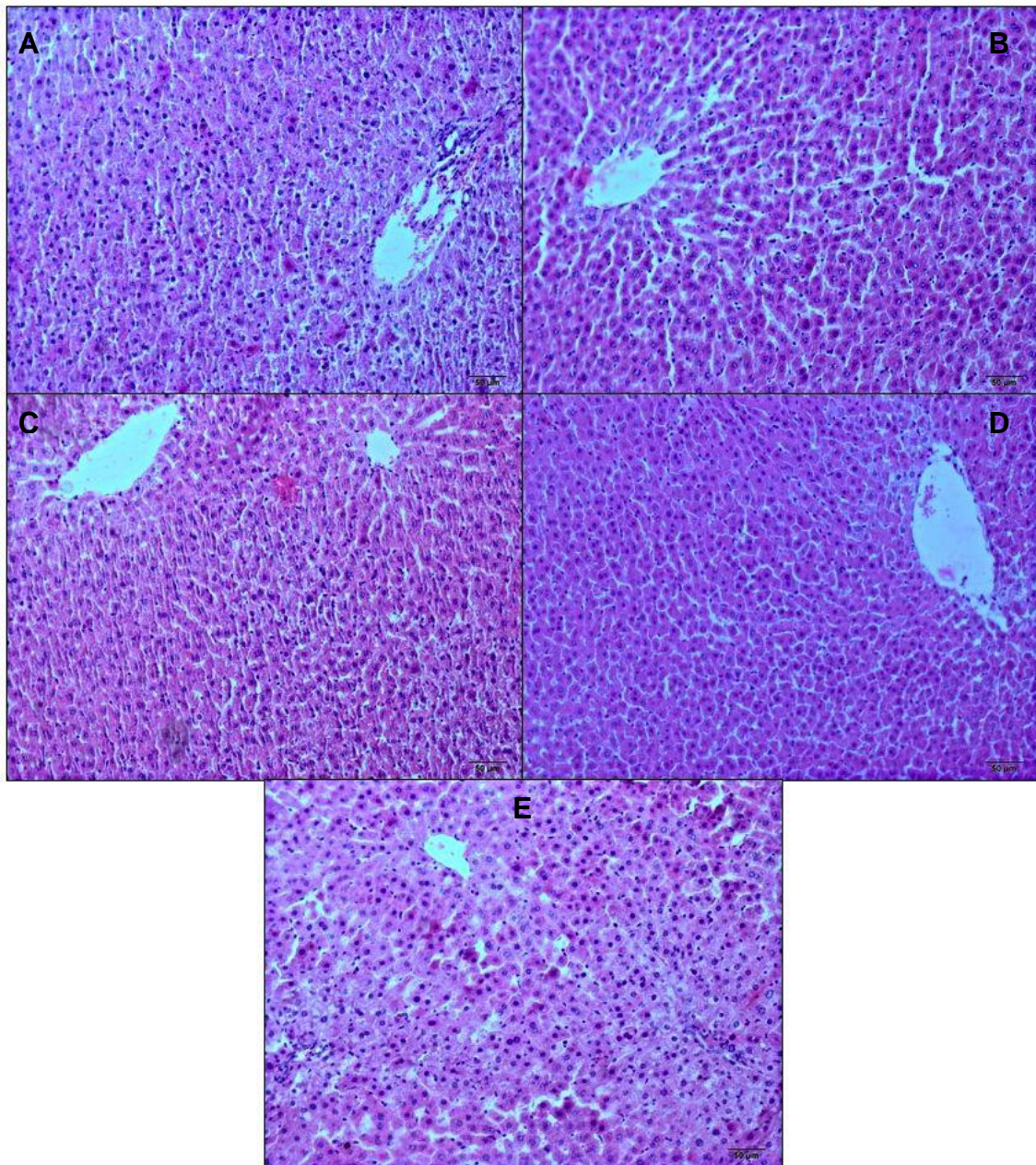
Legenda: Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (pg.mg de proteína⁻¹) (A); interferon gama (INF γ) (pg.mg de proteína⁻¹) (B); e interleucina 10 (IL-10) (pg.mg de proteína⁻¹) (C): ALA (ácido lipoico); NAC (*N*-acetilcisteína); ALA+NAC (ALA combinado com NAC); * = $p < 0,05$ (teste de Tukey); ** = $p < 0,01$ (teste de Tukey).

2.4.3 – Marcadores Hepáticos

a) Nenhum dos tratamentos estabelecidos causou injúria hepática histológica

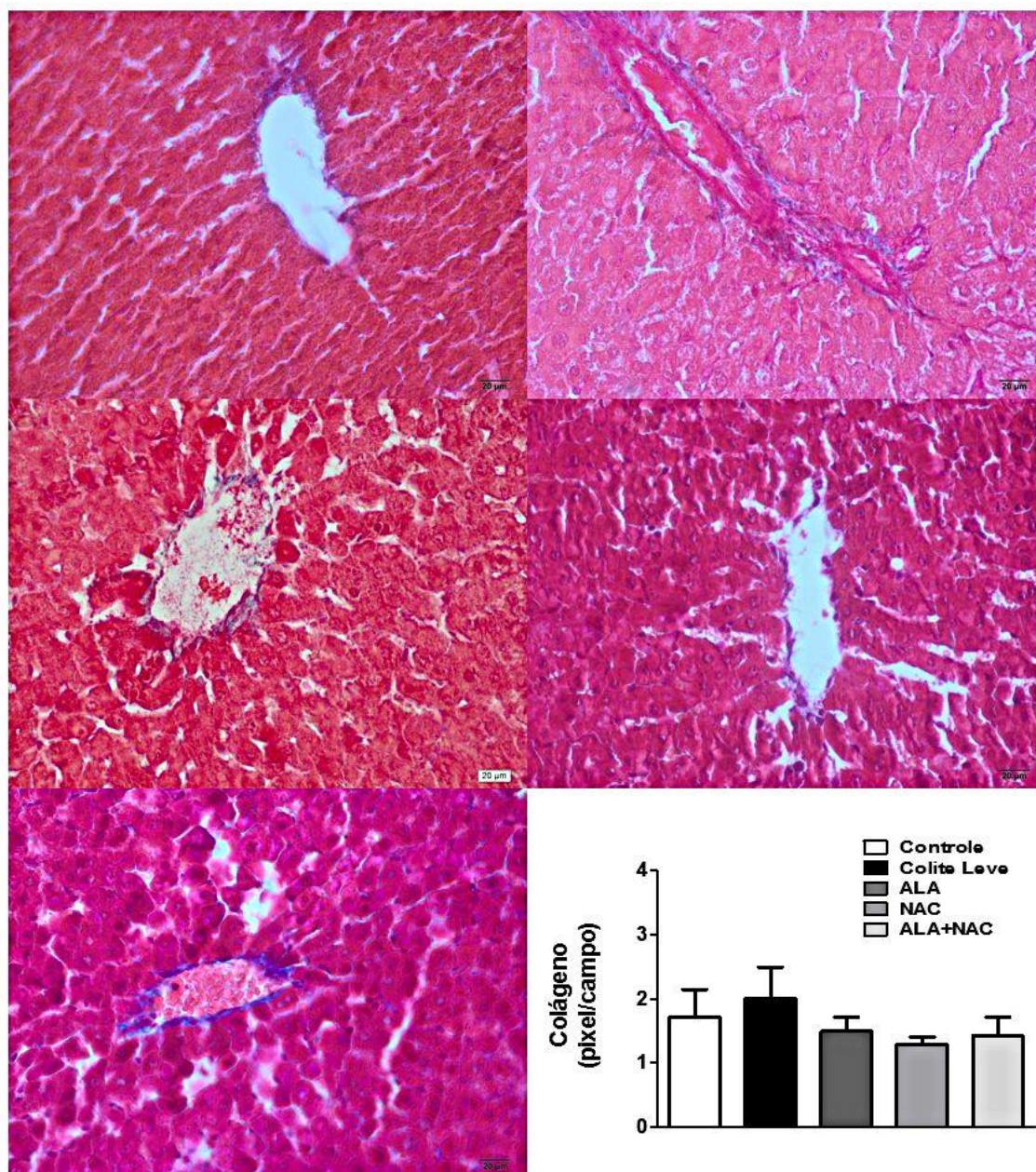
A análise histológica, realizada com as colorações HE (Figura 25) e tricromo de Masson (Figura 26), juntamente com a análise de marcadores bioquímicos de lesão hepática (Tabela 9) mostraram que não houve qualquer alteração hepática causada pelo uso do SSD. No entanto, a combinação dos suplementos (grupo ALA+NAC) apresentou efeitos preocupantes sobre este órgão, como elevação dos níveis das duas aminotransferases (ALT e AST). Contudo, essa elevação não foi acompanhada de alteração histológica característica de necrose tecidual e deposição de colágeno.

Figura 25- Avaliação histopatológica hepática através da coloração com hematoxilina e eosina do cólon (aumento de 100x), segundo o grupo de tratamento



Legenda: A = Grupo Controle; B = Grupo Controle Leve; C = Grupo ALA (ácido lipoico); D = Grupo NAC (*N*-acetilcisteína); E = grupo ALA+NAC (ALA combinado com NAC).

Figura 26- Avaliação histopatológica hepática através da coloração de tricrome de Masson (aumento de 20x) (A, B, C, D e E) e contagem de colágeno (pixel/campo) (F), segundo o grupo de tratamento



Legenda: A = Grupo Controle; B = Grupo Controle Leve; C = Grupo ALA (ácido lipoico); D = Grupo NAC (*N*-acetilcisteína); E = grupo ALA+NAC (ALA combinado com NAC); F = Contagem de colágeno (pixel/campo): resultado representa média \pm EP do grupo; $*=p<0,05$ (teste de Dunns).

b) A suplementação com ALA e/ou NAC apresenta modulações redox distintas

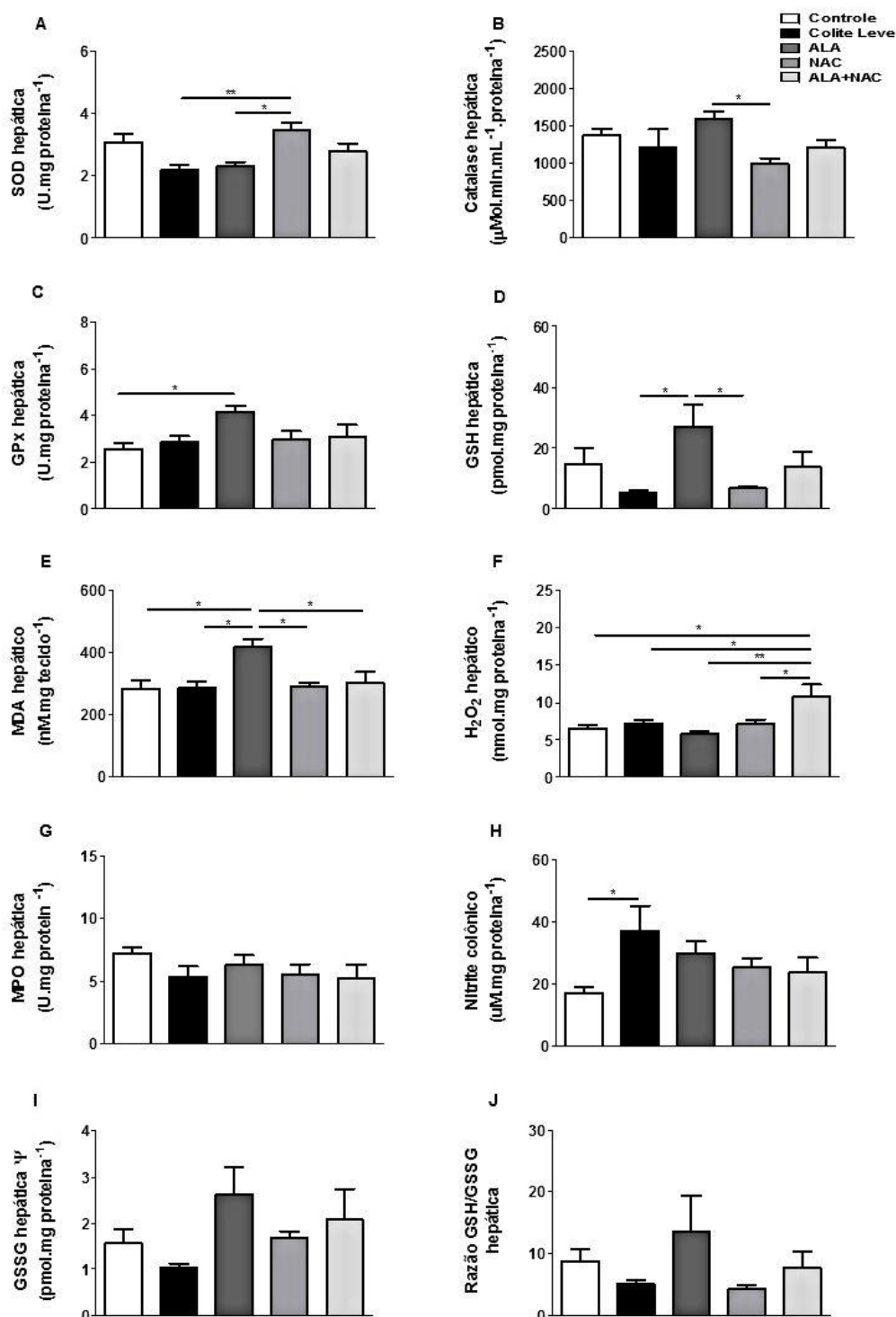
Assim como observado nas análises histológica e bioquímica sérica, o consumo de SSD não causou injúria oxidativa hepática. Os antioxidantes utilizados apresentaram comportamentos distintos: enquanto a NAC aumentou a atividade da SOD (comparativamente aos grupos ALA e Colite Leve) (Figura 27A); o ALA demonstrou tanto efeitos antioxidantes, com uma maior atividade das enzimas catalase (vs grupo NAC) (Figura 27B) e GPx (vs grupo Controle) (Figura 27C), e maiores níveis da GSH (vs grupos NAC e Colite Leve) (Figura 27D), como pró-oxidantes, elevando os níveis de MDA comparativamente a todos os demais grupos (Figura 27E). Por outro lado, a combinação ALA+NAC elevou significativamente (vs demais grupos) os níveis de H_2O_2 (Figura 27F), demonstrando um maior poder pró-oxidante dessa combinação.

Nenhuma mudança na atividade da MPO (Figura 27G), nos níveis de nitrito (Figura 27H) e de GSSG (Figura 27I), ou na razão GSH/GSSH (Figura 27J) foram observadas.

c) Associação do ALA com NAC causa inflamação hepática

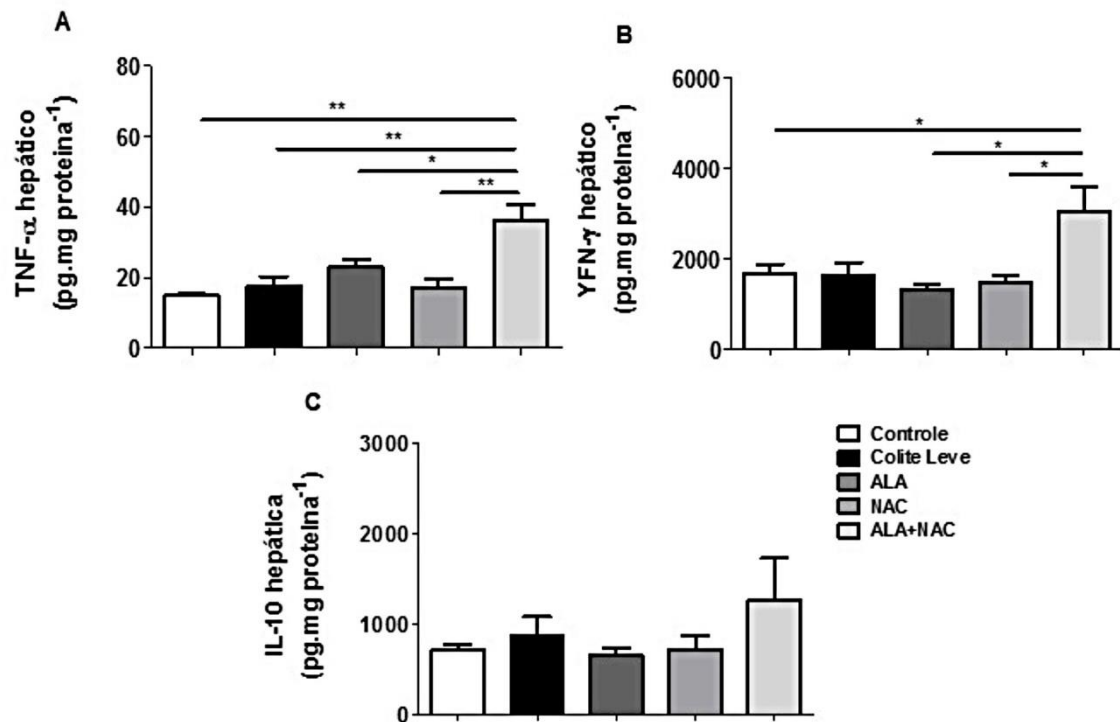
Assim como nos demais parâmetros avaliados, o perfil das citocinas analisadas não sofreu alterações em virtude do consumo do SSD. Porém, uma vez mais, a combinação dos dois antioxidantes, ALA e NAC, mostrou-se hepatotóxica, causando elevação da atividade pró-inflamatória ($TNF-\alpha$ e $INF\gamma$) (Figura 28 A e B) sem interferir na atividade anti-inflamatória (IL-10) (Figura 29C).

