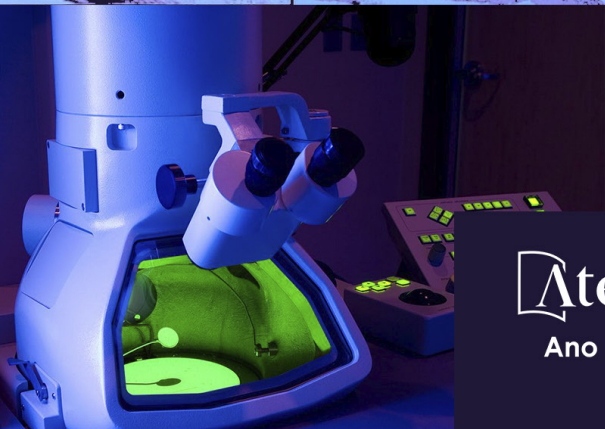


AVALIAÇÃO DA MESALAZINA NO MODELO  
EXPERIMENTAL DE RETOCOLITE

# ULCERATIVA INESPECÍFICA

SOB PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO

Rosa Maria Braga Lopes de Moura



**Atena**  
Editora  
Ano 2023



AVALIAÇÃO DA MESALAZINA NO MODELO  
EXPERIMENTAL DE RETOCOLITE

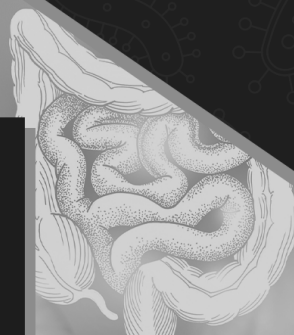
# ULCERATIVA INESPECÍFICA

SOB PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO

Rosa Maria Braga Lopes de Moura



**Atena**  
Editora  
Ano 2023



**Editora chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Editora executiva**

Natalia Oliveira

**Assistente editorial**

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecária**

Janaina Ramos

**Projeto gráfico**

Camila Alves de Cremo

Ellen Andressa Kubisty

Luiza Alves Batista

Nataly Evilin Gayde

Thamires Camili Gayde

**Imagens da capa**

iStock

**Edição de arte**

Luiza Alves Batista

2023 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do texto © 2023 Os  
autoresCopyright da edição © 2023 Atena  
EditoraDireitos para esta edição cedidos à  
Atena Editora pelos autores.Open access publication by Atena  
Editora

Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo do texto e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva da autora, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos à autora, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação, evitando plágio, dados ou resultados fraudulentos e impedindo que interesses financeiros comprometam os padrões éticos da publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

**Conselho Editorial**  
**Ciências Biológicas e da Saúde**

- Profª Drª Aline Silva da Fonte Santa Rosa de Oliveira – Hospital Federal de Bonsucesso
- Profª Drª Ana Beatriz Duarte Vieira – Universidade de Brasília
- Profª Drª Ana Paula Peron – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
- Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
- Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
- Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
- Profª Drª Camila Pereira – Universidade Estadual de Londrina
- Prof. Dr. Cirênio de Almeida Barbosa – Universidade Federal de Ouro Preto
- Profª Drª Daniela Reis Joaquim de Freitas – Universidade Federal do Piauí
- Profª Drª Danyelle Andrade Mota – Universidade Tiradentes
- Prof. Dr. Davi Oliveira Bizerril – Universidade de Fortaleza
- Profª Drª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
- Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
- Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
- Profª Drª Elizabeth Cordeiro Fernandes – Faculdade Integrada Medicina
- Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
- Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
- Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
- Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
- Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
- Profª Drª Fernanda Miguel de Andrade – Universidade Federal de Pernambuco
- Prof. Dr. Fernando Mendes – Instituto Politécnico de Coimbra – Escola Superior de Saúde de Coimbra
- Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
- Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
- Prof. Dr. Guillermo Alberto López – Instituto Federal da Bahia
- Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
- Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
- Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
- Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
- Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Delta do Parnaíba–UFDPAr
- Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
- Prof. Dr. José Aderval Aragão – Universidade Federal de Sergipe
- Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
- Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
- Profª Drª Kelly Lopes de Araujo Appel – Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal
- Profª Drª Larissa Maranhão Dias – Instituto Federal do Amapá

Profª Drª Livia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás

Profª Drª Luciana Martins Zuliani – Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas

Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Profª Drª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará

Prof. Dr. Maurilio Antonio Varavallo – Universidade Federal do Tocantins

Prof. Dr. Max da Silva Ferreira – Universidade do Grande Rio

Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma

Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá

Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados

Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino

Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora

Profª Drª Sheyla Mara Silva de Oliveira – Universidade do Estado do Pará

Profª Drª Suely Lopes de Azevedo – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Taísa Ceratti Treptow – Universidade Federal de Santa Maria

Profª Drª Vanessa da Fontoura Custódio Monteiro – Universidade do Vale do Sapucaí

Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Profª Drª Welma Emidio da Silva – Universidade Federal Rural de Pernambuco

## Avaliação da mesalazina no modelo experimental de retocolite ulcerativa inespecífica sob parâmetros de estresse oxidativo

**Diagramação:** Ellen Andressa Kubisty  
**Correção:** Maiara Ferreira  
**Indexação:** Amanda Kelly da Costa Veiga  
**Revisão:** A autora  
**Autora:** Rosa Maria Braga Lopes de Moura

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)</b>	
M929	<p>Moura, Rosa Maria Braga Lopes de                      Avaliação da mesalazina no modelo experimental de retocolite ulcerativa inespecífica sob parâmetros de estresse oxidativo / Rosa Maria Braga Lopes de Moura. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.</p> <p>Formato: PDF                      Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader                      Modo de acesso: World Wide Web                      Inclui bibliografia                      ISBN 978-65-258-1832-0                      DOI: <a href="https://doi.org/10.22533/at.ed.320232809">https://doi.org/10.22533/at.ed.320232809</a></p> <p>1. Doenças inflamatórias intestinais. I. Moura, Rosa Maria Braga Lopes de. II. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDD 616.344</p>
<b>Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166</b>	

**Atena Editora**  
 Ponta Grossa – Paraná – Brasil  
 Telefone: +55 (42) 3323-5493  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

## DECLARAÇÃO DA AUTORA

A autora desta obra: 1. Atesta não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao conteúdo publicado; 2. Declara que participou ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certifica que o texto publicado está completamente isento de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirma a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhece ter informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autoriza a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

## DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access*, desta forma não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce*, ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.