Figura 27- Marcadores oxidativos hepáticos, segundo o grupo de tratamento



Legenda: Atividade da superóxido dismutase (SOD) (U.mg de proteína⁻¹ (A)); atividade da catalase (μM.mim.ml⁻¹.mg de proteína⁻¹) (B); atividade da glutatona peroxidase (GPx) (C); níveis de glutatona reduzida (GSH) (D); níveis de malondialdeído (MDA) (nM.mg de tecido⁻¹) (E); níveis de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (nmol.mg de proteína⁻¹) (F); atividade da mieloperoxidase (MPO) (U.mg de proteína⁻¹) (G); níveis de nitrito (μM.mg de proteína⁻¹) (H); níveis de glutatona oxidada (I); e razão glutatona reduzida/oxidada (J): ALA (ácido lipoico); NAC (N-acetilcisteína); ALA+NAC (ALA combinado com NAC); * = p < 0,05; ** = p < 0,01 (teste de Tukey). : Ψ = teste de Kruskal-Wallis

Figura 28- Marcadores da inflamação hepática segundo o grupo de tratamento



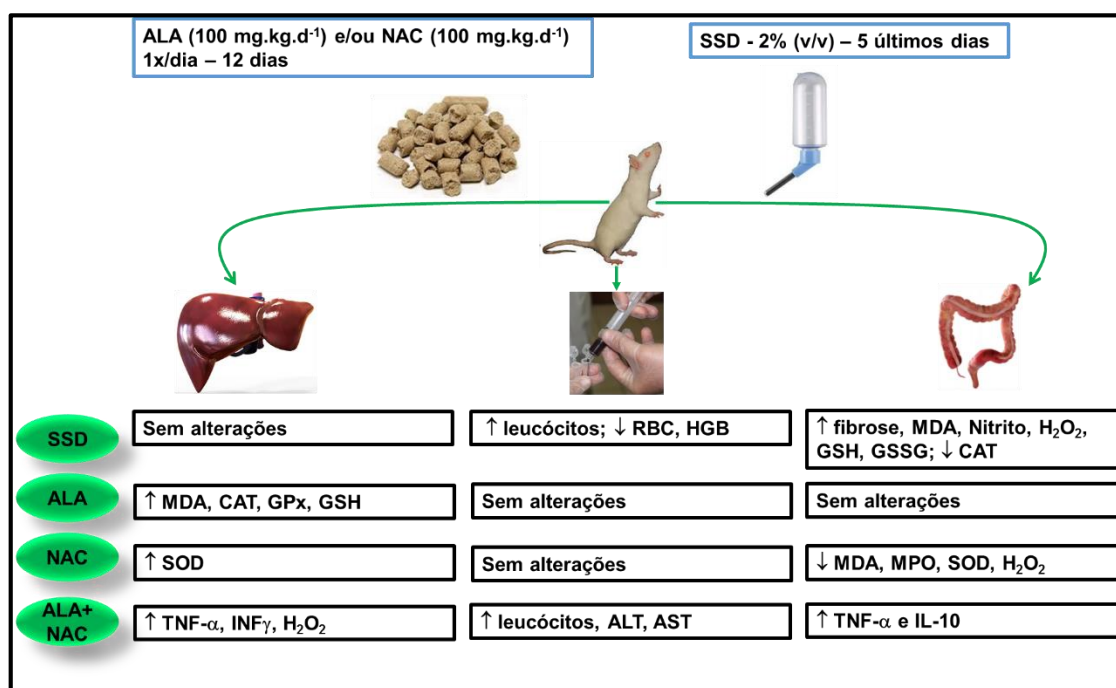
Legenda: Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (pg.mg de proteína⁻¹) (A); interferon gama (INF γ) (pg.mg de proteína⁻¹) (B); e interleucina 10 (IL-10) (pg.mg de proteína⁻¹) (C); ALA (ácido lipoico); NAC (*N*-acetilcisteína); ALA+NAC (ALA combinado com NAC); * = p < 0,05 (teste de Tukey); ** = p < 0,01 (teste de Tukey).

Um resumo dos principais resultados pode ser visto na Figura 29.

2.5. Discussão

Como demonstrado nos resultados, foram realizadas análises das alterações histológicas, dos biomarcadores do dano oxidativo (MDA, H_2O_2 , nitritos), da defesa antioxidante (CAT, SOD, GSH, GSH/GSSG, GPx), dos pró-oxidantes (MPO, GSSG) e dos marcadores inflamatórios (TNF- α , INF γ e IL-10) no cólon e no fígado, de modo a investigar o papel dos antioxidantes (NAC e/ou ALA) no controle dos danos causados pelo SSD, em um modelo experimental de RCUI leve.

Figura 29- Principais resultados histológicos, sorológicos, oxidativos e inflamatórios segundo o grupo de tratamento



Fonte: Autora

Legenda: ↑ = aumentou; ↓ = reduziu; ALA = ácido lipoico; ALT = alanina aminotransferase; AST = aspartato aminotransferase; CAT = catalase; GSH = glutatona reduzida; GSSG = glutatona oxidada; GPx = glutatona peroxidase; HGB = hemoglobina; IL = interleucina; INF γ = interferon gama; MDA = malondialdeído; MPO = mieloperoxidase; NAC = *N*-acetilcisteína; SOD = superóxido dismutase; SSD = sulfato de sódio dextrana; RBC = eritrócitos; TNF- α = fator de necrose tumoral alfa.

2.5.1 – Efeito do SSD e suplementação sobre o cólon

Estudos anteriores forneceram muitas evidências da associação entre o SSD e diferentes graus da severidade da RCUI (DAMIANI et al., 2007; AMINI-SHIRAZI et al., 2009; ARAFA et al., 2009; AMROUCHE-MEKKIOUI;DJERDJOURI, 2012; AJAYI;ADEDARA;FAROMBI, 2015), desde a colite leve até a carcinogênese, de acordo com a administração contínua de 2-5% p/v, durante um curto período de tempo (4-9 dias). Além disso, alterações histológicas, bioquímicas e imunológicas causadas pelo SSD são semelhantes à RCUI em humanos, mimetizando, dessa forma, a doença no modelo animal (PERŠE;CERAR, 2012).

O mecanismo exato da indução da colite pelo SSD não é completamente conhecido, mas parece envolver macrófagos disfuncionais, alterações bacterianas luminais e toxicidade direta ao epitélio (OKAYASU et al., 1990).

Neste estudo, a lesão colônica típica da RCUI, representada pela destruição das criptas e desorganização da estrutura intestinal, foi observada em todos os grupos que receberam SSD. Resultados semelhantes foram relatados por outros autores (SÁNCHEZ-FIDALGO, S. et al., 2010; PANDURANGAN et al., 2015a). No entanto, a suplementação de ALA e/ou NAC não conseguiu evitar completamente estes danos, incluindo a deposição de colágeno. Adicionalmente, foram observados no grupo Colite Leve tanto o aumento nos níveis de MDA, indicador da peroxidação lipídica e que, quando avaliado em conjunto com os dados histológicos de lesão colônica, sugerem evidências para uma perda de sangue, mesmo que mínima, mas que foi suficiente para refletir nos menores níveis de HGB e RBC encontrados neste grupo.

Em contraste com os nossos resultados histológicos, alguns autores que também investigam a RCUI induzida por SSD, identificaram efeitos preventivos das lesões colônicas após a suplementação oral com ALA e NAC. Trivedi & Jena (2013) observaram um importante efeito anti-fibrótico do ALA em camundongos com colite induzida por SSD, juntamente com a melhoria do perfil histológico (TRIVEDI;JENA, 2013b), enquanto Amrouche-Mekkioui & Djerdjouri (2012), também estudando camundongos e colite induzida por SSD, identificaram

aumento de muco, considerado uma importante barreira contra a penetração de bactérias no ambiente intercelular e lâmina própria, causada após suplementação de NAC (AMROUCHE-MEKKIOUI;DJERDJOURI, 2012). Os melhores resultados histológicos observados nesses dois últimos estudos podem ser explicados por um tempo de suplementação maior em ambos os estudos: 28 e 45 dias, respectivamente, quando comparados à suplementação aguda testada em nosso modelo experimental (12 dias de suplementação).

Neste modelo de colite leve, o perfil redox foi o primeiro parâmetro bioquímico a ser alterado quando comparado ao perfil inflamatório, especialmente em virtude do aumento dos níveis de H_2O_2 e nitrito. Sabe-se que o H_2O_2 pode causar PL, fragmentação de DNA e inativação da piruvato desidrogenase mitocondrial, despolarização da mucina e destruição das junções intercelulares (MOURA et al., 2015a).

Por outro lado, no presente estudo, o ALA foi capaz de sequestrar o H_2O_2 e reduzir a PL (níveis de MDA), mas a NAC foi mais efetiva, prevenindo completamente o aumento desses marcadores, uma vez que, diferentemente do grupo ALA, se diferenciou estatisticamente do grupo Colite Leve. É importante enfatizar que a dose utilizada de NAC mostrou-se eficaz na RCUI crônica, induzida por SSD (5% v/v por 5 dias), como observado por Amrouche-Mekkioui & Djerdjouri (2012). De acordo com esses autores, NAC (150 mg.kg.d^{-1} por 45 dias) reduziram os sintomas da colite, inflamação, apoptose celular, MPO e os níveis de $\bullet\text{NO}$ (AMROUCHE-MEKKIOUI;DJERDJOURI, 2012). Esses resultados em conjunto, indicam que a NAC apresenta efeitos antioxidante e anti-inflamatório, em diferentes estágios da RCUI.

No que se refere aos níveis de nitrito, é sabido que nitrito e nitrato são metabólitos do $\bullet\text{NO}$, uma ERN intimamente relacionada com a progressão da DII, especialmente com o megacólon tóxico (para maiores detalhes, ler o item 1.3.2 – pág 35 – e ver Figura 5). Como discutido anteriormente, o $\bullet\text{NO}$ reage com $O_2\bullet^-$, formando o $ONOO^-$ (Tabela 1), outra ERN que causa PL e, posteriormente ulcerações na mucosa colônica (Figura 5A), que fazem parte da evolução clínica das DII (Figura 1). A produção de $\bullet\text{NO}$, no cólon inflamado, é catalisada pela enzima iNOS, cuja expressão é estimulada pelo processo de infiltração de

macrófagos e neutrófilos, como demonstrado em biópsias de portadores da colite (KIMURA et al., 1997). Esta enzima pode ter sido a responsável pelo aumento dos níveis de nitrito no grupo Colite Leve, em nosso estudo, uma vez que não identificamos elevação significativa na atividade da MPO, enzima encontrada nos neutrófilos, importante produtor de $\cdot\text{NO}$ na RCUI, nesse grupo.

You et al. (2009), por outro lado, também observaram que a NAC apresentou elevada capacidade de sequestrar o H_2O_2 e os radicais hidroxila e peroxila na colite induzida por SSD, sendo que este antioxidante foi administrado via enema (YOU et al., 2009). Apesar do MDA não ser o melhor indicador da peroxidação lipídica não enzimática em sistemas biológicos complexos, diferentemente do biomarcador F2-isoprostano (Figura 9) (FORMAN et al., 2015), em nossa revisão sistemática (vide Capítulo 1), observa-se que a maioria dos estudos avaliaram os níveis de MDA de forma direta, como no nosso caso, através de análise em HPLC, ou de forma indireta, através da determinação de TBARS, o que torna esse marcador útil na comparação entre diversos estudos.

No presente trabalho, alterações na atividade colônica da SOD e GPx (Figura 23 F e J) no grupo Colite Leve, não foram observadas, semelhantemente ao encontrado por Akman et al. (2012), que estudaram biomarcadores do EO em pacientes portadores de colite em atividade (AKMAN; AKARSU; AKPINAR, 2012). Por outro lado, a menor atividade da SOD revelada no grupo NAC vs grupo ALA, sem evidências de elevação dos níveis de H_2O_2 , confirmam o maior poder antioxidante da NAC, em nosso modelo de colite leve.

Como pode ser visto no capítulo 1, quando identificamos 166 substâncias testadas no tratamento/prevenção das DII, confirma-se o interesse da comunidade científica na identificação de compostos, naturais ou sintéticos, capazes de minimizar o EO/inflamação característicos da DII (MOURA et al., 2015a). No entanto, dentre os 198 artigos encontrados, ALA (TRIVEDI; JENA, 2013b) e NAC (ANCHA et al., 2009; YOU et al., 2009; AMROUCHE-MEKKIOUI; DJERDJOURI, 2012; ROMAGNOLI et al., 2013; URAZ et al., 2013) fornecidos isoladamente, foram avaliados por 6 estudos e apenas 1 (URAZ et al., 2013) investigou a atividade da SOD e observou elevação na sua atividade, provavelmente por esta ser uma enzima cuja atividade é modestamente reduzida

durante a inflamação tecidual (MANGERICH et al., 2013), diferentemente da enzima GPx2, a forma gastrointestinal da GPx (BRIGELIUS-FLOHE;MAIORINO, 2013), a qual está intimamente associada ao metabolismo do H₂O₂ e cuja expressão gênica está reduzida em diversos modelos de indução da RCUI (TE VELDE et al., 2008).

Deve-se ressaltar, em nossos resultados, a elevação dos níveis de GSH e GSSG no grupo colite leve, o que não resultou em diferenças na razão GSH/GSSG. Uma possível explicação pode ser dada como uma consequência da resposta adaptativa do organismo à lesão inflamatória e oxidativa. Nossos resultados diferem dos de Amrouche-Mekkaoui & Djerdjouri (2012), que também estudaram a colite induzida por SSD em modelo animal (AMROUCHE-MEKKIOUI;DJERDJOURI, 2012). Esses autores observaram uma diminuição do conteúdo de GSH no grupo com colite moderada. Por outro lado, os nossos achados são semelhantes aos encontrados em vários estudos com câncer, tais como o da mama, ovário, pulmão e outros (GAMCSIK et al., 2012). No entanto, a respeito do câncer colorretal, os níveis de GSH podem estar aumentados, diminuídos ou não sofrerem qualquer alteração, dependendo em parte, do estágio do tumor (GAMCSIK et al., 2012). O aumento da GSH em tecidos inflamados ou em desequilíbrio redox, tais como na RCUI, pode ser explicado pelo papel desempenhado pela GSH na inibição da sinalização da apoptose, não só pela eliminação intracelular de EROs, mas também através da inibição da liberação do citocromo c das mitocôndrias e regulação da atividade de caspases sensíveis ao desequilíbrio redox (SINGH;KHAN;GUPTA, 2012). Nesse sentido, Yeh et al. (2006) sugeriram que altos níveis de GSH em tecidos com câncer podem estar associados com o aumento da proliferação das células e resistência ao EO, conferindo assim uma vantagem de crescimento seletivo para células tumorais em comparação com os seus pares normais.

Em nossos resultados, a influência do EO no ciclo da GSH foi confirmado pelo aumento da GSSG, no entanto, a elevação concomitante de níveis de GSH não causou alteração na razão GSH/GSSG, considerado o biomarcador mais importante do ciclo da glutatona (YEH et al., 2006).

O TGI é considerado o maior sítio de geração de pró-oxidantes, cuja produção deve-se principalmente à presença de um grande número de micróbios, ingredientes alimentares e de interações entre células do sistema imunológico (VERMA;MARELLA;ALAM, 2013).

O aumento na produção de várias espécies reativas, como $O_2^{\bullet-}$, $\bullet OH$, H_2O_2 , $HOCl$, $ONOO^-$ e $\bullet NO$, está intrinsicamente associado com a inflamação intestinal desde os estágios iniciais da DII (Figura 8), (para maiores detalhes ler tópico 1.3.3 – pag 47). Seus efeitos destrutivos sobre o DNA, proteínas e lipídeos podem contribuir com a iniciação e progressão da RCUI, causando diversos sintomas tais como anemia, carcinogênese, hepatotoxicidade (manifestações extra-intestinais) e hipersensibilidade, como pode ser visto na Figura 1 (PRAVDA, 2005). Além disso, o EO aumenta a inflamação e estimula a ativação do NF- κB , com a consequente produção de citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, fatores de crescimento e moléculas de adesão, o que causa inflamação e fibrose (VAZIRI et al., 2007) (vide item 1.3.3), identificado em nosso estudo pelo aumento dos níveis de leucócitos e deposição de colágeno.

Contrariamente ao TNF- α e INF γ , a IL-10 apresenta importante ação anti-inflamatória, sendo requerida para regular funções imunológicas, promovendo a supressão generalizada de respostas imunes através dos seus efeitos pleiotrópicos (HOVES et al., 2006). O desequilíbrio na produção dessas citocinas, incluindo o TNF- α , desempenha um papel fundamental na cascata de sinalização de vias inflamatórias (RUTGEERTS;VERMEIRE;VAN ASSCHE, 2009).

O TNF- α desempenha um papel crítico na patogênese das DII (Tabela 2), e por isso a terapia biológica com inibidores do TNF é utilizada no tratamento convencional para o controle de respostas imunes aberrantes e da cascata inflamatória típica da DII (RUTGEERTS;VERMEIRE;VAN ASSCHE, 2009).

Já o INF γ está envolvido com a superexpressão de várias quimiocinas, tais como o IFN- γ indutor da proteína 10 e o IFN- γ indutor de células T α , na mucosa intestinal de camundongos com RCUI induzida e em pacientes portadores de RCUI (BISPING et al., 2001).

Guijarro et al. (2008), estudando o efeito da NAC associada à mesalásina em pacientes com colite ulcerativa, também não observaram alterações nos níveis plasmáticos de TNF- α (GUIJARRO et al., 2008). Talvez essas alterações não tenham sido evidenciadas em nosso estudo, porque o modelo escolhido foi de RCUI leve e a regulação positiva de citocinas pró-inflamatórias, tais como INF γ e TNF- α , são observados mais consistentemente na inflamação grave, tal como a colite associada à carcinogênese (SUZUKI et al., 2014). Nesse caso, o INF γ e outras citocinas poderiam receber mais atenção no futuro (MOZAFFARI; NIKFAR; ABDOLLAHI, 2015).

Neste estudo, o efeito adverso da associação do ALA com a NAC no cólon é perceptível. Ao contrário do que seria esperado, a associação das duas substâncias com potente ação antioxidante e anti-inflamatória não foi capaz de promover uma ação benéfica, mesmo levando ao aumento dos níveis colônicos de IL-10. A elevação desta citocina anti-inflamatória pode ser explicada pelo aumento de leucócitos e de células dendríticas, sendo o último responsável pela sua secreção, e que estão aumentados em infiltrados colônicos (YU; WANG, 2011), relacionadas com doenças auto-imunes, tais como RCUI, que também está associada com a resposta imune envolvendo Th1 e Th17 (BAMIAS; KALITSA; LADAS, 2011). Cabe ressaltar que as células Th1 são responsáveis pela produção de INF γ e têm seu papel bem descrito na patogênese das DII (POWRIE et al., 1994). Por outro lado, o envolvimento das células Th17 vem se mostrando mais amplo. Camundongos *knockout* para o Th17 demonstraram maior resistência ao desenvolvimento da colite induzida por SSD (MANGAN et al., 2006). Além disso, sua citocina, a IL-17 estimula as células T da lâmina própria a produzirem INF γ (NIU et al., 2012; WANG et al., 2012) e o binômio IL-17/Th17 está diretamente relacionado ao recrutamento de neutrófilos e produção de diversas outras citocinas, ampliando dessa forma, a resposta inflamatória na colite ulcerativa (MIOSSEC; KORN; KUCHROO, 2009).

Contrariamente a outros estudos (YOU et al., 2009; TRIVEDI; JENA, 2013b), apesar de ter sido identificado um aumento nos leucócitos circulantes nos grupos Colite Leve e ALA+NAC (Figura 20C), esta elevação não foi acompanhada do incremento das citocinas avaliadas (Figura 24).

2.5.2 Efeito do SSD e suplementação sobre o fígado

As manifestações extraintestinais das DII ainda são pouco exploradas tanto epidemiologicamente quanto clinicamente pela comunidade científica. Contudo, dados recentes vêm relacionando essas manifestações com a atividade da doença (KARMIRIS et al., 2016) e ao uso do anti-TNF- α (ELIGIUS HELLSTROM;FARKKILA;KOLHO, 2016). Dentre essas manifestações, as hepatobiliares se destacam, tanto pela frequência quanto pela severidade (BALISTRERI, 1998; LICHTENSTEIN, 2011; VENKATESH;NAVANEETHAN;SHEN, 2011), no entanto estas alterações permanecem subdiagnosticadas (GIZARD et al., 2014).

Apesar da ligação íntima existente entre o fígado e cólon, resultante especialmente da conexão entre a disbiose e esses dois órgãos, com elevação da LPS e da ativação do TLR4, as mudanças oxidativas e inflamatórias encontrados em nosso modelo de colite leve (2% de SSD, p/v - durante 5 dias) podem ter sido insuficientes para causar danos ao fígado, ao contrário dos resultados de Trivedi & Jena (2013) e Farombi et al. (2016). No entanto, é interessante notar que, na análise sorológica (Tabela 9) oxidativa (Figura 27), inflamatória (Figura 28A e B) e dos parâmetros bioquímicos de dano hepático, foram encontrados diversos indícios de ação hepatotóxica importante nos animais que receberam ALA com NAC.

A associação do ALA com NAC estimulou de forma diferente as espécies reativas estudadas. Enquanto nesse grupo (ALA+NAC) um aumento na produção de H_2O_2 (Figura 27F) ficou evidente, nenhuma ação sobre os níveis de nitrito foi observada (Figura 27H). Adicionalmente nenhuma alteração histopatológica ou na deposição de colágeno, foi identificada. A ausência dessas mudanças pode ser justificada pelo segmento hepático utilizado para o processamento histopatológico, lóbulo esquerdo e não a região próxima ao ducto biliar a qual é normalmente acometida nas manifestações extraintestinais da DII.

Vários são os agentes que elevam a produção de $O_2^{\bullet-}$, como a cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria. Essa espécie radicalar é

posteriormente dismutada pela SOD para H_2O_2 . Assim como essas duas espécies reativas, outros subprodutos de reações de oxido-redução como o $\bullet OH$ são incrementadas sob diferentes condições de lesão hepática crônica, decorrentes do consumo de álcool ou xenobióticos, infecções virais, doença hepática gordurosa não-alcoólica, dentre outros (CROSAS-MOLIST;FABREGAT, 2015). Além disso, concentrações elevadas de espécies oxidativas, tais como H_2O_2 e $\bullet OH$ induzem à morte das células estreladas hepáticas e isto pode, por sua vez, provocar a redução da deposição de colágeno (PAIK et al., 2014). Este fato pode explicar a ausência de mudanças na deposição de colágeno observadas no fígado do grupo ALA+NAC. Contudo, é importante enfatizar que a lesão do fígado, quer crônica ou aguda, eventualmente, resulta no aumento das concentrações séricas das aminotransferases (GIANNINI;TESTA;SAVARINO, 2005), o que sugere mais fortemente a ação lesiva sobre o tecido hepático causado pela combinação desses dois antioxidantes.

Em contraste com os resultados observados no cólon, a suplementação de NAC levou ao aumento da SOD hepática (vs Colite Leve e ALA) (Figura 27A), mas diminuiu a atividade da catalase (Figura 27B) e os níveis de GSH, vs o grupo ALA (Figura 27D). Resultados semelhantes em relação à atividade da SOD foram observados por outros autores que também avaliaram a suplementação de NAC em fígado em diferentes situações e confirmaram sua ação antioxidante. Curiosamente, a NAC aumentou a atividade da SOD hepática, sem aumentar os níveis de H_2O_2 , catalase e GPx. Contrariamente, o ALA aumentou significativamente as enzimas catalase e GPX, além de aumentar as concentrações de GSH, possivelmente em virtude do aumento do EO observado nesse grupo e confirmado pela elevação do MDA. EO pode ser observado, ainda, pelos níveis de GSSG, que, embora não tenham sido estatisticamente significativos, foi cerca de 61% mais alto do que o grupo que recebeu a NAC e parece ter um significado fisiológico (Figura 27I).

Relativa à menor atividade da catalase e a ausência de alterações nos níveis de GSH observados no grupo NAC, isto pode ser justificado pelo curto período do desenho experimental, sendo provavelmente necessário um período mais longo de suplementação para se observar os efeitos protetores da NAC

sobre o EO, visto que esse antioxidante age sobre a cisteína, aminoácido necessário para a síntese da glutatona, com consequente aumento dos seus níveis teciduais (DE ANDRADE et al., 2015).

Recentemente, nosso grupo publicou uma revisão sistemática sobre o uso isolado ou combinado do ALA em diversas situações clínicas, tanto em modelo animal quanto em seres humanos. Observou-se que, em ensaios clínicos com seres humanos, o ALA é geralmente testado em associação com outras substâncias e que este tipo de terapia combinada prejudica a identificação do papel específico de cada componente utilizado ou se ocorre efeito sinérgico ou antagônico (MOURA et al., 2015b). Seguindo essa linha de pesquisa (sinergismo/antagonismo), El-Gowelli et al. (2015), utilizando um modelo de RCUI induzida por ácido acético, observaram que a associação do ALA (35 mg.kg.d⁻¹ i.p.) com a ciclosporina, um imunossupressor usado rotineiramente no tratamento da RCUI, agravou o dano intestinal (EL-GOWELLI et al., 2015). Um estudo conduzido por Pop-Busui, Stevens e Raffel. (2013), em que foram avaliados pacientes portadores de diabetes tipo 1, concluiu que o ALA associado com alopurinol (inibidor da xantina oxidase) e com nicotinamida, não foi eficaz em prevenir a neuropatia autonômica cardiovascular (POP-BUSUI;STEVENS;RAFFEL, 2013).

Por outro lado, apesar da associação do ALA com a NAC ter sido testado anteriormente na proteção contra a exposição à radiação (tungstênio) (BROWN et al., 2010) e no processo de envelhecimento (SINHA et al., 2010; THAKURTA et al., 2012; THAKURTA et al., 2014), apenas no exercício (JANA et al., 2014) esses dois antioxidantes não foram suplementados combinados a outros agentes como o α -tocoferol e a Coenzima Q10. Outro fato importante é que todos os estudos foram em modelos animais e os tecidos avaliados não incluíam o fígado.

Cabe ressaltar que apesar do grupo ALA+NAC ter recebido 200 mg/kg.d⁻¹ de suplementação (100 mg.kg.d⁻¹ de ALA + 100 mg.kg.d⁻¹ de NAC), essa dose ainda é inferior ao limite máximo estabelecido para a segurança no fornecimento oral do ALA (10x) e do NAC (30x) (vide item 2.3.3 página 104).

Mesmo sozinho, o ALA tem demonstrado efeitos negativos em alguns sistemas, tais como no sistema cardiovascular, anulando os efeitos positivos do exercício sobre a pressão sanguínea (WRAY et al., 2009) e aumentando a fração oxidada da LDL (LDL-oxi) (MCNEILLY et al., 2011) no sistema urinário, através do aumento da PL (SHOWKAT;BASTNAGEL;HUDSON, 2014).

Todos os resultados não esperados atribuídos ao ALA indicam seu efeito pró-oxidante in vivo, já discutido por outros autores como Shay et al. (2008) (SHAY et al., 2008) e pode justificar seu efeito nocivo, quando usado sozinho (elevação dos níveis MDA), ou causando injúria hepática (aumento de ALT e AST) (Tabela 9) e aumento da atividade pró-inflamatória (elevação de TNF- α e INF γ) (Figura 28 A e B), quando usados em associação com NAC.

Os presentes resultados, em conjunto, lançam dúvidas sobre o conceito de "antioxidante universal" atribuído ao ALA. Efeitos antagonistas de antioxidantes têm sido provados em outras situações clínicas, como o câncer. Em um experimento conduzido por Assi et al. (2015), os autores estudaram os efeitos combinados de catequinas e quercetina sobre a atrofia muscular em modelo de caquexia em camundongos com câncer. Estes autores demonstraram que o tumor dos animais suplementados se desenvolveu mais rapidamente e que os antioxidantes reduziram a sobrevivência e aumentaram a caquexia dos camundongos (ASSI et al., 2015).

De acordo com Siegmund (SIEGMUND, 2015), estratégias terapêuticas diferem até certo ponto, dependendo se a distribuição da lesão colônica é limitada ao reto, ao lado esquerdo do cólon ou se afeta todo o cólon, e por isso toda e qualquer informação se faz necessária para compreender porque diferentes tratamentos agem de maneira diversa nas formas leve, moderada ou grave da colite.

2.6. Conclusões

O EO parece ser a primeira manifestação bioquímica da colite, precedendo as alterações inflamatórias, como elevação do TNF- α e INF γ , começando na fase inicial da RCUI leve.

Neste estudo, a NAC apresentou efeitos antioxidantes mais eficazes, especialmente no que se refere aos níveis de MDA e H₂O₂. O ALA, em dose única/dia, não é recomendado para a RCUI leve, uma vez que este suplemento aumentou os níveis de MDA hepáticas. A combinação ALA e NAC demonstrou efeitos adversos, aumentando condições oxidativas e inflamatórias em ambos os órgãos: cólon e fígado.

Por fim, o nosso estudo traz novas evidências sobre o uso da NAC no controle do EO e inflamação na RCUI e que seus efeitos benéficos envolvem não apenas o cólon, mas também o fígado. Este fato confirma, para a RCUI, a necessidade de ampliar a investigação para o fígado, que está intimamente ligado ao cólon.

Assim como comprovado na presente investigação, a avaliação de vários tecidos e órgãos é extremamente necessária, antes de uma escolha definitiva de qualquer tratamento.

REFERÊNCIAS

ABDALLAH, D. M.; ISMAEL, N. R. Resveratrol abrogates adhesion molecules and protects against TNBS-induced ulcerative colitis in rats. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 89, n. 11, p. 811-8, 2011. ISSN 1205-7541 (Electronic)\r0008-4212 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22029500> >.

ABDEL-DAIM, M. M. et al. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of Spirulina platensis in comparison to Dunaliella salina in acetic acid-induced rat experimental colitis. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 8, p. 1-14, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3109/08923973.2014.998368> >.

ABDELKHALEK, N. K. M.; GHAZY, E. W.; ABDEL-DAIM, M. M. Pharmacodynamic interaction of Spirulina platensis and deltamethrin in freshwater fish Nile tilapia, Oreochromis niloticus: impact on lipid peroxidation and oxidative stress. **Environmental science and pollution research international**, v. 9, p. 1-9, 2014. ISSN 1135601435780. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25231739> >.

ABDIN, A. a. Targeting sphingosine kinase 1 (SphK1) and apoptosis by colon-specific delivery formula of resveratrol in treatment of experimental ulcerative colitis in rats. **European journal of pharmacology**, v. 718, n. 1-3, p. 145-53, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24055189> >.

ABDIN, A. a.; SARHAN, N. I. Intervention of mitochondrial dysfunction-oxidative stress-dependent apoptosis as a possible neuroprotective mechanism of α -lipoic acid against rotenone-induced parkinsonism and L-dopa toxicity. **Neuroscience research**, v. 71, n. 4, p. 387-95, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21889550> >.

ABDOLGHAFFARI, A. H. et al. On the benefit of Teucrium in murine colitis through improvement of toxic inflammatory mediators. **Human & experimental toxicology**, v. 29, n. 4, p. 287-95, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20144954> >.

ABDUL-HAI, A.; ABDALLAH, A.; MALNICK, S. D. Influence of gut bacteria on development and progression of non-alcoholic fatty liver disease. **World J Hepatol**, v. 7, n. 12, p. 1679-84, Jun 28 2015. ISSN 1948-5182 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26140087> >.

ABED, D. A. et al. Discovery of direct inhibitors of Keap1-Nrf2 protein-protein interaction as potential therapeutic and preventive agents. **Acta Pharm Sin B**, v. 5, n. 4, p. 285-99, Jul 2015. ISSN 2211-3835 (Print)

2211-3835 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26579458> >.

ACHITEI, D. et al. Different profile of peripheral antioxidant enzymes and lipid peroxidation in active and non-active inflammatory bowel disease patients. **Digestive diseases and sciences**, v.

58, n. 5, p. 1244-9, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23306840> >.

AJAYI, B. O.; ADEDARA, I. A.; FAROMBI, E. O. Pharmacological activity of 6-gingerol in dextran sulphate sodium-induced ulcerative colitis in BALB/c mice. **Phytother Res**, v. 29, n. 4, p. 566-72, Apr 2015. ISSN 1099-1573 (Electronic)

0951-418X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25631463> >.

AKMAN, T.; AKARSU, M.; AKPINAR, H. Erythrocyte deformability and oxidative stress in inflammatory bowel disease. **Digestive diseases and sciences**, v. 57, n. 2, p. 458-64, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21901259>

<http://link.springer.com/article/10.1007/s10620-011-1882-9> >.

AL-REJAIE, S. S. et al. Protective effect of naringenin on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. **World journal of gastroenterology : WJG**, v. 19, n. 34, p. 5633-44, 2013. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3769899&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

AL HAJ, O. a.; AL KANHAL, H. a. Compositional, technological and nutritional aspects of dromedary camel milk. **International Dairy Journal**, v. 20, n. 12, p. 811-821, 2010. ISSN 9661467870. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.04.003> >.

ALDERTON, W. K.; COOPER, C. E.; KNOWLES, R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **The Biochemical journal**, v. 357, p. 593-615, 2001.

ALDINI, R. et al. Antiinflammatory effect of phytosterols in experimental murine colitis model: prevention, induction, remission study. **PloS one**, v. 9, n. 9, p. e108112-e108112, 2014. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4182327&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

ALEISA, A. M. et al. Pretreatment of *Gymnema sylvestre* revealed the protection against acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 49-49, 2014. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3922996&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

ALGIERI, F. et al. Intestinal anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Phlomis purpurea* L. and *Phlomis lychnitis* L. in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. **Journal of ethnopharmacology**, v. 146, n. 3, p. 750-9, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23395625> >.

ALZOGHAIBI, M. a. Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease. **World journal of gastroenterology : WJG**, v. 19, n. 39, p. 6540-7, 2013. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3801366&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

AMARETTI, A. et al. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: In vitro and in vivo activities. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 809-817, 2013. ISSN 0175-7598.

AMASHEH, M. et al. Regulation of mucosal structure and barrier function in rat colon exposed to tumor necrosis factor alpha and interferon gamma in vitro: a novel model for studying the pathomechanisms of inflammatory bowel disease cytokines. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 44, n. 10, p. 1226-35, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19658020> >.

AMINI-SHIRAZI, N. et al. Inhibition of tumor necrosis factor and nitrosative/oxidative stresses by *Ziziphora clinopoides* (Kahlioti); a molecular mechanism of protection against dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. **Toxicology mechanisms and methods**, v. 19, n. 2, p. 183-9, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19778264> >.

AMIRSHAHROKHI, K.; BOHLOOLI, S.; CHINIFROUSH, M. M. The effect of methylsulfonylmethane on the experimental colitis in the rat. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 253, n. 3, p. 197-202, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21463646> >.

AMROUCHE-MEKKIOUI, I.; DJERDJOURI, B. N-acetylcysteine improves redox status, mitochondrial dysfunction, mucin-depleted crypts and epithelial hyperplasia in dextran sulfate sodium-induced oxidative colitis in mice. **European journal of pharmacology**, v. 691, n. 1-3, p. 209-17, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22732651> >.

ANCHA, H. R. et al. Effects of N-acetylcysteine plus mesalamine on prostaglandin synthesis and nitric oxide generation in TNBS-induced colitis in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 54, p. 758-766, 2009. ISSN 1573-2568 (Electronic)\r0163-2116 (Linking).

ANDREW, P. J.; MAYER, B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. **Cardiovascular research**, v. 43, n. 3, p. 521-31, 1999.

ARAB, H. H. et al. Telmisartan attenuates colon inflammation, oxidative perturbations and apoptosis in a rat model of experimental inflammatory bowel disease. **PloS one**, v. 9, n. 5, p. e97193-e97193, 2014a. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4022743&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

ARAB, H. H. et al. Camel's milk ameliorates TNBS-induced colitis in rats via downregulation of inflammatory cytokines and oxidative stress. **Food and chemical toxicology : an international**

journal published for the British Industrial Biological Research Association, v. 69, p. 294-302, 2014b. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24788059> >.

ARAFI, H. M. M. et al. Prophylactic role of curcumin in dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis murine model. **Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 47, n. 6, p. 1311-7, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19285535> >.

ASSI, M. et al. Antioxidant supplementation accelerates cachexia development by promoting tumor growth in C26 tumor-bearing mice. **Free Radic Biol Med**, Dec 17 2015. ISSN 1873-4596 (Electronic)

0891-5849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26708754> >.

ATKURI, K. R. et al. N-Acetylcysteine-a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, p. 355-359, 2007. ISSN 1471-4892.

AWAAD, A. S. et al. Anti-Ulcerative Colitis Activity of Compounds from Euphorbia granuleta Forssk. **Phytotherapy research**, v. 1734, n. April, p. 1729-1734, 2013.

AZUMA, K. et al. Anti-inflammatory effects of orally administered glucosamine oligomer in an experimental model of inflammatory bowel disease. **Carbohydr Polym**, v. 115, p. 448-56, Jan 22 2015. ISSN 1879-1344 (Electronic)

0144-8617 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25439918> >.

BAGHAEI, A. et al. Efficacy of Setarud (IMOD[®]), a novel drug with potent anti-toxic stress potential in rat inflammatory bowel disease and comparison with dexamethasone and infliximab. v. 47, n. August, p. 219-226, 2010.

BALAHA, M.; KANDEEL, S.; ELWAN, W. Garlic oil inhibits dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis in rats. **Life Sciences**, v. 146, p. 40-51, 2/1/ 2016. ISSN 0024-3205. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320516300121> >.

BALISTRERI, W. F. Hepatobiliary complications of inflammatory bowel disease: overview of the issues. **Inflamm Bowel Dis**, v. 4, n. 3, p. 220-4, Aug 1998. ISSN 1078-0998 (Print)

1078-0998 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9741026> >.

BALLAL, S. A. et al. Host lysozyme-mediated lysis of Lactococcus lactis facilitates delivery of colitis-attenuating superoxide dismutase to inflamed colons. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 112, n. 25, p. 7803-8, Jun 23 2015. ISSN 1091-6490 (Electronic)

0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26056274> >.

BAMIAS, G.; KALISA, G.; LADAS, S. D. Cytokines in the pathogenesis of ulcerative colitis. **Discov Med**, v. 11, n. 60, p. 459-67, May 2011. ISSN 1944-7930 (Electronic)

1539-6509 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21616044> >.

BANAN, A. et al. OPC-compounds prevent oxidant-induced carbonylation and depolymerization of the F-actin cytoskeleton and intestinal barrier hyperpermeability. **Free Radic Biol Med**, v. 30, n. 3, p. 287-98, Feb 1 2001. ISSN 0891-5849 (Print)

0891-5849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11165875> >.

BANAN, A. et al. Carbonylation and disassembly of the F-actin cytoskeleton in oxidant induced barrier dysfunction and its prevention by epidermal growth factor and transforming growth factor alpha in a human colonic cell line. **Gut**, v. 46, n. 6, p. 830-7, Jun 2000. ISSN 0017-5749 (Print)

0017-5749 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10807896> >.

BANNING, A. et al. GPx2 counteracts PGE2 production by dampening COX-2 and mPGES-1 expression in human colon cancer cells. **Antioxid Redox Signal**, v. 10, n. 9, p. 1491-500, Sep 2008. ISSN 1557-7716 (Electronic)

1523-0864 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18479189> >.

BARNES, P. J.; ADCOCK, I. M. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. **The Lancet**, v. 373, n. 9678, p. 1915-1917, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673609603263> >.

BAROLLO, M. et al. Antioxidative potential of a combined therapy of anti TNF α and Zn acetate in experimental colitis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 36, p. 4099-4103, 2011. ISSN 1007-9327 (Print)\r1007-9327 (Linking).

BARREIROS, A.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/%0D/qn/v29n1/27866.pdf> >.

BARRETT, J. S. et al. Comparison of the prevalence of fructose and lactose malabsorption across chronic intestinal disorders. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 30, n. April, p. 165-174, 2009. ISSN 1365-2036.