**5-ASA:** Ácido 5-aminosalicílico

**CAT:** Catalase

**CP:** Criptas

**DC:** Doença de Crohn

**DII:** Doenças Inflamatórias Intestinais

**EAN:** Espécies Ativas de Nitrogênio

**EAO:** Espécies Ativas de Oxigênio

**GPx:** Glutathione Peroxidase

**GR:** Glutathione Redutase

**GSSG:** Glutathione Dissulfeto

**GST:** Glutathione S-transferase

**iNOS:** Óxido Nítrico Sintase Induzível

**LPO:** Lipoperoxidação

**NADPH:** Fosfato Dinucleotídeo Adenina Nicotinamida

**NFKB:** Fator Nuclear Kappa B

**NO:** Óxido Nítrico

**O<sub>2</sub><sup>-•</sup>:** Ânion Superóxido

**OH<sup>•</sup>:** Radical Hidroxila

**PPAR<sub>γ</sub>:** Proliferador de Peroxissoma Gama

**RCUI:** Retocolite Ulcerativa Inespecífica

**ROH $\cdot$** : Radical Alcoxil

**ROO $\cdot$** : Radical Peroxil

**ROOH**:Peróxido Lipídico

**SOD**: Superóxido Dismutase

**TBARS**: Ácido Tiobarbitúrico

**VIP**: Polipeptídeo Intestinal Vasoativo

<b>RESUMO .....</b>	<b>13</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
1.1 Modelo experimental de colite .....	20
1.2 Estresse Oxidativo .....	21
1.3 Antioxidantes .....	24
1.4 Óxido Nítrico .....	27
1.5 Mesalazina .....	31
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>35</b>
2.1 Objetivo Geral .....	35
2.2 Objetivos Específicos .....	35
<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>36</b>
3.1 Delineamento da pesquisa .....	36
3.2 Animais .....	36
3.3 Grupos experimentais .....	36
3.4 Procedimentos experimentais .....	37
3.5 Determinação do Estresse Oxidativo .....	39
3.5.1 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) .....	39
3.5.2 Atividade da Enzima Superóxido Dismutase (SOD) .....	40
3.5.3 Atividade da Enzima Glutaciona Peroxidase (GPx) .....	41

3.6 Avaliação dos Metabólitos do Óxido Nítrico - Nitritos e Nitratos.....	42
3.7 Análise Estatística .....	42
<b>RESULTADOS .....</b>	<b>43</b>
4.1 Histologia .....	43
4.2 Medida da Pressão Anal Esfincteriana.....	45
4.3 Determinação do Estresse Oxidativo.....	46
4.4 Atividade da enzima Superóxido Dismutase.....	47
4.5 Atividade da Enzima GlutathionaPeroxidase.....	49
4.6 Metabólitos do Óxido Nítrico: Nitritos e Nitratos.....	50
<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>58</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>59</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>76</b>
Carta de Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais .....	76
<b>SOBRE A AUTORA .....</b>	<b>77</b>

## RESUMO

**Introdução:** A doença intestinal inflamatória idiopática (DIII) compreende um espectro de doenças que se caracterizam por inflamação crônica do trato gastrointestinal sem uma causa ou patógeno específico. **Objetivo:** Foi avaliada a ação da mesalazina sobre marcadores de estresse oxidativo e a atividade das enzimas antioxidantes. **Material e Métodos:** Foram utilizados 40 ratos wistar pesando 350 gramas, divididos em quatro grupos: Controle (CO); Controle+ Mesalazina (CO+M); Colite (CL) e Colite+M (CL+M) nos tempos de 24 e 48 horas de tratamento. Os animais foram submetidos à administração intracolônica por enema com solução de ácido acético a 4% e o tratamento com mesalazina na dose oral de 20mg/kg após a indução da colite. Foi realizada a análise da pressão anal esfinteriana. O homogeneizado do intestino foi utilizado para a avaliação da lipoperoxidação (LPO) através das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS); atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase (GPx) e os níveis dos metabólitos do óxido nítrico (nitritos e nitratos). A análise estatística utilizada foi ANOVA, seguida do teste de Student-Newman-Keuls, considerado significativo quando  $p < 0,05$ . **Resultados:** A mesalazina reduziu as lesões teciduais e os níveis de pressão anal esfinteriana nos grupos tratados em ambos os tempos de tratamento (24 e 48 horas). Na lipoperoxidação e nos metabólitos do óxido nítrico (NO) – nitritos e nitratos no grupo CL+M, observou-se uma redução significativa nos grupos tratados (24 e 48h). A atividade da SOD mostrou aumento no grupo CL e diminuição significativa no grupo CL+M, equivalendo à média dos grupos controles. A atividade da enzima glutathiona peroxidase (GPx) apresentou aumento significativo no grupo

CL+M comparado ao grupo CL.

**Conclusão:** A mesalazina foi capaz de reduzir as lesões teciduais e os danos oxidativos, bem como aumentar os níveis de pressão anal esfinteriana nos grupos tratados neste modelo experimental de colite ulcerativa.