BATTERSHILL, A. J.; SCOTT, L. J. Telmisartan: a review of its use in the management of hypertension. **Drugs**, v. 66, p. 51-83, 2006.

BENGMARK, S. Curcumin, an atoxic antioxidant and natural NFkappaB, cyclooxygenase-2, lipoxygenase, and inducible nitric oxide synthase inhibitor: a shield against acute and chronic

diseases. **JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition**, v. 30, n. 45, p. 45-51, 2006. ISSN 0148-6071 (Print)\r0148-6071 (Linking).

BHARDWAJ, P. Oxidative stress and antioxidants in gastrointestinal diseases. **Tropical Gastroenterology**, v. 29, n. 3, p. 129-135, 2010. Disponível em: < <http://www.tropicalgastro.com/articles/29/3/Oxidative-stress-and-antioxidants-in-gastrointestinal-diseases.html> >.

BHATTACHARYYA, A. et al. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. **Physiological reviews**, v. 94, n. 2, p. 329-54, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24692350> >.

BIASI, F. et al. Polyphenol Supplementation as a Complementary Medicinal Approach to Treating Inflammatory Bowel Disease. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, n. 31, p. 4851-4865, 2011. Disponível em: < <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=0929-8673&volume=18&issue=31&spage=4851> >.

BIERHAUS, A. et al. **AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept.** 37: 586-600 p. 1998.

BISPING, G. et al. Patients with inflammatory bowel disease (IBD) reveal increased induction capacity of intracellular interferon-gamma (IFN-gamma) in peripheral CD8+ lymphocytes co-cultured with intestinal epithelial cells. **Clin Exp Immunol**, v. 123, n. 1, p. 15-22, Jan 2001. ISSN 0009-9104 (Print)

0009-9104 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11167992> >.

BITIREN, M. et al. Protective effects of selenium and vitamin E combination on experimental colitis in blood plasma and colon of rats. **Biological trace element research**, v. 136, n. 1, p. 87-95, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19774348> >.

BJELAKOVIC, G. et al. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. **JAMA : the journal of the American Medical Association**, v. 297, p. 842-857, 2007. ISSN ISSN~2978842p.

BONANOMI, L.; GAZZANIGA, A. Toxicological, pharmacokinetic and metabolic studies on acetylcysteine. **Eur J Respir Dis Suppl**, v. 111, p. 45-51, 1980. ISSN 0106-4347 (Print)

0106-4347 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6938410> >.

BORRELLI, F. et al. Cannabidiol, a safe and non-psychotropic ingredient of the marijuana plant *Cannabis sativa*, is protective in a murine model of colitis. **Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)**, v. 87, n. 11, p. 1111-21, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19690824> >.

BORRELLI, F. et al. Beneficial effect of the non-psychoactive plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease. **Biochemical pharmacology**, v. 85, n. 9, p. 1306-16, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23415610> >.

BOSTICK, R. M. et al. Reduced risk of colon cancer with high intake of vitamin E: the Iowa Women's Health Study. **Cancer Res**, v. 53, p. 4230-4237, 1993. ISSN 0008-5472.

BOUZID, D. et al. Oxidative Stress Markers in Intestinal Mucosa of Tunisian Inflammatory Bowel Disease Patients. v. 19, n. 3, p. 131-135, 2014.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, p. 248-54, May 7 1976. ISSN 0003-2697 (Print)

0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/942051> >.

BRADLEY, P. P.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood**, v. 60, n. 3, p. 618-22, Sep 1982. ISSN 0006-4971 (Print)

0006-4971 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6286012> >.

BRENNAN, M. L. et al. Prognostic Value of Myeloperoxidase in Patients with Chest Pain. **The new england journal of medicine**, v. 349, n. 17, p. 1595-1604, 2003.

BRIGELIUS-FLOHE, R.; MAIORINO, M. Glutathione peroxidases. **Biochim Biophys Acta**, v. 1830, n. 5, p. 3289-303, May 2013. ISSN 0006-3002 (Print)

0006-3002 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23201771> >.

BRINGIOTTI, R. et al. Intestinal microbiota: The explosive mixture at the origin of inflammatory bowel disease? **World journal of gastrointestinal pathophysiology**, v. 5, n. 4, p. 550-9, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25400998> >.

BROWN, S. L. et al. Antioxidant diet supplementation starting 24 hours after exposure reduces radiation lethality. **Radiat Res**, v. 173, n. 4, p. 462-468, 2010. Disponível em: < <http://www.rrjournal.org/perlserv/?request=get-abstract&doi=10.1667%2FRR1716.1> >.

BRÜCKNER, M. et al. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate shows therapeutic antioxidative effects in a murine model of colitis. **Journal of Crohn's & colitis**, v. 6, n. 2, p. 226-35, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22325177> >.

BUDANOV, A. V. The role of tumor suppressor p53 in the antioxidant defense and metabolism. **Subcell Biochem**, v. 85, p. 337-58, 2014. ISSN 0306-0225 (Print)

0306-0225 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25201203> >.

BUELNA-CHONTAL, M.; ZAZUETA, C. Redox activation of Nrf2 & NF-κB: a double end sword? **Cellular signalling**, v. 25, n. 12, p. 2548-57, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23993959> >.

CADIRCI, E. et al. Effects of Onosma armeniacum root extract on ethanol-induced oxidative stress in stomach tissue of rats. **Chemico-biological interactions**, v. 170, n. 1, p. 40-8, 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17681286> >.

CAMMAROTA, G. et al. The involvement of gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: potential for therapy. **Pharmacology and Therapeutics**, p. 1-22, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.12.006> >.

CARTER, M. J.; LOBO, A. J.; TRAVIS, S. P. L. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. **Gut**, v. 60, p. 571-607, 2004. Disponível em: < http://gut.bmj.com/content/53/suppl_5/v1.short >.

CHEN, P. et al. Anti-inflammatory effects of Huangqin tang extract in mice on ulcerative colitis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 162, p. 207-214, 2015. Disponível em: < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037887411400943X> >.

CHIOU, Y.-s. et al. Peracetylated (–)-Epigallocatechin-3-gallate (AcEGCG) Potently Suppresses Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis and Colon Tumorigenesis in Mice. 2012.

CHO, E.-j. et al. Anti-inflammatory effects of methanol extract of *Patrinia scabiosaefolia* in mice with ulcerative colitis. **Journal of ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 428-35, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20573566> >.

CHOI, K. C. et al. Intestinal anti-inflammatory activity of the seeds of *Raphanus sativus* L. in experimental ulcerative colitis models. **J Ethnopharmacol**, Dec 22 2015. ISSN 1872-7573 (Electronic)

0378-8741 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26721217> >.

CHOJNACKI, C. et al. Evaluation of melatonin effectiveness in the adjuvant treatment of ulcerative colitis. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 62, n. 4, p. 327-334, 2011.

CIRULIS, J. T.; SCOTT, J. A.; ROSS, G. M. Management of oxidative stress by microalgae. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 91, n. 1, p. 15-21, 2013. ISSN 1205-7541 (Electronic)\r0008-4212 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23368282> >.

CONDELLI, N. et al. Prediction of the antioxidant activity of extra virgin olive oils produced in the Mediterranean area. **Food Chemistry**, v. 177, p. 233-239, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.001> >.

COSTA, C. A. et al. Anti-inflammatory effects of Brazilian ginseng (*Pfaffia paniculata*) on TNBS-induced intestinal inflammation: Experimental evidence. **Int Immunopharmacol**, v. 28, n. 1, p. 459-69, Sep 2015. ISSN 1878-1705 (Electronic)

1567-5769 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26202807> >.

CREMER, D. R. et al. Safety evaluation of alpha-lipoic acid (ALA). **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 46, n. 1, p. 29-41, Oct 2006. ISSN 0273-2300. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000240703200004 >.

CROSAS-MOLIST, E.; FABREGAT, I. Role of NADPH oxidases in the redox biology of liver fibrosis. **Redox Biol**, v. 6, p. 106-111, Jul 14 2015. ISSN 2213-2317 (Electronic)

2213-2317 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26204504> >.

D'ARGENIO, G. et al. Apple polyphenols extract (APE) improves colon damage in a rat model of colitis. **Dig Liver Dis**, v. 44, n. 7, p. 555-62, Jul 2012. ISSN 1878-3562 (Electronic)

1590-8658 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22381211> >.

DAMIANI, C. R. et al. Oxidative stress and metabolism in animal model of colitis induced by dextran sulfate sodium. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 22, n. 11, p. 1846-51, 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17489966> >.

DARWISH, H. a.; ABD RABOH, N. R.; MAHDY, A. Camel's milk alleviates alcohol-induced liver injury in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1377-1383, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.01.016> >.

DAS, S.; CHAUDHURY, A.; NG, K. Y. Preparation and evaluation of zinc-pectin-chitosan composite particles for drug delivery to the colon: Role of chitosan in modifying in vitro and in vivo drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 406, n. 1-2, p. 11-20, 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.12.015> >.

DAVIDSON, L. a. et al. Chemopreventive n -3 Polyunsaturated Fatty Acids Reprogram Genetic Signatures during Colon Cancer Initiation and Progression in the Rat Chemopreventive n -3 Polyunsaturated Fatty Acids Reprogram Genetic Signatures during Colon Cancer Initiation and Progre. n. 979, p. 6797-6804, 2004.

DE ANDRADE, K. Q. et al. Oxidative Stress and Inflammation in Hepatic Diseases: Therapeutic Possibilities of N-Acetylcysteine. **Int J Mol Sci**, v. 16, n. 12, p. 30269-308, 2015. ISSN 1422-0067 (Electronic)

1422-0067 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26694382> >.

DE OLIVEIRA, A. C. et al. Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 469-475, 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.045> >.

DI STASI, L. C.; COSTA, C. A.; WITAICENIS, A. Products for the treatment of inflammatory bowel disease: a patent review (2013 - 2014). **Expert Opin Ther Pat**, v. 25, n. 6, p. 629-42, Jun 2015. ISSN 1744-7674 (Electronic)

1354-3776 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25944127> >.

DIGNASS, A. et al. [Second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 1: Definitions and diagnosis (Spanish version)]. **Rev Gastroenterol Mex**, v. 79, n. 4, p. 263-89, Oct-Dec 2014. ISSN 0375-0906 (Print)

0375-0906 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25487134> >.

DIXIT, V. D. et al. Ghrelin inhibits leptin- and activation-induced proinflammatory cytokine expression by human monocytes and T cells. **J Clin Invest**, v. 114, n. 1, p. 57-66, Jul 2004. ISSN 0021-9738 (Print)

0021-9738 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15232612> >.

DJ, H.; DK, R. Inflammatory bowel disease. **Endoscopy**, v. 33, n. 2, p. 2001-2001, 2001.

DJAVAHERI-MERGNY, M. et al. NF-kappaB activation prevents apoptotic oxidative stress via an increase of both thioredoxin and MnSOD levels in TNFalpha-treated Ewing sarcoma cells. **FEBS Lett**, v. 578, n. 1-2, p. 111-5, Dec 3 2004. ISSN 0014-5793 (Print)

0014-5793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15581626> >.

DODDA, D. et al. Targeting oxidative stress attenuates trinitrobenzene sulphonic acid induced inflammatory bowel disease like symptoms in rats: role of quercetin. **Indian journal of pharmacology**, v. 46, n. 3, p. 286-91, 2014. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4071705&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

DONG, W. G. et al. Effects of melatonin on the expression of iNOS and COX-2 in rat models of colitis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 9, n. 6, p. 1307-1311, 2003. ISSN 1007-9327 (Print)\r1007-9327 (Linking).

DOST, T. et al. The effect of Hypericum perforatum (St. John's Wort) on experimental colitis in rat. **Digestive diseases and sciences**, v. 54, n. 6, p. 1214-21, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18754092> >.

EDMUNDS, S. J. et al. Kiwifruit extracts inhibit cytokine production by lipopolysaccharide-activated macrophages, and intestinal epithelial cells isolated from IL10 gene deficient mice. **Cellular immunology**, v. 270, n. 1, p. 70-9, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21600571> >.

EK, R. O. et al. Protective effects of citicoline on TNBS-induced experimental colitis in rats. v. 7, n. 4, p. 989-997, 2014.

EL-GOWELLI, H. M. et al. Co-administration of alpha-lipoic acid and cyclosporine aggravates colon ulceration of acetic acid-induced ulcerative colitis via facilitation of NO/COX-2/miR-210 cascade. **Toxicol Appl Pharmacol**, Aug 12 2015. ISSN 1096-0333 (Electronic)

0041-008X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26276312> >.

EL MORSY, E. M.; KAMEL, R.; AHMED, M. A. Attenuating effects of coenzyme Q10 and amlodipine in ulcerative colitis model in rats. **Immunopharmacol Immunotoxicol**, v. 37, n. 3, p. 244-51, Jun 2015. ISSN 1532-2513 (Electronic)

0892-3973 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25753843> >.

ELIGIUS HELLSTROM, A.; FARKKILA, M.; KOLHO, K. L. Infliximab-induced skin manifestations in patients with inflammatory bowel disease. **Scand J Gastroenterol**, v. 51, n. 5, p. 563-71, May 2016. ISSN 1502-7708 (Electronic)

0036-5521 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26728295> >.

ELLIS, R. D. et al. Activation of nuclear factor kappa B in Crohn's disease. **Inflamm Res**, v. 47, n. 11, p. 440-5, Nov 1998. ISSN 1023-3830 (Print)

1023-3830 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9865503> >.

EPSTEIN, J.; SANDERSON, I. R.; MACDONALD, T. T. Curcumin as a therapeutic agent: the evidence from in vitro, animal and human studies. **The British journal of nutrition**, v. 103, p. 1545-1557, 2010. ISSN 0007114509993.

ESTERBAUER, H. et al. Detection of malonaldehyde by high-performance liquid chromatography. **Methods Enzymol**, v. 105, p. 319-28, 1984. ISSN 0076-6879 (Print)

0076-6879 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6727671> >.

ESWORTHY, R. S. et al. Epithelium-specific glutathione peroxidase, Gpx2, is involved in the prevention of intestinal inflammation in selenium-deficient mice. **J Nutr**, v. 135, n. 4, p. 740-5, Apr 2005. ISSN 0022-3166 (Print)

0022-3166 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15795427> >.

FANG, J. et al. Protection from inflammatory bowel disease and colitis-associated carcinogenesis with 4-vinyl-2,6-dimethoxyphenol (canolol) involves suppression of oxidative stress and inflammatory cytokines. **Carcinogenesis**, v. 34, n. 12, p. 2833-41, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24064222> >.

FAROMBI, E. O. et al. Kolaviron, a natural antioxidant and anti-inflammatory phytochemical prevents dextran sulphate sodium-induced colitis in rats. **Basic & clinical pharmacology & toxicology**, v. 113, n. 1, p. 49-55, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23336970> >.

FAROMBI, E. O. et al. Dietary protocatechuic acid ameliorates dextran sulphate sodium-induced ulcerative colitis and hepatotoxicity in rats. **Food Funct**, Dec 22 2015. ISSN 2042-650X (Electronic)

2042-6496 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26691887> >.

FATANI, A. J. et al. Carvedilol Attenuates Inflammatory Biomarkers and Oxidative Stress in a Rat Model of Ulcerative Colitis. **Drug Dev Res**, v. 76, n. 4, p. 204-14, Jun 2015. ISSN 0272-4391 (Print)

0272-4391 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26109469> >.

FLOHE, L.; GUNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**, v. 105, p. 114-21, 1984. ISSN 0076-6879 (Print)

0076-6879 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6727659> >.

FOK, K. C. et al. Cutaneous sarcoidosis in a patient with ulcerative colitis on infliximab. **Journal of Crohn's & colitis**, v. 6, n. 6, p. 708-12, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22398084> >.

FONSECA, L. J. S. d. et al. Oxidative Status Imbalance in Patients with Metabolic Syndrome: Role of the Myeloperoxidase/Hydrogen Peroxide Axis. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 15, p. 1-14, 2014.

FORMAN, H. J. et al. Even free radicals should follow some rules: a guide to free radical research terminology and methodology. **Free Radic Biol Med**, v. 78, p. 233-5, Jan 2015. ISSN 1873-4596 (Electronic)

0891-5849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25462642> >.

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. p. 1-11, 2012.

GABELE, E. et al. DSS induced colitis increases portal LPS levels and enhances hepatic inflammation and fibrogenesis in experimental NASH. **J Hepatol**, v. 55, n. 6, p. 1391-9, Dec 2011. ISSN 1600-0641 (Electronic)

0168-8278 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21703208> >.

GALANO, A.; TAN, D. X.; REITER, R. J. Melatonin as a natural ally against oxidative stress: A physicochemical examination. **Journal of Pineal Research**, v. 51, p. 1-16, 2011. ISSN 0742-3098.

GAMCSIK, M. P. et al. Glutathione levels in human tumors. **Biomarkers**, v. 17, n. 8, p. 671-91, Dec 2012. ISSN 1366-5804 (Electronic)

1354-750X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22900535> >.

GANJARE, A. B. et al. Use of Cordia dichotoma bark in the treatment of ulcerative colitis. **Pharmaceutical biology**, v. 49, n. 8, p. 850-5, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21696332> >.

GARDLIK, R.; PALFFY, R.; CELEC, P. Recombinant probiotic therapy in experimental colitis in mice. **Folia biologica**, v. 58, p. 238-45, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23438849> >.

GAUTAM, M. K. et al. Curative effect of Terminalia chebula extract on acetic acid-induced experimental colitis: role of antioxidants, free radicals and acute inflammatory marker. **Inflammopharmacology**, v. 21, n. 5, p. 377-83, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22956243> >.

GIANNINI, E. G.; TESTA, R.; SAVARINO, V. Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. **CMAJ**, v. 172, n. 3, p. 367-79, Feb 1 2005. ISSN 1488-2329 (Electronic)

0820-3946 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15684121> >.

GILARDI, D. et al. Complementary and alternative medicine in inflammatory bowel diseases: what is the future in the field of herbal medicine? **Expert Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 8, n. 7, p. 835-46, Sep 2014. ISSN 1747-4132 (Electronic)

1747-4124 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24813226> >.

GINTER, E.; SIMKO, V.; PANAKOVA, V. Antioxidants in health and disease. **Bratisl Lek Listy**, v. 115, n. 10, p. 603-6, 2014. ISSN 0006-9248 (Print)

0006-9248 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25573724> >.

GIZARD, E. et al. Systematic review: The epidemiology of the hepatobiliary manifestations in patients with inflammatory bowel disease. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 40, n. 1, p. 3-15, Jul 2014. ISSN 1365-2036 (Electronic)

0269-2813 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24815622> >.

GOPU, B. et al. Protective Role of Curcumin and Flunixin Against Acetic Acid-Induced Inflammatory Bowel Disease via Modulating Inflammatory Mediators and Cytokine Profile in Rats. **J Environ Pathol Toxicol Oncol**, v. 34, n. 4, p. 309-20, 2015. ISSN 2162-6537 (Electronic)

0731-8898 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26756424> >.

GRAHAM, H. N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. 1992. p.334-350.

GUAZELLI, C. F. S. et al. Quercetin-Loaded Microcapsules Ameliorate Experimental Colitis in Mice by Anti-inflammatory and Antioxidant Mechanisms. 2013.