## ABSTRACT

**Introduction:** Idiopathic inflammatory bowel disease (DIII) comprises a spectrum of diseases characterized by chronic inflammation of the gastrointestinal tract without a cause or specific pathogen. **Objective:** The action of mesalazine on markers of oxidative stress and antioxidant enzyme activity was evaluated. **Material and Methods:** We used 40 Wistar rats weighing 350 grams, divided into 4 groups: control (CO); Control + Mesalazine (CO + M); Colitis (CL) and Colitis + M (CL + M) at 24 and 48 hour treatment. The animals were subjected to administration intracolony by enema with acetic acid solution and 4% and mesalazine treatment in the oral dose of 20 mg/kg after colitis induction. Histological analyzes were performed by staining with hematoxylin-eosin. The homogenised gut was used for evaluation of lipid peroxidation (LPO) using the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS); the enzymes superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) and metabolic levels of nitric oxide (nitrates and nitrites). The statistical analysis used was ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test and considered significant when  $p < 0.05$ . **Results:** Mesalazine reduced tissue damage and the levels of PAE treated groups in both treatment times (24 to 48 hours). Levels of anal sphincter pressure, lipid peroxidation and metabolic nitric oxide (NO) - nitrites and nitrates in CL + M group showed a significant increase from the CL group. The activity of SOD showed increase in the CL group and significant decrease in CL + M group equivalent to the average of the control groups. The activity of glutathione peroxidase enzyme (GPx) showed a significant increase in CL + M group compared to the CL group.

**Conclusion:** The mesalazine was able to reduce tissue

injuries and oxidative damage and as well as increased levels of anal sphincter pressure in the groups treated in this experimental model of ulcerative colitis.



## INTRODUÇÃO

As doenças inflamatórias intestinais (DII) compreendem duas formas principais de apresentação: a retocolite ulcerativa inespecífica (RCUI) e doença de Crohn (DC) (Cury & Moss, 2015; Cardozo & Walter, 2015). A RCUI é uma doença crônica que acomete principalmente o cólon, caracterizando-se por inflamação e ulceração das camadas mais superficiais, afetando apenas a mucosa e submucosa, exceto nos casos mais graves (Cotran, 2005; Chuong, 2008; Reid & Carey, 2011; Cotran, 2012). A doença geralmente tem início no reto, podendo estender-se cranialmente, sempre em continuidade, sem áreas de mucosa normais entre as porções afetadas; comprometendo parte ou todo o cólon; não havendo granulomas bem formados, por isso é conhecida como doença não granulomatosa (Hanauer, 2004; Guyton, 2011). As características histopatológicas da doença apontam a presença de um número significativo de neutrófilos na lâmina própria e criptas formando micro abscessos (Naito & Takagi, 2007; Podolsky & Xavier, 2007).

Os sintomas mais frequentes são cólicas abdominais recorrentes, diarreias sanguinolentas, dor abdominal associada à febre, perda de peso e carcinomas (Freire *et al.*, 2006; Dewulf *et al.*, 2007; Rossignol, 2012).

Dados epidemiológicos confirmam que a DII afeta aproximadamente 1 a 2 em cada 1000 pessoas nos países desenvolvidos (Blumberg *et al.*, 2011). Na maioria dos casos o início da doença ocorre na vida adulta, entre 20 e 40 anos com evolução crônica e recidivante, persistindo por toda a vida, representando um importante problema

de saúde pública, já que compromete jovens em fase economicamente produtiva (Cury & Moss, 2015). Apesar de a mortalidade de pacientes com RCUI não ser maior que a da população em geral, essa condição acarreta uma severa redução da qualidade de vida e capacidade laborativa dos pacientes (Victoria, 2009; Cosnes, 2011; Souza, 2011).

A etiopatogenia da doença é multifatorial, com a participação de fatores genéticos, intraluminais, alterações na barreira do epitélio intestinal e resposta imunológica anormal da mucosa. Esses fenômenos determinam a ativação de uma cascata imunoinflamatória, que resulta em lesão continuada da mucosa do intestino (Stenson, 2001; Damião & Sipahi, 2004; Damião & Vasconcelos, 2004). Fatores ambientais também podem precipitar o início ou reativação da doença. (Kandice, 2002; Podolski, 2002; Sartor, 2006; Zaltman, 2007; Mayer, 2010).

A inflamação tem papel importante na patogênese da RCUI, pois as substâncias oxidantes causam lesões e destruição dos tecidos desencadeando desequilíbrio entre agressão e defesa, caracterizando estresse oxidativo (Halliwell & Gutteridge, 2007; Caroch, 2013) já que a ativação de genes relacionados com a resposta inflamatória são orquestrados pelo NFkB (Sen, 1986). Por outro lado, o estresse oxidativo tem seus danos minimizados por sistemas de defesa antioxidantes endógenas e/ou exógenas (Rahal, 2014; Yepes, 2014).

Tendo em vista que é bem demonstrada a implicação do estresse oxidativo na patogênese da RCUI, passou-se a

estudar a possibilidade do uso de substância antioxidante no tratamento dessa doença. Recentemente, foi comprovada a inibição do NFkB na mucosa de pacientes com RCUI ativa com o uso de mesalazina, a qual tem ação anti-inflamatória, analgésica e antioxidante e o seu metabólito ativo é conhecido como ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) (figura 3) (Gennaro, 2004; Ham, 2012). Constitui terapia padrão de primeira linha para a manutenção e remissão da doença (Blonski, 2014), inibindo a cascata do ácido araquidônico, produção de espécies ativas de oxigênio (EAO), inibindo a função dos linfócitos e monócitos assim como a produção de imunoglobulinas. A ação da mesalazina ocorre, portanto, diretamente sobre a mucosa inflamada bloqueando também as vias da cicloxigenase e lipoxigenase, diminui os níveis teciduais de hipoclorito prevenindo a oxidação da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase nas células do epitélio cólico (Kenji, 2012).

O interesse em investigar a etiopatogenia da RCUI está relacionado ao desconhecimento dos mecanismos celulares e imunológicos e, por afetar indivíduos nos anos mais saudáveis e produtivos da vida, resulta custos em longo prazo para o paciente, para o sistema de cuidado de saúde e para a sociedade. Sendo assim, ocorre importante busca por novos tratamentos que possam controlar ou eliminar a doença.

## 1.1 Modelo experimental de colite

Os modelos experimentais de colite, atualmente empregados, representam apenas em parte o que ocorre na colite. Contudo, nestes modelos fica clara a importância da integridade da barreira epitelial da mucosa na proteção das camadas internas da parede cólica, impedindo a penetração de antígenos bacterianos e a consequente resposta imune à invasão bacteriana tecidual. Os mecanismos celulares envolvidos na manutenção da integridade da barreira mucosa epitelial do cólon normalmente se encontram precocemente comprometidos no desenvolvimento da colite (Pravda, 2005).

Existem vários modelos animais para indução de colite, entre eles, o ácido 2,4,6-trinitrobenzeno sulfônico (TNBS) e dextran sulfato de sódio, ambos os métodos são altamente agressivos, atingindo além da camada mucosa e submucosa, a camada muscular e serosa, sendo que o TNBS apresenta alto potencial necrosante com índices de mortalidade que chegam a 40% dos animais submetidos a este protocolo (Kretzmann *et al.*, 2008). A aplicação de solução de ácido acético promove colite difusa sobre resposta inflamatória inespecífica. Optou-se por utilizar ácido acético a 4% como agente irritante da mucosa, por apresentar padrões de similaridade com a RCUI humana. Concentrações maiores como 8% aumentam o risco de mortalidade (Vassallo, 2011).

Murano *et al.*(2000) demonstraram que citocinas, tais como interleucinas IL 1, IL 6 e IL 8, assim como o fator de necrose tumoral alfa, estão acima da média em

ratos submetidos à colite experimental. Carrier *et al.*, (2006) defendem em seu trabalho que ratos submetidos à colite por dextran apresentaram elevação do estresse oxidativo avaliado por aumento da mieloperoxidase, TNF- alfa, IL-1, lipoperoxidação e atividade do NFkB. A importância do estresse oxidativo no desencadeamento das colites fica mais evidente com os resultados de estudos demonstrando que o emprego de substâncias antioxidantes como N-acetilcisteína (NAC), deferoxamina, quercetina, rofecoxibe, curcumina são capazes de diminuir, em animais experimentação, a agressão oxidativa na colite quimicamente induzida (Camuesco *et al.*, 2004; Cetinkaya *et al.*, 2005). Da mesma forma, estudos vêm demonstrando a eficácia da mesalazina, frequentemente utilizada como terapia de primeira linha no tratamento da RCUI (Song *et al.*, 2006; Hayashi *et al.*, 2009).