GUERRA, G. C. B. et al. Telmisartan decreases inflammation by modulating TNF- α , IL-10, and RANK/RANKL in a rat model of ulcerative colitis. **Pharmacological Reports**, n. 3, p. 520-526, 2015.

GUIJARRO, L. G. et al. N-acetyl-L-cysteine combined with mesalamine in the treatment of ulcerative colitis: randomized, placebo-controlled pilot study. **World journal of gastroenterology : WJG**, v. 14, n. 18, p. 2851-7, 2008. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2710726&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

GUPTA, R. A. et al. Effect of piperine on inhibition of FFA induced TLR4 mediated inflammation and amelioration of acetic acid induced ulcerative colitis in mice. **J Ethnopharmacol**, v. 164, p. 239-46, Apr 22 2015. ISSN 1872-7573 (Electronic)

0378-8741 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25683300> >.

GUSLANDI, M. Nitric oxide and inflammatory bowel diseases. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 28, n. 11, p. 904-907, 1998. Disponível em: < <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-2362.1998.00377.x> >.

HADDAD, J. J. Antioxidant and prooxidant mechanisms in the regulation of redox (γ)-sensitive transcription factors. **Cellular Signalling**, v. 14, p. 879-897, 2002.

HAKANSSON, A. et al. Blueberry husks and probiotics attenuate colorectal inflammation and oncogenesis, and liver injuries in rats exposed to cycling DSS-treatment. **PLoS One**, v. 7, n. 3, p. e33510, 2012. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22457771> >.

HALL, A. G. Review: The role of glutathione in the regulation of apoptosis. **European journal of clinical investigation**, v. 29, n. 3, p. 238-45, 1999. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10202381> >.

HALLER, D. et al. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: probiotics in chronic inflammatory bowel disease and the functional disorder irritable bowel syndrome. **The Journal of nutrition**, v. 140, p. 690S-7S, 2010. ISSN 1541-6100 (Electronic)\r0022-3166 (Linking).

HALPIN, S. J.; FORD, A. C. Prevalence of symptoms meeting criteria for irritable bowel syndrome in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. **The American journal of gastroenterology**, v. 107, n. 10, p. 1474-1482, 2012. Disponível em: < <http://www.nature.com/ajg/journal/v107/n10/abs/ajg2012260a.html> >.

HAMER, H. M. et al. Effect of butyrate enemas on inflammation and antioxidant status in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis in remission. **Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 29, n. 6, p. 738-44, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20471725> >.

HAMOUDA, H. E. et al. p53 antibodies, metallothioneins, and oxidative stress markers in chronic ulcerative colitis with dysplasia. **World J Gastroenterol**, v. 17, n. 19, p. 2417-23, May 21 2011. ISSN 2219-2840 (Electronic)

1007-9327 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21633642> >.

HAN, E. S.; OH, J. Y.; PARK, H.-J. Cordyceps militaris extract suppresses dextran sodium sulfate-induced acute colitis in mice and production of inflammatory mediators from macrophages and mast cells. **Journal of ethnopharmacology**, v. 134, n. 3, p. 703-10, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21277968> >.

HAN, N. et al. Treatment of Suqingwan watered pill reduces colon injury induced by experimental colitis. **Journal of ethnopharmacology**, v. 136, n. 1, p. 144-8, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21527334> >.

HANAI, H. et al. Curcumin Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis: Randomized, Multicenter, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 4, p. 1502-1506, 2006.

HANAI, H.; SUGIMOTO, K. Curcumin has Bright Prospects for the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 18, p. 2087-2094, 2009. Disponível em: < <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1381-6128&volume=15&issue=18&page=2087> >.

HANCOCK, R. et al. Peptide inhibitors of the Keap1-Nrf2 protein-protein interaction. **Free Radic Biol Med**, v. 52, n. 2, p. 444-51, Jan 15 2012. ISSN 1873-4596 (Electronic)

0891-5849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22107959> >.

HANCOCK, R. et al. Peptide inhibitors of the Keap1-Nrf2 protein-protein interaction with improved binding and cellular activity. **Org Biomol Chem**, v. 11, n. 21, p. 3553-7, Jun 7 2013. ISSN 1477-0539 (Electronic)

1477-0520 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23615671> >.

HARISA, G. E. I. et al. L-arginine augments the antioxidant effect of garlic against acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v. 22, p. 373-380, 2009. ISSN 1011-601X (Print)\r1011-601X (Linking).

HARTMANN, R. M. et al. Boswellia serrata has Beneficial Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties in a Model of Experimental Colitis. v. 1398, n. February, p. 1392-1398, 2014.

HASSANZADEH, P. Colorectal cancer and NF-kappaB signaling pathway. **Gastroenterol Hepatol Bed Bench**, v. 4, n. 3, p. 127-32, Summer 2011. ISSN 2008-2258 (Print)

2008-2258 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24834170> >.

HORVATH, B. et al. Overexpression of p53 predicts colorectal neoplasia risk in patients with inflammatory bowel disease and mucosa changes indefinite for dysplasia. **Gastroenterol Rep (Oxf)**, Jun 10 2015. ISSN 2052-0034 (Print). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26063242> >.

HOU, C. L. et al. Superoxide dismutase recombinant Lactobacillus fermentum ameliorates intestinal oxidative stress through inhibiting NF-κB activation in a trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis mouse model. **Journal of applied microbiology**, v. 116, n. 6, p. 1621-31, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24484394> >.

HOU, Y. et al. N-acetylcysteine and intestinal health: a focus on its mechanism of action. **Front Biosci (Landmark Ed)**, v. 20, p. 872-91, 2015. ISSN 1093-4715 (Electronic)

1093-4715 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25553484> >.

HOVES, S. et al. Monocyte-derived human macrophages mediate anergy in allogeneic T cells and induce regulatory T cells. **J Immunol**, v. 177, n. 4, p. 2691-8, Aug 15 2006. ISSN 0022-1767 (Print)

0022-1767 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16888031> >.

HUR, S. J. et al. Review of natural products actions on cytokines in inflammatory bowel disease. **Nutrition research (New York, N.Y.)**, v. 32, n. 11, p. 801-16, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23176791> >.

HUSSAIN, S. P. et al. Increased p53 mutation load in noncancerous colon tissue from ulcerative colitis: a cancer-prone chronic inflammatory disease. **Cancer Res**, v. 60, n. 13, p. 3333-7, Jul 1 2000. ISSN 0008-5472 (Print)

0008-5472 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10910033> >.

HYAM, S. R. et al. Echinocystic acid, a metabolite of lancemaside A, inhibits TNBS-induced colitis in mice. **International Immunopharmacology**, v. 15, n. 2, p. 433-441, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2012.12.017> >.

IMPELLIZZERI, D. et al. The anti-inflammatory and antioxidant effects of bergamot juice extract (BJe) in an experimental model of inflammatory bowel disease. **Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)**, p. 1-9, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25491246> >.

IOANNIDIS, O. et al. Nutritional modulation of the inflammatory bowel response. **Digestion**, v. 84, n. 2, p. 89-101, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21494040> >.

ISERI, S. O. et al. The effect of sildenafil, a phosphodiesterase-5 inhibitor, on acetic acid-induced colonic inflammation in the rat. **J Gastroenterol Hepatol**, v. 24, n. 6, p. 1142-8, Jun 2009. ISSN 1440-1746 (Electronic)

0815-9319 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19638092> >.

ISHIHARA, T. et al. Therapeutic Effect of Lecithinized Superoxide Dismutase against Colitis. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 328, n. 1, p. 152-164, 2009.

ITZKOWITZ, S. H. Molecular Biology of Dysplasia and Cancer in Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology Clinics of North America**, v. 35, p. 553-571, 2006. ISSN 0889-8553 (Print).

JANA, K. et al. Alpha-lipoic acid and N-acetylcysteine protects intensive swimming exercise-mediated germ-cell depletion, pro-oxidant generation, and alteration of steroidogenesis in rat testis. **Molecular reproduction and development**, v. 81, n. 9, p. 833-50, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25104294> >.

JENA, G.; TRIVEDI, P. P.; SANDALA, B. Oxidative stress in ulcerative colitis: an old concept but a new concern. **Free radical research**, v. 46, n. 11, p. 1339-45, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22856328> >.

JEONG, J. J. et al. Orally administrated *Lactobacillus pentosus* var. *plantarum* C29 ameliorates age-dependent colitis by inhibiting the nuclear factor-kappa B signaling pathway via the regulation of lipopolysaccharide production by gut microbiota. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0116533, 2015a. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25689583> >.

JEONG, J. J. et al. The probiotic mixture IRT5 ameliorates age-dependent colitis in rats. **Int Immunopharmacol**, v. 26, n. 2, p. 416-22, Jun 2015b. ISSN 1878-1705 (Electronic)

1567-5769 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25907245> >.

JIANG, Z. Y. et al. Discovery of potent Keap1-Nrf2 protein-protein interaction inhibitor based on molecular binding determinants analysis. **J Med Chem**, v. 57, n. 6, p. 2736-45, Mar 27 2014. ISSN 1520-4804 (Electronic)

0022-2623 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24512214> >.

JOHN, J. a.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, v. 2, n. 3, p. 196-209, 2010. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2010.04.008> >.

JOO, M. et al. Anti-inflammatory Effects of Flavonoids on TNBS-induced Colitis of Rats. **Korean J Physiol Pharmacol**, v. 19, p. 43-50, 2015.

JOO, M. et al. Anti-inflammatory Effects of Flavonoids on TNBS-induced Colitis of Rats. **Korean J Physiol Pharmacol**, v. 19, n. 1, p. 43-50, Jan 2015. ISSN 1226-4512 (Print)

1226-4512 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25605996> >.

JOSHIPURA, K. J. et al. The effect of fruit and vegetable intake on risk for coronary heart disease. **Annals of Internal Medicine**, v. 134, p. 1106-1114+I, 2001. ISSN 0003-4819.

JUNG, K. A.; KWAK, M. K. The Nrf2 system as a potential target for the development of indirect antioxidants. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7266-91, 2010. ISSN 1420-3049 (Electronic)

1420-3049 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20966874> >.

JURENKA, J. S.; ASCP, M. T. Anti-inflammatory Properties of Curcumin , a Major Constituent of *Curcuma longa* : A Review of Preclinical and Clinical Research. v. 14, n. 2, 2009.

KAIRISALO, M. et al. X-linked inhibitor of apoptosis protein increases mitochondrial antioxidants through NF-kappaB activation. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 364, n. 1, p. 138-44, Dec 7 2007. ISSN 1090-2104 (Electronic)

0006-291X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17936246> >.

KALYANARAMAN, B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. **Redox Biology**, v. 1, n. 1, p. 244-257, 2013. ISSN 2213-2317. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2013.01.014> >.

KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L. A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v. 31, p. 671-701, 1996. ISSN 10.1007/BF02522884.

KANNAN, N.; GURUVAYOORAPPAN, C. Protective effect of Bauhinia tomentosa on acetic acid induced ulcerative colitis by regulating antioxidant and inflammatory mediators. **International immunopharmacology**, v. 16, n. 1, p. 57-66, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23538025> >.

KARAKOYUN, B. et al. The effect of phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate on inflammation and apoptosis in rat experimental colitis. **Life sciences**, v. 89, n. 11-12, p. 402-7, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21806998> >.

KARMIRIS, K. et al. Prevalence and Characteristics of Extra-intestinal Manifestations in a Large Cohort of Greek Patients with Inflammatory Bowel Disease. **J Crohns Colitis**, v. 10, n. 4, p. 429-36, Apr 2016. ISSN 1876-4479 (Electronic)

1873-9946 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26721936> >.

KASINATHAN, N. K. et al. Aegle marmelos fruit extract abates dextran sodium sulfate induced acute colitis in mice: Repression of pro-inflammatory cytokines during colonic inflammation. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 4, n. 2, p. 307-317, 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.bionut.2014.03.002> >.

KASPERCZYK, S. et al. Effect of N-acetylcysteine administration on the expression and activities of antioxidant enzymes and the malondialdehyde level in the blood of lead-exposed workers. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 37, n. 2, p. 638-647, 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2014.01.024> >.

KATHIRIA, A. S. et al. Nrf2 is not required for epithelial prohibitin-dependent attenuation of experimental colitis. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 304, n. 10, p. G885-96, May 15 2013. ISSN 1522-1547 (Electronic)

0193-1857 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23494124> >.

KATIYAR, S. K. Proanthocyanidins from Grape Seeds Inhibit UV Radiation-Induced Immune Suppression in Mice: Detection and Analysis of Molecular and Cellular Targets. **Photochemistry and photobiology**, v. 91, p. 156-162, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25112437> >.

KAWANISHI, S. et al. Oxidative and nitrative DNA damage in animals and patients with inflammatory diseases in relation to inflammation-related carcinogenesis. **Biological chemistry**, v. 387, n. April, p. 365-372, 2006. ISSN 1431-6730 (Print)\n1431-6730 (Linking).

KERN, J. T.; HANNINK, M.; HESS, J. F. Disruption of the Keap1-containing ubiquitination complex as an antioxidant therapy. **Curr Top Med Chem**, v. 7, n. 10, p. 972-8, 2007. ISSN 1873-4294 (Electronic)

1568-0266 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17508929> >.

KIM, J.; CHA, Y. N.; SURH, Y. J. A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders. **Mutat Res**, v. 690, n. 1-2, p. 12-23, Aug 7 2010. ISSN 0027-5107 (Print)

0027-5107 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19799917> >.

KIMURA, H. et al. Increased nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase activity in colonic mucosa of patients with active ulcerative colitis and Crohn's disease. **Dig Dis Sci**, v. 42, n. 5, p. 1047-54, May 1997. ISSN 0163-2116 (Print)

0163-2116 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9149061> >.

KITAJIMA, S.; TAKUMA, S.; MORIMOTO, M. Tissue distribution of dextran sulfate sodium (DSS) in the acute phase of murine DSS-induced colitis. **J Vet Med Sci**, v. 61, n. 1, p. 67-70, Jan 1999. ISSN 0916-7250 (Print)

0916-7250 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10027168> >.

KOBAYASHI, A. et al. Oxidative stress sensor Keap1 functions as an adaptor for Cul3-based E3 ligase to regulate proteasomal degradation of Nrf2. **Mol Cell Biol**, v. 24, n. 16, p. 7130-9, Aug 2004. ISSN 0270-7306 (Print)

0270-7306 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15282312> >.

KOJIMA, M. et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. **Nature**, v. 402, n. 6762, p. 656-60, Dec 9 1999. ISSN 0028-0836 (Print)

0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10604470> >.

KOLÁČEK, M. et al. Effect of natural polyphenols (Pycnogenol) on oxidative stress markers in children suffering from Crohn's disease--a pilot study. **Free radical research**, v. 47, n. 8, p. 624-34, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23710677> >.

KOLGAZI, M. et al. Alpha-lipoic acid modulates gut inflammation induced by trinitrobenzene sulfonic acid in rats. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 22, n. 11, p. 1859-65, 2007. ISSN 2006221118591. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17914960> >.

KONTUREK, P. C. et al. Ghrelin ameliorates colonic inflammation. Role of nitric oxide and sensory nerves. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, p. 41-47, 2009. ISSN 1899-1505 (Electronic)\r0867-5910 (Linking).

KOPPIKAR, S. J. et al. Triphala , an Ayurvedic formulation improves the antioxidant status on TNBS induced IBD in rats. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 6, n. 6, p. 646-656, 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.eujim.2014.08.005> >.

KORNBLUTH, A.; SACHAR, D. B. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College Of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. **The American journal of gastroenterology**, v. 105, n. 3, p. 501-23; quiz 524, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20068560> >.

KRUIDENIER, L. et al. Imbalanced secondary mucosal antioxidant response in inflammatory bowel disease. **Journal of Pathology**, v. 201, p. 17-27, 2003. ISSN 0022-3417 (Print)\r0022-3417 (Linking).

KUMAR G, K. et al. Embelin ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. **International immunopharmacology**, v. 11, n. 6, p. 724-31, 2011. ISSN 9176401243. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21296695> >.

LAMBERT, J. D. et al. Peracetylation as a means of enhancing in vitro bioactivity and bioavailability of epigallocatechin-3-gallate. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 34, p. 2111-2116, 2006.

LANGHORST, J. et al. Systematic review of complementary and alternative medicine treatments in inflammatory bowel diseases. **J Crohns Colitis**, v. 9, n. 1, p. 86-106, Jan 2015. ISSN 1876-4479 (Electronic)

1873-9946 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25518050> >.

LANGMEAD, L.; RAMPTON, D. S. Review article: complementary and alternative therapies for inflammatory bowel disease. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 23, n. 3, p. 341-9, 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16422993> >.

LARROSA, M. et al. Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 21, n. 8, p. 717-25, 2010a. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19616930> >.

LARROSA, M. et al. Preventive oral treatment with resveratrol pro-prodrugs drastically reduce colon inflammation in rodents. **Journal of medicinal chemistry**, v. 53, n. 20, p. 7365-76, 2010b. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20866032> >.

LEBLANC, J. G. et al. Use of superoxide dismutase and catalase producing lactic acid bacteria in TNBS induced Crohn's disease in mice. **Journal of biotechnology**, v. 151, n. 3, p. 287-93, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21167883> >.

LEE, I.-A.; HYUN, Y.-J.; KIM, D.-H. Berberine ameliorates TNBS-induced colitis by inhibiting lipid peroxidation, enterobacterial growth and NF- κ B activation. **European journal of pharmacology**, v. 648, n. 1-3, p. 162-70, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20828550> >.

LEGRAND, D. et al. Lactoferrin: A modulator of immune and inflammatory responses. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 62, p. 2549-2559, 2005. ISSN 1420-682X (Print)\n1420-682X (Linking).

LEI, X. et al. Thymoquinone prevents and ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. **Digestive diseases and sciences**, v. 57, n. 9, p. 2296-303, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22476588> >.

LENOIR, L. et al. Lemon verbena infusion consumption attenuates oxidative stress in dextran sulfate sodium-induced colitis in the rat. **Digestive diseases and sciences**, v. 56, n. 12, p. 3534-45, 2011. ISSN 1062001117. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21688009> >.

LEWIS, K. et al. Decreased epithelial barrier function evoked by exposure to metabolic stress and nonpathogenic E. coli is enhanced by TNF-alpha. **American journal of physiology: Gastrointestinal and liver physiology**, v. 294, n. 3, p. G669-78, 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18187519> >.

LI, X. et al. Protective Effect of Calculus Bovis Sativus on Dextran Sulphate Sodium-Induced Ulcerative Colitis in Mice. **Evid Based Complement Alternat Med**, v. 2015, p. 469506, 2015. ISSN 1741-427X (Print)

1741-427X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26579201> >.

LI, X. et al. Proanthocyanidins from Grape Seeds Modulate the NF- κ B Signal Transduction Pathways in Rats with TNBS-Induced Ulcerative Colitis. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 16, n. 8, p. 6721-31, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25134774> >.

LICHTENSTEIN, D. R. Hepatobiliary complications of inflammatory bowel disease. **Curr Gastroenterol Rep**, v. 13, n. 5, p. 495-505, Oct 2011. ISSN 1534-312X (Electronic)

1522-8037 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21773706> >.

LIN, M. Y.; YEN, C. L. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1460-1466, 1999. ISSN 00218561 (ISSN).

LIU, W. et al. A novel benzo[d]imidazole derivate prevents the development of dextran sulfate sodium-induced murine experimental colitis via inhibition of NLRP3 inflammasome. **Biochem Pharmacol**, v. 85, n. 10, p. 1504-12, May 15 2013. ISSN 1873-2968 (Electronic)

0006-2952 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23506741> >.

MAGESH, S.; CHEN, Y.; HU, L. Small molecule modulators of Keap1-Nrf2-ARE pathway as potential preventive and therapeutic agents. **Med Res Rev**, v. 32, n. 4, p. 687-726, Jul 2012. ISSN 1098-1128 (Electronic)

0198-6325 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22549716> >.

MAHESHWARI, R. A. et al. Protective effect of simvastatin and rosuvastatin on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. **Indian J Pharmacol**, v. 47, n. 1, p. 17-21, Jan-Feb 2015. ISSN 1998-3751 (Electronic)

0253-7613 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25821305> >.

MAÑÉ, J. et al. Lactobacillus fermentum CECT 5716 prevents and reverts intestinal damage on TNBS-induced colitis in mice. **Inflammatory bowel diseases**, v. 15, n. 8, p. 1155-63, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19266568> >.

MANGAN, P. R. et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. **Nature**, v. 441, n. 7090, p. 231-4, May 11 2006. ISSN 1476-4687 (Electronic)

0028-0836 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16648837> >.

MANGERICH, A. et al. Chemistry meets biology in colitis-associated carcinogenesis. **Free Radic Res**, v. 47, n. 11, p. 958-86, Nov 2013. ISSN 1029-2470 (Electronic)

1029-2470 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23926919> >.

MANNASAHEB, B. A. et al. Protective effect of Agave americana Linn. leaf extract in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. **Ayu**, v. 36, n. 1, p. 101-6, Jan-Mar 2015. ISSN 0974-8520 (Print)

0974-8520 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26730148> >.

MANNI, M. L. et al. Extracellular superoxide dismutase in macrophages augments bacterial killing by promoting phagocytosis. **American Journal of Pathology**, v. 178, n. 6, p. 2752-2759, 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2011.02.007> >.

MARCHI, P. et al. Concentrated grape juice (G8000™) reduces immunoexpression of iNOS, TNF-alpha, COX-2 and DNA damage on 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced-colitis. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 37, n. 2, p. 819-27, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24637249> >.

MARGONIS, G. A. et al. Effectiveness of sildenafil and U-74389G in a rat model of colitis. **J Surg Res**, v. 193, n. 2, p. 667-74, Feb 2015. ISSN 1095-8673 (Electronic)

0022-4804 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25277360> >.

MARÍN, M. et al. Intestinal anti-inflammatory activity of ellagic acid in the acute and chronic dextrane sulfate sodium models of mice colitis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 3, p. 925-934, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.09.030> >.

MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. **Eur J Biochem**, v. 47, n. 3, p. 469-74, Sep 16 1974. ISSN 0014-2956 (Print)

0014-2956 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4215654> >.

MARTÍNEZ-MOYA, P. et al. Dose-dependent antiinflammatory effect of ursodeoxycholic acid in experimental colitis. **International Immunopharmacology**, v. 15, n. 2, p. 372-380, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2012.11.017> >.

MARX, G.; SEIDMAN, E. G. Inflammatory bowel disease in pediatric patients. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 15, n. 4, p. 322-322, 1999. Disponível em: < <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00001574-199907000-00008> >.

MATUSZYK, A. et al. The Influence of Ghrelin on the Development of Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis in Rats. **Biomed Res Int**, v. 2015, p. 718314, 2015. ISSN 2314-6141 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26713317> >.

MAY, D.; PAN, S.; CRISPIN, D. A. Investigating neoplastic progression of ulcerative colitis with label-free comparative proteomics. **Journal of proteome ...**, v. 10, n. 1, p. 200-209, 2010. Disponível em: < <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr100574p> >.

MAZZON, E. et al. Effects of verbascoside biotechnologically produced by *Syringa vulgaris* plant cell cultures in a rodent model of colitis. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 380, n. 1, p. 79-94, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19242677> >.

MCCANN, M. J. et al. The Effect of Turmeric (*Curcuma longa*) Extract on the Functionality of the Solute Carrier Protein 22 A4 (SLC22A4) and Interleukin-10 (IL-10) Variants Associated with Inflammatory Bowel Disease. p. 4178-4190, 2014.

MCDONALD, J. W. et al. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 8, p. CD003459, 2014. ISSN 1469-493X (Electronic)

1361-6137 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25099640> >.

MCNEILLY, A. M. et al. Effect of α -lipoic acid and exercise training on cardiovascular disease risk in obesity with impaired glucose tolerance. **Lipids in health and disease**, v. 10, n. 1, p. 217-217, 2011. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3268114&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

MEDHI, B. et al. Effect of Manuka honey and sulfasalazine in combination to promote antioxidant defense system in experimentally induced ulcerative colitis model in rats. v. 46, n. August, p. 583-590, 2008.

MEDICHERLA, K. et al. Oral administration of geraniol ameliorates acute experimental murine colitis by inhibiting pro-inflammatory cytokines and NF-kappaB signaling. **Food Funct**, v. 6, n. 9, p. 2984-95, Sep 2015. ISSN 2042-650X (Electronic)

2042-6496 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26190278> >.

MIKHAILOVA, T. L. et al. Randomised clinical trial: The efficacy and safety of propionyl- L -carnitine therapy in patients with ulcerative colitis receiving stable oral treatment. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 34, n. September, p. 1088-1097, 2011.

MINAIYAN, M. et al. Evaluation of anti-colitic effect of fluvoxamine against acetic acid-induced colitis in normal and reserpinized depressed rats. **Eur J Pharmacol**, v. 746, p. 293-300, Jan 5 2015. ISSN 1879-0712 (Electronic)

0014-2999 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25460023> >.

MIOSSEC, P.; KORN, T.; KUCHROO, V. K. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. **N Engl J Med**, v. 361, n. 9, p. 888-98, Aug 27 2009. ISSN 1533-4406 (Electronic)

0028-4793 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19710487> >.

MIRBAGHERI, S.-A. Rectal administration of d-alpha tocopherol for active ulcerative colitis: A preliminary report. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, n. 39, p. 5990-5990, 2008. Disponível em: < <http://www.wjnet.com/1007-9327/14/5990.asp> >.

MISHRA, S. K. et al. Orally administered aqueous extract of *Inonotus obliquus* ameliorates acute inflammation in dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 143, n. 2, p. 524-32, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22819687> >.

MISKO, T. P. et al. A fluorometric assay for the measurement of nitrite in biological samples. **Anal Biochem**, v. 214, n. 1, p. 11-6, Oct 1993. ISSN 0003-2697 (Print)

0003-2697 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7504409> >.

MOCHIZUKI, M.; HASEGAWA, N. Experimental Colon Injury in Rats by Regulating Macrophage and Mast Cell. v. 122, n. June 2009, p. 2009-2011, 2010.

MOEINI, M. et al. Beneficial effect of butyrate, Lactobacillus casei and L-carnitine combination in preference to each in experimental colitis. **World J Gastroenterol**, v. 20, n. 31, p. 10876-85, Aug 21 2014. ISSN 2219-2840 (Electronic)

1007-9327 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25152589> >.

MOINI, H.; PACKER, L.; SARIS, N. E. L. Antioxidant and prooxidant activities of alpha-lipoic acid and dihydrolipoic acid. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 182, n. 1, p. 84-90, Jul 1 2002. ISSN 0041-008X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000176847200010 >.

MONTROSE, D. C. et al. Anti-inflammatory effects of freeze-dried black raspberry powder in ulcerative colitis. **Carcinogenesis**, v. 32, n. 3, p. 343-50, 2011. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3047236&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

MORAN, G. W. et al. Novel concepts in inflammatory bowel disease. **Br Med Bull**, v. 109, p. 55-72, 2014. ISSN 1471-8391 (Electronic)

0007-1420 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24505093> >.

MORGAN, M. J.; LIU, Z. G. Crosstalk of reactive oxygen species and NF-kappaB signaling. **Cell Res**, v. 21, n. 1, p. 103-15, Jan 2011. ISSN 1748-7838 (Electronic)

1001-0602 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21187859> >.

MOTAWI, T. K.; RIZK, S. M.; SHEHATA, A. H. Effects of curcumin and Ginkgo biloba on matrix metalloproteinases gene expression and other biomarkers of inflammatory bowel disease. **Journal of physiology and biochemistry**, v. 68, n. 4, p. 529-39, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22535283> >.

MOURA, F. A. et al. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? **Redox Biol**, v. 6, p. 617-639, Oct 23 2015a. ISSN 2213-2317 (Electronic)

2213-2317 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26520808> >.

MOURA, F. A. et al. Lipoic Acid: its antioxidant and anti-inflammatory role and clinical applications. **Curr Top Med Chem**, v. 15, n. 5, p. 458-83, 2015b. ISSN 1873-4294 (Electronic)

1568-0266 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25620240> >.

MOURIA, M. et al. Food-derived polyphenols inhibit pancreatic cancer growth through mitochondrial cytochrome c release and apoptosis. **International Journal of Cancer**, v. 98, n. October 2001, p. 761-769, 2002. ISSN 0020-7136 (Print)\r0020-7136 (Linking).

MOUZAOU, S.; RAHIM, I.; DJERDJOURI, B. Aminoguanidine and curcumin attenuated tumor necrosis factor (TNF)- α -induced oxidative stress, colitis and hepatotoxicity in mice. **International immunopharmacology**, v. 12, n. 1, p. 302-11, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22036766> >.

MOWAT, C. et al. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. **Gut**, v. 60, p. 571-607, 2011. ISSN 1468-3288.

MOZAFFARI, S.; NIKFAR, S.; ABDOLLAHI, M. Inflammatory bowel disease therapies discontinued between 2009 and 2014. **Expert Opin Investig Drugs**, v. 24, n. 7, p. 949-56, 2015. ISSN 1744-7658 (Electronic)

1354-3784 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25861835> >.

MUELLER, K.; BLUM, N. M.; MUELLER, A. S. Examination of the Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Xenobiotic-Inducing Potential of Broccoli Extract and Various Essential Oils during a Mild DSS-Induced Colitis in Rats. **ISRN gastroenterology**, v. 2013, p. 710856-710856, 2013. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3603549&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

MÜLLER-DECKER, K.; FÜRSTENBERGER, G. The Cyclooxygenase-2-Mediated Prostaglandin Signaling Is Causally Related to Epithelial Carcinogenesis. **Molecular carcinogenesis**, v. 46, n. February, p. 705-710, 2007. ISSN 0899-1987 (Print)\r0899-1987 (Linking).

MYUNG, S. K. et al. Effects of antioxidant supplements on cancer prevention: meta-analysis of randomized controlled trials. **Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO**, v. 21, p. 166-179, 2010.

NAGENDRAPRABHU, P.; SUDHANDIRAN, G. Astaxanthin inhibits tumor invasion by decreasing extracellular matrix production and induces apoptosis in experimental rat colon carcinogenesis by modulating the expressions of ERK-2, NF κ B and COX-2. **Invest New Drugs**, v. 29, n. 2, p. 207-24, Apr 2011. ISSN 1573-0646 (Electronic)

0167-6997 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19876598> >.

NAGIB, M. M. et al. Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of olmesartan medoxomil ameliorate experimental colitis in rats. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 271, n. 1, p. 106-13, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23665423> >.

NARUSZEWICZ, M. et al. **Effect of Lactobacillus plantarum 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers.** p.1249-1255. 2002

NATHAN, C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. **FASEB J**, v. 6, n. 12, p. 3051-64, Sep 1992. ISSN 0892-6638 (Print)

0892-6638 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1381691> >.

NEURATH, M. F. Cytokines in inflammatory bowel disease. **Nat Rev Immunol**, v. 14, n. 5, p. 329-42, May 2014. ISSN 1474-1741 (Electronic)

1474-1733 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24751956> >.

NG, S. C. et al. Systematic review: the efficacy of herbal therapy in inflammatory bowel disease. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 38, n. 8, p. 854-63, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23981095> >.

NIKI, E. Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1840, n. 2, p. 809-17, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23541987> >.

NIRMAL, S. a. et al. Amaranthus roxburghianus root extract in combination with piperine as a potential treatment of ulcerative colitis in mice. **Journal of integrative medicine**, v. 11, n. 3, p. 206-12, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23570686> >.

NISHITANI, Y. et al. Lactococcus lactis subsp. cremoris FC alleviates symptoms of colitis induced by dextran sulfate sodium in mice. **International Immunopharmacology**, v. 9, n. 12, p. 1444-1451, 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2009.08.018> >.

NIU, X. et al. Acitretin exerted a greater influence on T-helper (Th)1 and Th17 than on Th2 cells in treatment of psoriasis vulgaris. **J Dermatol**, v. 39, n. 11, p. 916-21, Nov 2012. ISSN 1346-8138 (Electronic)

0385-2407 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22913391> >.

NUNES, C. et al. Intestinal anti-inflammatory activity of red wine extract: unveiling the mechanisms in colonic epithelial cells. **Food & function**, v. 4, n. 3, p. 373-83, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23233037> >.

ODA, H.; KEANE, W. F. Recent advances in statins and the kidney. **Kidney Int Suppl**, v. 71, p. S2-5, Jul 1999. ISSN 0098-6577 (Print)

0098-6577 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10412725> >.

OKAYASU, I. et al. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. **Gastroenterology**, v. 98, n. 3, p. 694-702, Mar 1990. ISSN 0016-5085 (Print)

0016-5085 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1688816> >.

OLESEN, C. M. et al. Mechanisms behind efficacy of tumor necrosis factor inhibitors in inflammatory bowel diseases. **Pharmacol Ther**, v. 159, p. 110-9, Mar 2016. ISSN 1879-016X (Electronic)

0163-7258 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26808166> >.

OLIVERAS-LÓPEZ, M.-J. et al. An extra-virgin olive oil rich in polyphenolic compounds has antioxidant effects in OF1 mice. **The Journal of nutrition**, v. 138, n. August 2007, p. 1074-1078, 2008.

OLIVERAS-LÓPEZ, M.-J. et al. Consumption of extra-virgin olive oil rich in phenolic compounds has beneficial antioxidant effects in healthy human adults. **Journal of Functional Foods**, v. 10, p. 475-484, 2014. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464614002412> >.

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. 380-5, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24211392> >.

OTARI, K. V. et al. Protective effect of aqueous extract of *Spinacia oleracea* leaves in experimental paradigms of inflammatory bowel disease. **Inflammopharmacology**, v. 20, n. 5, p. 277-87, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22234676> >.

OWEN, R. W. et al. Olives and olive oil in cancer prevention. **European journal of cancer prevention : the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)**, v. 13, n. 1999, p. 319-326, 2004. ISSN 0959-8278.

OZ, H. S.; CHEN, T.; DE VILLIERS, W. J. S. Green Tea Polyphenols and Sulfasalazine have Parallel Anti-Inflammatory Properties in Colitis Models. **Frontiers in immunology**, v. 4, n. June, p. 132-132, 2013. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3672863&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

OZ, H. S.; ZHONG, J.; DE VILLIERS, W. J. S. Pegylated arginine deiminase downregulates colitis in murine models. **Mediators of inflammation**, v. 2012, p. 813892-813892, 2012. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3270451&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

ÖZKAN, Y. et al. Effects of triple antioxidant combination (vitamin E, vitamin C and α -lipoic acid) with insulin on lipid and cholesterol levels and fatty acid composition of brain tissue in experimental diabetic and non-diabetic rats. **Cell Biology International**, v. 29, p. 754-760, 2005.

OZTURK, C. C. et al. Anti-inflammatory effects of nesfatin-1 in rats with acetic acid - induced colitis and underlying mechanisms. **J Physiol Pharmacol**, v. 66, n. 5, p. 741-50, Oct 2015. ISSN 1899-1505 (Electronic)

0867-5910 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26579580> >.

PACKER, L.; TRITSCHLER, H. J.; WESSEL, K. Neuroprotection by the metabolic antioxidant alpha-lipoic acid. **Free radical biology & medicine**, v. 22, p. 359-378, 1997. ISSN 0891-5849 (Print)\r0891-5849 (Linking).

PACKER, L.; WEBER, S. U.; RIMBACH, G. Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signalling. **The Journal of nutrition**, v. 131, p. 369S-73S, 2001. ISSN 0022-3166 (Print).

PACKER, L.; WITT, E. H.; TRITSCHLER, H. J. alpha-Lipoic acid as a biological antioxidant. **Free radical biology & medicine**, v. 19, p. 227-250, 1995. ISSN 0891-5849.

PAIK, Y. H. et al. Role of NADPH oxidases in liver fibrosis. **Antioxid Redox Signal**, v. 20, n. 17, p. 2854-72, Jun 10 2014. ISSN 1557-7716 (Electronic)

1523-0864 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24040957> >.

PAIOTTI, A. P. R. et al. The anti-inflammatory potential of phenolic compounds in grape juice concentrate (G8000™) on 2,4,6-trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis. **The British journal of nutrition**, v. 110, n. 6, p. 973-80, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23517616> >.

PANDURANGAN, A. K. et al. Allicin Alleviates Dextran Sodium Sulfate- (DSS-) Induced Ulcerative Colitis in BALB/c Mice. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2015, p. 605208, 2015a. ISSN 1942-0994 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26075036> >.

PANDURANGAN, A. K. et al. Gallic acid attenuates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in BALB/c mice. **Drug Des Devel Ther**, v. 9, p. 3923-34, 2015b. ISSN 1177-8881 (Electronic)

1177-8881 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26251571> >.

PARK, Y. S. et al. Melatonin improves experimental colitis with sleep deprivation. **Int J Mol Med**, v. 35, n. 4, p. 979-86, Apr 2015. ISSN 1791-244X (Electronic)

1107-3756 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25625560> >.

PASPARAKIS, M. Regulation of tissue homeostasis by NF-kappaB signalling: implications for inflammatory diseases. **Nat Rev Immunol**, v. 9, n. 11, p. 778-88, Nov 2009. ISSN 1474-1741 (Electronic)

1474-1733 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19855404> >.

PAWAR, P. et al. Rectal gel application of Withania somnifera root extract expounds anti-inflammatory and muco-restorative activity in TNBS-induced inflammatory bowel disease. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 11, n. 1, p. 34-34, 2011. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3103490&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

PERERA, R. M.; BARDEESY, N. When antioxidants are bad on towering heights. **Nature**, v. 475, p. 43-44, 2011.

PERŠE, M.; CERAR, A. Dextran sodium sulphate colitis mouse model: traps and tricks. **Journal of biomedicine & biotechnology**, v. 2012, p. 718617-718617, 2012. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3361365&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

PHILIPPE, D. et al. Anti-inflammatory effects of Lacto-Wolfberry in a mouse model of experimental colitis. **World journal of gastroenterology : WJG**, v. 18, n. 38, p. 5351-9, 2012. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3471103&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

PIECHOTA-POLANCZYK, A.; FICHNA, J. Review article: the role of oxidative stress in pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 387, n. 7, p. 605-20, 2014. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4065336&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

PIGANELLI, J. D.; DELMASTRO, M. M. Oxidative stress and redox modulation potential in type 1 diabetes. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2011, p. 1-15, 2011. ISSN 1740-2530 (Electronic)\r1740-2522 (Linking).