## 1.2 Estresse Oxidativo

A terminologia estresse oxidativo refere-se a uma situação na qual existe aumento sustentado na concentração, em estado estacionário, das espécies ativas de oxigênio acima de seus níveis fisiológicos. Em princípio, pode resultar de uma situação em que ocorra a diminuição nos níveis das defesas antioxidantes, aumento na velocidade de produção das espécies ativas de oxigênio, ou de ambas (Sies, 1991; Rudich *et al.*, 2007). Assim, o desequilíbrio do sistema redox leva ao estresse oxidativo (Jones, 2006; Santos, 2009; Ferreira *et al.*, 2011) que pode

culminar com lipoperoxidação e lesão tecidual (Rezaie, 2007).

O consumo de oxigênio pelos organismos aeróbios está intimamente ligado à otimização da extração de energia dos diversos substratos energéticos. Seu alto potencial oxidante pode ser verificado pela comparação da eficiência com que ocorrem as reações do metabolismo aeróbio. A redução completa de uma molécula de oxigênio à água requer quatro elétrons, redução tetraeletrônica, que evita as reações intermediárias e ocorre na cadeia respiratória acoplada à fosforilação oxidativa, pelo sistema citocromo oxidase, que forma ATP (Del Maestro, 1980; Orrenius, 2007).

De maneira simples, o termo radical livre refere-se a um átomo ou molécula com alta capacidade reativa, que contenha número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica (Halliwell & Gutteridge, 2007). As reações de redução implicam ganho de elétrons enquanto as reações de oxidação implicam perda. Como exemplo, no metabolismo celular normal durante a fosforilação oxidativa no interior das mitocôndrias, quando ocorre redução do  $O_2$  molecular, formando o radical superóxido ( $O_2\cdot^-$ ), com número ímpar de elétrons na sua última camada atômica. Ao se compreender a formação do radical  $O_2\cdot^-$ , durante as reações metabólicas que ocorrem nas células em um cenário de reações de oxidorredução, cerca de 2% a 5% das situações, a redução é monoeletrônica formando produtos intermediários conhecidos como radical hidroxila, o ânion radical superóxido e o óxido nítrico. As espécies ativas de

oxigênio (EAOs) como o peróxido de hidrogênio, podem ser formadas durante o metabolismo normal de qualquer célula através da perda de elétrons de um não radical ou pelo ganho de um elétron por não radical (Droge, 2002; Madger, 2006; Halliwell & Gutteridge, 2007; Caroch, 2013; Lambeth, 2014).

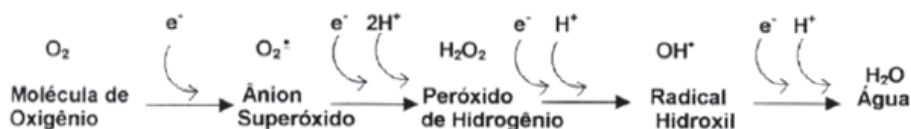


Figura 1: Espécies ativas de oxigênio. Adaptado de Halliwell & Gutteridge, 2007

O ataque às cadeias de ácidos graxos poli-insaturados (com dois ou mais carbonos de sua cadeia com ligação dupla) pode ocorrer através de processos de peroxidação, que é a reação em cadeia envolvendo três etapas distintas: iniciação, propagação e terminação. O começo dessa reação geralmente ocorre por meio da abstração do átomo de hidrogênio de um grupo metileno ( $\text{CH}_2$ ) através do ataque de uma molécula reativa, como EAO, metais, ou outros radicais livres, formando um radical de carbono. Este, por sua vez, realizará um rearranjo molecular, formando um dieno conjugado, o qual pode reagir com moléculas de oxigênio, formando um radical peroxil ( $\text{ROO}^{\bullet}$ ). A partir da formação deste radical ocorre a fase de propagação, devido à sua capacidade de abstrair átomos de hidrogênio de outros grupos metileno de cadeias

adjacentes (transformando-se em peróxido lipídico). Estes sofrerão processos de rearranjo molecular, formação de dienos conjugados e, posteriormente, ataque de moléculas de oxigênio, formando um novo ROO<sup>-</sup> o qual reinicia o processo, gerando reação oxidativa em cadeia (Halliwell & Gutteridge, 2007; Ristow, 2011; Sohal, 2012).