PINTO, M. A. S. et al. Does active Crohn's disease have decreased intestinal antioxidant capacity? **Journal of Crohn's & colitis**, v. 7, n. 9, p. e358-66, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23523266> >.

PLE, C. et al. Combining selected immunomodulatory Propionibacterium freudenreichii and Lactobacillus delbrueckii strains: Reverse engineering development of an anti-inflammatory cheese. **Mol Nutr Food Res**, Dec 7 2015. ISSN 1613-4133 (Electronic)

1613-4125 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26640113> >.

PONDER, A.; LONG, M. D. A clinical review of recent findings in the epidemiology of inflammatory bowel disease. **Clin Epidemiol**, v. 5, p. 237-47, 2013. ISSN 1179-1349 (Electronic)

1179-1349 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23922506> >.

POP-BUSUI, R.; STEVENS, M. J.; RAFFEL, D. M. Effects of triple antioxidant therapy on measures of cardiovascular autonomic neuropathy and on myocardial blood flow in type 1 diabetes: a randomised controlled. **Diabetologia**, v. 56, n. 8, p. 1835-1844, 2013. ISSN 0012501329429. Disponível em: < <http://link.springer.com/article/10.1007/s00125-013-2942-9> >.

PORFIRE, A. S. et al. Investigation into the role of Cu/Zn-SOD delivery system on its antioxidant and antiinflammatory activity in rat model of peritonitis. **Pharmacological Reports**, v. 66, p. 670-676, 2014.

POSADINO, A. M. et al. Resveratrol alters human endothelial cells redox state and causes mitochondrial-dependent cell death. **Food and Chemical Toxicology**, p. 1-7, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2015.01.017> >.

POUDYAL, D.; LE, P. M.; DAVIS, T. A Hexane fraction of American ginseng suppresses mouse colitis and associated colon cancer: anti-inflammatory and proapoptotic mechanisms. **Cancer Prevention Research**, v. 5, n. 4, p. 685-696, 2012. Disponível em: < <http://cancerpreventionresearch.aacrjournals.org/content/5/4/685.short> >.

POWRIE, F. et al. Inhibition of Th1 responses prevents inflammatory bowel disease in scid mice reconstituted with CD45RBhi CD4+ T cells. **Immunity**, v. 1, n. 7, p. 553-62, Oct 1994. ISSN 1074-7613 (Print)

1074-7613 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7600284> >.

PRABHU, V. V.; GURUVAYOORAPPAN, C. Protective effect of marine mangrove *Rhizophora apiculata* on acetic acid induced experimental colitis by regulating anti-oxidant enzymes, inflammatory mediators and nuclear factor-kappa B subunits. **International immunopharmacology**, v. 18, n. 1, p. 124-34, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24269623> >.

PRAVDA, J. Radical induction theory of ulcerative colitis. **World journal of gastroenterology : WJG**, v. 11, n. 16, p. 2371-84, 2005. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15832404> >.

RABELO SOCCA, E. A. et al. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha and cyclooxygenase-2 by Isatin: A molecular mechanism of protection against TNBS-induced colitis in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 209, p. 48-55, 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2013.11.019> >.

RADOVIC, S. et al. Expression of p53, bcl-2, and Ki-67 proteins in the inflammatory regenerative and dysplastic epithelial lesions of flat colonic mucosa. **Bosn J Basic Med Sci**, v. 6, n. 1, p. 39-45, Feb 2006. ISSN 1512-8601 (Print)

1512-8601 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16533178> >.

RAHIMI, R.; MOZAFFARI, S.; ABDOLLAHI, M. On the use of herbal medicines in management of inflammatory bowel diseases: a systematic review of animal and human studies. **Digestive diseases and sciences**, v. 54, n. 3, p. 471-80, 2009. ISSN 1062000803. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18618255> >.

RAHIMI, R.; NIKFAR, S.; ABDOLLAHI, M. Induction of clinical response and remission of inflammatory bowel disease by use of herbal medicines: a meta-analysis. **World journal of gastroenterology : WJG**, v. 19, n. 34, p. 5738-49, 2013. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3769914&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

RAHIMI, R. et al. A meta-analysis on the efficacy of probiotics for maintenance of remission and prevention of clinical and endoscopic relapse in Crohn's disease. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 53, p. 2524-2531, 2008.

RAHIMI, R.; SHAMS-ARDEKANI, M. R.; ABDOLLAHI, M. A review of the efficacy of traditional Iranian medicine for inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 36, p. 4504-4504, 2010. Disponível em: < <http://www.wjnet.com/1007-9327/full/v16/i36/4504.htm> >.

RANA, S. V. et al. Role of oxidative stress & antioxidant defence in ulcerative colitis patients from north India. **Indian J Med Res**, v. 139, p. 568-571, 2013.

RAO, R. Oxidative stress-induced disruption of epithelial and endothelial tight junctions. **Frontiers in bioscience : a journal and virtual library**, v. 13, p. 7210-7226, 2008. ISSN 1093-9946 (Print)\r1093-4715 (Linking).

RAZACK, R.; SEIDNER, D. L. Nutrition in inflammatory bowel disease. **Curr Opin Gastroenterol**, v. 23, n. 4, p. 400-5, Jul 2007. ISSN 0267-1379 (Print)

0267-1379 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17545776> >.

REIMUND, J. M. et al. Antioxidant and immune status in active Crohn's disease. A possible relationship. **Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)**, v. 19, n. 1, p. 43-8, 2000. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10700533> >.

REZAIE, A.; PARKER, R. D.; ABDOLLAHI, M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? **Digestive diseases and sciences**, v. 52, n. 9, p. 2015-21, 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17404859> >.

RISE, C. L. V.; PRABHU, V. V.; GURUVAYOORAPPAN, C. Effect of Marine Mangrove *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh Against Acetic Acid-Induced Ulcerative Colitis in Experimental Mice.

Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology, v. 31, n. 2, p. 179-192, 2012. Disponível em: <
<http://www.dl.begellhouse.com/journals/0ff459a57a4c08d0,27db4dfa659d34e6,0620e99548a804fd.html>>.

ROCHA, K. K. R. et al. Resveratrol toxicity: Effects on risk factors for atherosclerosis and hepatic oxidative stress in standard and high-fat diets. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 6, p. 1362-1367, 2009. ISSN 1873-6351 (Electronic). Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2009.03.010>>.

ROESSNER, a. et al. Oxidative stress in ulcerative colitis-associated carcinogenesis. **Pathology, research and practice**, v. 204, n. 7, p. 511-24, 2008. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18571874>>.

ROMAGNOLI, C. et al. Role of N-acetylcysteine and GSH redox system on total and active MMP-2 in intestinal myofibroblasts of Crohn's disease patients. **International journal of colorectal disease**, v. 28, n. 7, p. 915-24, 2013. Disponível em: <
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3712135&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

ROMIER, B. et al. Dietary polyphenols can modulate the intestinal inflammatory response. **Nutrition reviews**, v. 67, n. 7, p. 363-78, 2009. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19566597>>.

ROSILLO, M. a. et al. Protective effect of ellagic acid, a natural polyphenolic compound, in a murine model of Crohn's disease. **Biochemical pharmacology**, v. 82, n. 7, p. 737-45, 2011. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21763290>>.

ROUAKI, F. et al. Cardiotoxicity Induced by Dietary Oxidized Sunflower Oil in Rats: Pro- and Antioxidant Effects of α -Tocopherol. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 83, n. 6, p. 367-376, 2013. Disponível em: <
<http://medcontent.metapress.com/openurl.asp?genre=article&id=doi:10.1024/0300-9831/a000178>>.

RUTGEERTS, P.; VERMEIRE, S.; VAN ASSCHE, G. Biological therapies for inflammatory bowel diseases. **Gastroenterology**, v. 136, n. 4, p. 1182-97, 2009. Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19249397>>.

SADOWSKA, A. M.; MANUEL-Y-KEENOY, B.; DE BACKER, W. a. Antioxidant and anti-inflammatory efficacy of NAC in the treatment of COPD: Discordant in vitro and in vivo dose-effects: A review. **Pulmonary Pharmacology and Therapeutics**, v. 20, n. 2007, p. 9-22, 2005. ISSN 1094-5539 (Print)\n1094-5539 (Linking).

SAKTHIVEL, K. M.; GURUVAYOORAPPAN, C. Protective Effect of Acacia ferruginea against Ulcerative Colitis via Modulating Inflammatory Mediators , Cytokine Profile and NF- κ B Signal Transduction Pathways. v. 33, n. 2, p. 83-98, 2014.

SALAGA, M. et al. Polyphenol extract from evening primrose pomace alleviates experimental colitis after intracolonic and oral administration in mice. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 387, n. 11, p. 1069-78, 2014. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4203999&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

SALAH, N. et al. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 322, p. 339-346, 1995. ISSN 0003-9861.

SAMSAMI-KOR, M. et al. Anti-Inflammatory Effects of Resveratrol in Patients with Ulcerative Colitis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Pilot Study. **Arch Med Res**, May 20 2015. ISSN 1873-5487 (Electronic)

0188-4409 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26002728> >.

SAMUNI, Y. et al. The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1830, n. 8, p. 4117-29, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23618697> >.

SÁNCHEZ-FIDALGO, S. et al. Dietary extra virgin olive oil polyphenols supplementation modulates DSS-induced chronic colitis in mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 7, p. 1401-1413, 2013a. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.11.008> >.

SÁNCHEZ-FIDALGO, S. et al. Dietary unsaponifiable fraction from extra virgin olive oil supplementation attenuates acute ulcerative colitis in mice. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, p. 572-581, 2013b.

SÁNCHEZ-FIDALGO, S. et al. Dietary supplementation of resveratrol attenuates chronic colonic inflammation in mice. **European journal of pharmacology**, v. 633, n. 1-3, p. 78-84, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20132809> >.

SÁNCHEZ-FIDALGO, S. et al. Influence of extra virgin olive oil diet enriched with hydroxytyrosol in a chronic DSS colitis model. **European journal of nutrition**, v. 51, n. 4, p. 497-506, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21874330> >.

SÁNCHEZ-FIDALGO, S. et al. Effects of dietary virgin olive oil polyphenols: hydroxytyrosyl acetate and 3, 4- dihydroxyphenylglycol on DSS-induced acute colitis in mice. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 28, p. 1-33, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2014.12.001> >.

SÁNCHEZ-FIDALGO, S. et al. Extra-virgin olive oil-enriched diet modulates DSS-colitis-associated colon carcinogenesis in mice. **Clinical Nutrition**, v. 29, n. 5, p. 663-673, 2010. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2010.03.003> >.

SANDS, B. E.; KAPLAN, G. G. The role of TNFalpha in ulcerative colitis. **J Clin Pharmacol**, v. 47, n. 8, p. 930-41, Aug 2007. ISSN 0091-2700 (Print)

0091-2700 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17567930> >.

SARTOR, R. B. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. **Gastroenterology**, v. 126, n. 6, p. 1620-1633, 2004. Disponível em: < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508504004561> >.

SATISH KUMAR, C. S. et al. Protective effect of Lactobacillus plantarum 21, a probiotic on trinitrobenzenesulfonic acid-induced ulcerative colitis in rats. **Int Immunopharmacol**, v. 25, n. 2, p. 504-10, Apr 2015. ISSN 1878-1705 (Electronic)

1567-5769 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25727887> >.

SAXENA, A. et al. Dietary agents and phytochemicals in the prevention and treatment of experimental ulcerative colitis. **J Tradit Complement Med**, v. 4, n. 4, p. 203-17, Oct 2014. ISSN 2225-4110 (Electronic)

2225-4110 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25379461> >.

SAYYED, H. G. et al. The effect of melatonin on plasma markers of inflammation and on expression of nuclear factor-kappa beta in acetic acid-induced colitis in the rat. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 58, p. 3156-3164, 2013. ISSN 1573-2568 (Electronic)\r0163-2116 (Linking).

SCHEPENS, M. a. a. et al. Supplemental antioxidants do not ameliorate colitis development in HLA-B27 transgenic rats despite extremely low glutathione levels in colonic mucosa. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 17, n. 10, p. 2065-2075, 2011. ISSN 1078-0998.

SCHREIBER, S.; NIKOLAUS, S.; HAMPE, J. Activation of nuclear factor kappa B inflammatory bowel disease. **Gut**, v. 42, n. 4, p. 477-84, Apr 1998. ISSN 0017-5749 (Print)

0017-5749 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9616307> >.

SCHWEIGERT, N.; ZEHNDER, A. J. B.; EGGEN, R. I. L. **Chemical properties of catechols and their molecular modes of toxic action in cells, from microorganisms to mammals**. 3: 81-91 p. 2001.

SCIOLI, M. G. et al. Propionyl-L-Carnitine is Efficacious in Ulcerative Colitis Through its Action on the Immune Function and Microvasculature. **Clinical and translational gastroenterology**, v. 5, n. 3, p. e55-e55, 2014. Disponível em: <

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3972692&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

SEHIRLI, A. O. et al. St. John's wort may ameliorate 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid colitis off rats through the induction of pregnane X receptors and/or P-glycoproteins. **J Physiol Pharmacol**, v. 66, n. 2, p. 203-14, Apr 2015. ISSN 1899-1505 (Electronic)

0867-5910 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25903951> >.

SEIDNER, D. L.; LASHNER, B. A. An oral supplement enriched with fish oil, soluble fiber, and antioxidants for corticosteroid sparing in ulcerative colitis: a randomized, controlled trial. **Clinical gastroenterology and hepatology**, v. 3, n. 4, p. 358-369, 2005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S154235650400672X> >.

SEIFRIED, H. E. et al. **A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species**. 18: 567-579 p. 2007.

SEITO, L. N. et al. Zeyheria montana Mart. (Bignoniaceae) as source of antioxidant and immunomodulatory compounds with beneficial effects on intestinal inflammation. **J Pharm Pharmacol**, v. 67, n. 4, p. 597-604, Apr 2015. ISSN 2042-7158 (Electronic)

0022-3573 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25556766> >.

SENGÜL, N. et al. The effect of exopolysaccharide-producing probiotic strains on gut oxidative damage in experimental colitis. **Digestive diseases and sciences**, v. 56, n. 3, p. 707-14, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20683661> >.

SEOK YANG, W. et al. Src/NF- κ B-targeted inhibition of LPS-induced macrophage activation and dextran sodium sulphate-induced colitis by Archidendron clypearia methanol extract. **Journal of ethnopharmacology**, v. 142, n. 1, p. 287-93, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22537838> >.

SHAY, K. P.; MICHELS, A. J.; LI, W. Cap-independent Nrf2 translation is part of a lipoic acid-stimulated detoxification stress response. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1823, n. 6, p. 1102-1109, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488912000870> >.

SHAY, K. P. et al. Is alpha-lipoic acid a scavenger of reactive oxygen species in vivo? Evidence for its initiation of stress signaling pathways that promote endogenous antioxidant capacity. **Iubmb Life**, v. 60, n. 6, p. 362-367, Jun 2008. ISSN 1521-6543. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000256628000002 >.

SHAY, K. P. et al. Alpha-lipoic acid as a dietary supplement: molecular mechanisms and therapeutic potential. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1790, n. 10, p. 1149-60, 2009. Disponível em: <

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2756298&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

SHIFRIN, H. et al. Rivastigmine alleviates experimentally induced colitis in mice and rats by acting at central and peripheral sites to modulate immune responses. **PloS one**, v. 8, n. 2, p. e57668-e57668, 2013. Disponível em: <

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3585220&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

SHIGESHIRO, M.; TANABE, S.; SUZUKI, T. Dietary polyphenols modulate intestinal barrier defects and inflammation in a murine model of colitis. **Journal of Functional Foods**, v. 5, p. 949-955, 2013.

SHOWKAT, A.; BASTNAGEL, W. R.; HUDSON, J. Q. Effect of α -Lipoic Acid on Oxidative Stress in End-Stage Renal Disease Patients Receiving Intravenous Iron. **ISRN nephrology**, v. 2014, p. 634515-634515, 2014. Disponível em: <

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4045440&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

SIDDIQUI, A. et al. Antioxidant therapy with N-acetylcysteine plus mesalamine accelerates mucosal healing in a rodent model of colitis. **Digestive diseases and sciences**, v. 51, n. 4, p. 698-705, 2006. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16614991> >.

SIEGMUND, B. Management of Mild-to-Moderate Ulcerative Colitis. **Dig Dis**, v. 33 Suppl 1, p. 90-94, Sep 14 2015. ISSN 1421-9875 (Electronic)

0257-2753 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26368795> >.

SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biol**, v. 4C, p. 180-183, Apr 2015. ISSN 2213-2317 (Electronic)

2213-2317 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25588755> >.

SIMEOLI, R. et al. Preventive and therapeutic effects of Lactobacillus paracasei B21060-based synbiotic treatment on gut inflammation and barrier integrity in colitic mice. **J Nutr**, v. 145, n. 6, p. 1202-10, Jun 2015. ISSN 1541-6100 (Electronic)

0022-3166 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25926411> >.

SINGH, K.; JAGGI, A. S.; SINGH, N. Exploring the Ameliorative Potential of Punica granatum in Dextran Sulfate Sodium Induced Ulcerative Colitis in Mice. v. 1574, n. April, p. 1565-1574, 2009.

SINGH, R. S. et al. Immunomodulatory and therapeutic potential of a mycelial lectin from Aspergillus nidulans. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 165, n. 2, p. 624-38, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21590306> >.

SINGH, S.; KHAN, A. R.; GUPTA, A. K. Role of glutathione in cancer pathophysiology and therapeutic interventions. **J Exp Ther Oncol**, v. 9, n. 4, p. 303-16, 2012. ISSN 1359-4117 (Print) 1359-4117 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22545423> >.

SINGH, U. P. et al. Resveratrol (trans-3,5,4'-trihydroxystilbene) induces silent mating type information regulation-1 and down-regulates nuclear transcription factor-kappaB activation to abrogate dextran sulfate sodium-induced colitis. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 332, n. 3, p. 829-839, 2010. ISSN 0022-3565.

SINHA, M. et al. Aging and antioxidants modulate rat brain levels of homocysteine and dehydroepiandrosterone sulphate (DHEA-S): implications in the pathogenesis of Alzheimer's disease. **Neuroscience letters**, v. 483, n. 2, p. 123-6, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20691758> >.

SMITH, A. M. et al. Disruption of macrophage pro-inflammatory cytokine release in Crohn's disease is associated with reduced optineurin expression in a subset of patients. **Immunology**, v. 144, n. 1, p. 45-55, Jan 2015. ISSN 1365-2567 (Electronic) 0019-2805 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24943399> >.

SOBCZAK, M. et al. Anti-inflammatory action of a novel orally available peptide 317 in mouse models of inflammatory bowel diseases. **Pharmacol Rep**, v. 66, n. 5, p. 741-50, Oct 2014. ISSN 1734-1140 (Print) 1734-1140 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25149976> >.

SONGISEPP, E. et al. Evaluation of the functional efficacy of an antioxidative probiotic in healthy volunteers. **Nutrition journal**, v. 4, p. 22-22, 2005.

SOUBH, A. A.; ABDALLAH, D. M.; EL-ABHAR, H. S. Geraniol ameliorates TNBS-induced colitis: Involvement of Wnt/beta-catenin, p38MAPK, NFkappaB, and PPARgamma signaling pathways. **Life Sci**, v. 136, p. 142-50, Sep 1 2015. ISSN 1879-0631 (Electronic) 0024-3205 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26165751> >.

SOUSSI, T. p53 Antibodies in the sera of patients with various types of cancer: a review. **Cancer Res**, v. 60, n. 7, p. 1777-88, Apr 1 2000. ISSN 0008-5472 (Print) 0008-5472 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10766157> >.

SREEDHAR, R. et al. Jumihaidokuto effectively inhibits colon inflammation and apoptosis in mice with acute colitis. **Int Immunopharmacol**, v. 29, n. 2, p. 957-63, Dec 2015. ISSN 1878-1705 (Electronic) 1567-5769 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26548346> >.

STAIB, F. et al. The p53 tumor suppressor network is a key responder to microenvironmental components of chronic inflammatory stress. **Cancer Res**, v. 65, n. 22, p. 10255-64, Nov 15 2005. ISSN 0008-5472 (Print)

0008-5472 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16288013> >.

SUZUKI, M. et al. Myosin light chain kinase expression induced via tumor necrosis factor receptor 2 signaling in the epithelial cells regulates the development of colitis-associated carcinogenesis. **PLoS One**, v. 9, n. 2, p. e88369, 2014. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24520376> >.

SUZUKI, T.; HARA, H. Quercetin enhances intestinal barrier function through the assembly of zonula [corrected] occludens-2, occludin, and claudin-1 and the expression of claudin-4 in Caco-2 cells. **The Journal of nutrition**, v. 139, p. 965-974, 2009.

_____. Role of flavonoids in intestinal tight junction regulation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 22, n. 5, p. 401-408, 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.08.001> >.

SUZUKI, Y. et al. A lecithinized superoxide dismutase (PC-SOD) improves ulcerative colitis. **Colorectal disease : the official journal of the Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland**, v. 10, n. 9, p. 931-4, 2008. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2659364&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

TAGUCHI, K.; MOTOHASHI, H.; YAMAMOTO, M. Molecular mechanisms of the Keap1-Nrf2 pathway in stress response and cancer evolution. **Genes Cells**, v. 16, n. 2, p. 123-40, Feb 2011. ISSN 1365-2443 (Electronic)

1365-2443 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21251164> >.

TAHAN, G. et al. Vitamin E has a dual effect of anti-inflammatory and antioxidant activities in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. **Canadian journal of surgery. Journal canadien de chirurgie**, v. 54, n. 5, p. 333-8, 2011a. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3195661&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

TAHAN, G. et al. Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats. **Digestive diseases and sciences**, v. 56, n. 3, p. 715-20, 2011b. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20676767> >.

TAKAGI, T.; INADA, Y.; NAITO, Y. Circadian rhythm and inflammatory bowel disease. **Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine**, v. 71, p. 2165-70, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24437273> >.

TAKASHIMA, T. et al. Feeding with olive oil attenuates inflammation in dextran sulfate sodium-induced colitis in rat. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 2, p. 186-192, 2014. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.10.005> >.

TAKAYAMA, T. et al. Colorectal cancer: genetics of development and metastasis. **J Gastroenterol**, v. 41, n. 3, p. 185-92, Mar 2006. ISSN 0944-1174 (Print)

0944-1174 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16699851> >.

TALERO, E. et al. Vascular contribution of adrenomedullin to microcirculatory improvement in experimental colitis. **European journal of pharmacology**, v. 670, n. 2-3, p. 601-7, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21958875> >.

TALWALKAR, A.; KAILASAPATHY, K. Metabolic and biochemical responses of probiotic bacteria to oxygen. **Journal of dairy science**, v. 86, p. 2537-2546, 2003. ISSN 0022-0302.

TE VELDE, A. A. et al. Glutathione peroxidase 2 and aquaporin 8 as new markers for colonic inflammation in experimental colitis and inflammatory bowel diseases: an important role for H₂O₂? **Eur J Gastroenterol Hepatol**, v. 20, n. 6, p. 555-60, Jun 2008. ISSN 0954-691X (Print)

0954-691X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18467915> >.

TERRY, P. D. et al. Melatonin and ulcerative colitis: Evidence, biological mechanisms, and future research. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 15, n. 1, p. 134-140, 2009. ISSN 1536-4844 (Electronic)\r1078-0998 (Linking).

TESORIERE, L. et al. Inducible nitric oxide synthase (iNOS)-1 activation and NF- κ B-dependent release of inflammatory mediators and prevents the increase of epithelial permeability in IL-1 β -exposed Caco-2 cells. **The British journal of nutrition**, v. 111, n. 3, p. 415-23, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23931157> >.

THAKURTA, I. G. et al. Combination of N-acetylcysteine, α -lipoic acid and α -tocopherol substantially prevents the brain synaptosomal alterations and memory and learning deficits of aged rats. **Experimental gerontology**, v. 50, p. 19-25, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24291247> >.

THAKURTA, I. G. et al. Dietary supplementation with N-acetyl cysteine, α -tocopherol and α -lipoic acid reduces the extent of oxidative stress and proinflammatory state in aged rat brain. **Biogerontology**, v. 13, n. 5, p. 479-88, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22851277> >.

THANAN, R. et al. Oxidative Stress and Its Significant Roles in Neurodegenerative Diseases and Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 193-217, 2015.

THIMMULAPPA, R. K. et al. Nrf2 is a critical regulator of the innate immune response and survival during experimental sepsis. **J Clin Invest**, v. 116, n. 4, p. 984-95, Apr 2006. ISSN 0021-9738 (Print)

0021-9738 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16585964> >.

THIPPESWAMY, B. S. et al. Protective effect of embelin against acetic acid induced ulcerative colitis in rats. **European journal of pharmacology**, v. 654, n. 1, p. 100-5, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21185828> >.

TIPPLE, T. E.; ROGERS, L. K. Methods for the determination of plasma or tissue glutathione levels. **Methods Mol Biol**, v. 889, p. 315-24, 2012. ISSN 1940-6029 (Electronic)

1064-3745 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22669674> >.

TOPCU-TARLADACALISIR, Y. et al. Effects of curcumin on apoptosis and oxidoinflammatory regulation in a rat model of acetic acid-induced colitis: the roles of c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. **Journal of medicinal food**, v. 16, n. 4, p. 296-305, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23566056> >.

TOUMI, R. et al. Beneficial role of the probiotic mixture Ultrabiotique on maintaining the integrity of intestinal mucosal barrier in DSS-induced experimental colitis. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, v. 35, n. 3, p. 403-9, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23638770> >.

TREMBLAY, L. et al. Stevens-Johnson syndrome with sulfasalazine treatment: report of two cases. **Journal of Crohn's & colitis**, v. 5, n. 5, p. 457-60, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21939920> >.

TRIVEDI, P. P.; JENA, G. B. Melatonin reduces ulcerative colitis-associated local and systemic damage in mice: investigation on possible mechanisms. **Digestive diseases and sciences**, v. 58, n. 12, p. 3460-74, 2013a. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23975342> >.

_____. Role of α -lipoic acid in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice: studies on inflammation, oxidative stress, DNA damage and fibrosis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 59, p. 339-55, 2013b. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23793040> >.

_____. Ulcerative colitis-induced hepatic damage in mice: studies on inflammation, fibrosis, oxidative DNA damage and GST-P expression. **Chem Biol Interact**, v. 201, n. 1-3, p. 19-30, Jan 25 2013c. ISSN 1872-7786 (Electronic)

0009-2797 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23261717> >.

TRIVEDI, P. P. et al. Melatonin Modulated Autophagy and Nrf2 Signaling Pathways in Mice With Colitis-Associated Colon Carcinogenesis. **Molecular carcinogenesis**, v. 16, p. 1-13, 2015.

TRUELOVE, S. C.; WITTS, L. J. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. **Br Med J**, v. 2, n. 4947, p. 1041-8, Oct 29 1955. ISSN 0007-1447 (Print)

0007-1447 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13260656> >.

TSUNADA, S. et al. Redox imbalance in the colonic mucosa of ulcerative colitis. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 38, p. 1002-1003, 2003.

TÜZÜN, A. et al. Oxidative stress and antioxidant capacity in patients with inflammatory bowel disease. **Clinical biochemistry**, v. 35, n. 7, p. 569-72, 2002. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12493587> >.

ULLAH, M. F. et al. Pharmacological Intervention through Dietary Nutraceuticals in Gastrointestinal Neoplasia. **Crit Rev Food Sci Nutr**, p. 0, Nov 3 2014. ISSN 1549-7852 (Electronic)

1040-8398 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25365584> >.

URAZ, S. et al. N-acetylcysteine expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic acid-induced colitis in rats. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, v. 73, n. 1, p. 61-6, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23110331> >.

VASCONCELOS, S. M. L. et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Quim Nova**, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, 2007. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n5/a46v30n5.pdf> >.

VASINA, V. Non-peptidyl low molecular weight radical scavenger IAC attenuates DSS-induced colitis in rats. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 29, p. 3642-3642, 2010. Disponível em: < <http://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v16/i29/3642.htm> >.

VASINA, V. et al. Effects of the non-peptidyl low molecular weight radical scavenger IAC in DNBS-induced colitis in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 614, n. 1-3, p. 137-145, 2009. ISSN 0014-2999. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.04.021> >.

VAZIRI, N. D. et al. Intra-renal angiotensin II/AT1 receptor, oxidative stress, inflammation, and progressive injury in renal mass reduction. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 323, n. 1, p. 85-93, 2007. ISSN 0022-3565 (Print).

VENKATESH, P. G.; NAVANEETHAN, U.; SHEN, B. Hepatobiliary disorders and complications of inflammatory bowel disease. **J Dig Dis**, v. 12, n. 4, p. 245-56, Aug 2011. ISSN 1751-2980 (Electronic)

1751-2972 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21791019> >.

VERMA, G.; MARELLA, A.; ALAM, M. Immunoinflammatory responses in gastrointestinal tract injury and recovery. v. 60, n. 2, p. 143-149, 2013.

VICKIE L. TATUM, C. C., Ching K. Chow. Measurement of Malondialdehyde by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. **Lipids**, v. 25, n. 4, p. 226-229, 1990.

VOCHYÁNOVÁ, Z. et al. Diplacone and mimulone ameliorate dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. **Fitoterapia**, p. 1-8, 2015.

VROLIJK, M. F. et al. The shifting perception on antioxidants : The case of vitamin E and β - carotene. **Redox Biology**, v. 4, p. 272-278, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2014.12.017> >.

WADIE, W. et al. STW 5 is effective in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. **International Journal of Colorectal Disease**, v. 27, p. 1445-1453, 2012.

WALLACE, K. L. et al. Immunopathology of inflammatory bowel disease. **World journal of gastroenterology : WJG**, v. 20, n. 1, p. 6-21, 2014. Disponível em: < <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3886033&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> >.

WANG, H. et al. Dietary grape seed extract ameliorates symptoms of inflammatory bowel disease in IL10-deficient mice. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 57, n. 12, p. 2253-2257, 2013.

WANG, J. et al. The changes of Th17 cells and the related cytokines in the progression of human colorectal cancers. **BMC Cancer**, v. 12, p. 418, 2012. ISSN 1471-2407 (Electronic)

1471-2407 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22994684> >.

WANG, K. P. et al. 3-(3-pyridylmethylidene)-2-indolinone reduces the severity of colonic injury in a murine model of experimental colitis. **Oxid Med Cell Longev**, v. 2015, p. 959253, 2015. ISSN 1942-0994 (Electronic). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25874026> >.

WANG, X. et al. Protective effects of 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-beta-d-glucoside, an active component of *Polygonum multiflorum* Thunb, on experimental colitis in mice. **European**

journal of pharmacology, v. 578, n. 2-3, p. 339-48, 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17963744> >.

WANG, Y.-H. et al. Proanthocyanidins from grape seeds modulates the nuclear factor-kappa B signal transduction pathways in rats with TNBS-induced recurrent ulcerative colitis. **International immunopharmacology**, v. 11, n. 10, p. 1620-7, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21642017> >.

WANG, Y.-H. et al. Effects of proanthocyanidins from grape seed on treatment of recurrent ulcerative colitis in rats. **Canadian journal of physiology and pharmacology**, v. 88, n. 9, p. 888-898, 2010.

WIECEK, S. et al. Disaccharidase activity in children with inflammatory bowel disease. **Turk J Gastroenterol**, v. 25, p. 185-191, 2014.

WIELAND, A. et al. Systematic review: microbial dysbiosis and nonalcoholic fatty liver disease. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 42, n. 9, p. 1051-63, Nov 2015. ISSN 1365-2036 (Electronic) 0269-2813 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26304302> >.

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. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22119283> >.

WITAICENIS, A. et al. Antioxidant and intestinal anti-inflammatory effects of plant-derived coumarin derivatives. **Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology**, v. 21, n. 3, p. 240-6, 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24176844> >.

WITAICENIS, A.; SEITO, L. N.; DI STASI, L. C. 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. 211-8, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20380826> >.

WRAY, D. W. et al. Oral antioxidants and cardiovascular health in the exercise-trained and untrained elderly: a radically different outcome. **Clinical science (London, England : 1979)**, v. 116, n. 5, p. 433-41, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18795893> >.

XIAO, X. et al. Preventive effects of cranberry products on experimental colitis induced by dextran sulphate sodium in mice. **Food Chemistry**, v. 167, p. 438-446, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.006> >.

XING, J.-F. et al. Protective effects of 3,4-oxo-isopropylidene-shikimic acid on experimental colitis induced by trinitrobenzenesulfonic acid in rats. **Digestive diseases and sciences**, v. 57, n. 8, p. 2045-54, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22476587> >.

XING, J. et al. Anti-inflammatory effect of 3,4-oxo-isopropylidene-shikimic acid on acetic acid-induced colitis in rats. **Inflammation**, v. 35, n. 6, p. 1872-9, 2012. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22829139> >.

XING, J. et al. Ameliorative effects of 3,4-oxo-isopropylidene-shikimic acid on experimental colitis and their mechanisms in rats. **International Immunopharmacology**, v. 15, n. 3, p. 524-531, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2013.02.008> >.

XU, B.-I.; ZHANG, G.-j.; JI, Y.-b. Active components alignment of Gegenqinlian decoction protects ulcerative colitis by attenuating in fl ammatory and oxidative stress. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 162, p. 253-260, 2015. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.042> >.

XU, P. et al. Endothelial dysfunction and elevated blood pressure in MAS gene-deleted mice. **Hypertension**, v. 51, n. 2, p. 574-80, Feb 2008. ISSN 1524-4563 (Electronic) 0194-911X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18180400> >.

YANG, M. et al. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children: Focus on Nutritional Interventions. **Nutrients**, v. 28, n. 6, p. 4691-4705, 2014.

YAO, J. et al. Anti-oxidant effects of resveratrol on mice with DSS-induced ulcerative colitis. **Archives of medical research**, v. 41, n. 4, p. 288-94, 2010. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20637373> >.

YAO, J. et al. Polydatin ameliorates DSS-induced colitis in mice through inhibition of nuclear factor-kappaB activation. **Planta medica**, v. 77, n. 5, p. 421-7, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20979017> >.

YE, Z.; LIU, Z.; HENDERSON, A. Increased CYP4B1 mRNA Is Associated with the Inhibition of Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis by Caffeic Acid in Mice. **Experimental biology ...**, v. 234, n. 6, p. 605-616, 2009. Disponível em: < <http://ebm.sagepub.com/content/234/6/605.short> >.

YEH, C. C. et al. A study of glutathione status in the blood and tissues of patients with breast cancer. **Cell Biochem Funct**, v. 24, n. 6, p. 555-9, Nov-Dec 2006. ISSN 0263-6484 (Print) 0263-6484 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16142688> >.

YEOM, Y.; KIM, Y. The Sasa quelpaertensis Leaf Extract Inhibits the Dextran Sulfate Sodium-induced Mouse Colitis Through Modulation of Antioxidant Enzyme Expression. **J Cancer Prev**, v. 20, n. 2, p. 136-46, Jun 2015. ISSN 2288-3649 (Print)

2288-3649 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26151047> >.

YILDIZ, G. et al. Resveratrol Pretreatment Ameliorates TNBS Colitis in Rats. **Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov**, v. 9, n. 2, p. 134-40, 2015. ISSN 1872-2148 (Electronic)

1872-2148 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26246013> >.

YIN, J. et al. Pyrrolidine Dithiocarbamate Inhibits NF-KappaB Activation and Upregulates the Expression of Gpx1, Gpx4, Occludin, and ZO-1 in DSS-Induced Colitis. **Appl Biochem Biotechnol**, v. 177, n. 8, p. 1716-28, Dec 2015. ISSN 1559-0291 (Electronic)

0273-2289 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26386585> >.

YING, Z. et al. Evidence that α -lipoic acid inhibits NF- κ B activation independent of its antioxidant function. **Inflammation research : official journal of the European Histamine Research Society ... [et al.]**, v. 60, n. 3, p. 219-25, 2011. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20927568> >.

YOU, Y. et al. Effect of N-acetylcysteine on the murine model of colitis induced by dextran sodium sulfate through up-regulating PON1 activity. **Digestive diseases and sciences**, v. 54, n. 8, p. 1643-50, 2009. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19034653> >.

YOUN, J. et al. Resveratrol and piceatannol inhibit iNOS expression and NF-kappaB activation in dextran sulfate sodium-induced mouse colitis. **Nutrition and cancer**, v. 61, n. August, p. 847-854, 2009. ISSN 1532-7914 (Electronic)\r0163-5581 (Linking).

YU, X. M.; WANG, X. F. The in vitro proliferation and cytokine production of V α 24+V β 11+ natural killer T cells in patients with systemic lupus erythematosus. **Chin Med J (Engl)**, v. 124, n. 1, p. 61-5, Jan 2011. ISSN 0366-6999 (Print)

0366-6999 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21362309> >.

ZHAO, J. et al. Protective effect of myricetin in dextran sulphate sodium-induced murine ulcerative colitis. **Molecular medicine reports**, v. 7, n. 2, p. 565-70, 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23232835> >.

ZHAO, Y. et al. GL-V9, a new synthetic flavonoid derivative, ameliorates DSS-induced colitis against oxidative stress by up-regulating Trx-1 expression via activation of AMPK/FOXO3a pathway. **Oncotarget**, v. 6, n. 28, p. 26291-307, Sep 22 2015. ISSN 1949-2553 (Electronic)

1949-2553 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26327408> >.

ZHOU, L. Z.; JOHNSON, A. P.; RANDO, T. A. NF kappa B and AP-1 mediate transcriptional responses to oxidative stress in skeletal muscle cells. **Free Radic Biol Med**, v. 31, n. 11, p. 1405-16, Dec 1 2001. ISSN 0891-5849 (Print)

0891-5849 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11728812> >.

ZHU, H.; LI, Y. R. Oxidative stress and redox signaling mechanisms of inflammatory bowel disease: updated experimental and clinical evidence. **Experimental Biology and Medicine**, v. 237, p. 474-480, 2012. Disponível em: < <http://ebm.sagepub.com/content/237/5/474.short> >.

ZUCKER, S. N. et al. Nrf2 amplifies oxidative stress via induction of Klf9. **Molecular Cell**, v. 53, n. 6, p. 916-928, 2014.

ANEXO 1: Parecer comitê de ética