Os radicais alcoxilas também podem abstrair átomos de hidrogênio, tanto de outros peróxidos como de grupos metilenos de ácidos graxos poli-insaturados, continuando as reações em cadeia. Outro grande problema dessas reações é a formação de Fe<sup>3+</sup>, o qual também pode reagir com peróxidos lipídicos, formando radicais peroxilas e Fe<sup>2+</sup>, em um ciclo auto-sustentável (Halliwell & Gutteridge, 2007). Quando o estresse oxidativo é crônico, pensa-se que resulte em danos ao DNA, lipídeos, proteínas e outras moléculas, as quais podem contribuir para desenvolvimento e progressão de um espectro de patologias (Steinbrenner & Sies, 2009).

### **1.3 Antioxidantes**

A produção contínua de EAO durante os processos metabólicos leva ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos. O estresse oxidativo tem seus danos minimizados por sistemas de defesa antioxidante não enzimático, como vitaminas C e E e/ou enzimático, principalmente as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona redutase (GR) e glutathiona s-transferase



(GST) linha de defesa primária uma vez que evita o acúmulo do ânion radical superóxido e do peróxido de hidrogênio. Existem, também, as defesas secundárias, que impedem a formação de EAO e a propagação da LPO, e as terciárias, enzimas de reparo de danos já instalados. O sistema enzimático encarregado da detoxificação das EAO é formado por várias enzimas, das quais se podem destacar: superóxidodismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona peroxidase (GPx) (Sies, 1993; Ferreira & Matsubara, 1997).

A SOD forma um grupo de enzimas que catalisam a reação de dois ânions superóxido ( $O_2^-$ ), com consequente formação de peróxido de hidrogênio, que é menos reativo e pode ser degradado por outras enzimas. A SOD é classificada em três tipos distintos: SOD cobre e zinco (CuZnSOD), presente no citoplasma das células de eucariontes; SOD manganês (MnSOD), localizada na matriz mitocondrial e SOD ferro (FeSOD) que ocorre em bactérias (Roberts & Sindhu, 2009).

A catalase (CAT) tem ação no peróxido de hidrogênio, formado na dismutação do ânion superóxido, sendo transformado em água e oxigênio por ação dessa enzima. A catalase reage muito especificamente já que atua em reações com peróxidos de hidrogênio, metila e etila. Entre as peroxidases, que geralmente usam o grupo heme, destaca-se a atividade da glutathiona peroxidase (GPx), localizada no citosol e na matriz mitocondrial. Ela catalisa a redução do peróxido de hidrogênio e de hidroperóxidos orgânicos, por meio da oxidação da glutathiona reduzida

(GSH), então regenerada por ação da glutathione redutase com consumo de NADPH. Neste processo de oxirredução, os grupamentos sulfidrilas doam dois hidrogênios para os peróxidos, transformando-os em álcool e/ou água, formando glutathione dissulfeto (GSSG) (Boveris, 1973; Apel & Hirt, 2004; Dias, 2005; Ahmad *et al.*, 2008).

As enzimas CAT e GPx agem com o propósito de impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio. Tal ação integrada é de grande importância, uma vez que essa espécie reativa, por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss, mediante a participação dos metais ferro e cobre culmina na geração do radical hidroxila (OH•), contra o qual não há sistema enzimático de defesa. O referido radical (OH•) vem sendo indicado como o de maior potencial reativo e com extrema instabilidade. Tais características capacitam-no como o radical livre mais propício na produção de danos oxidativos. Além de ser o principal iniciador do processo de peroxidação lipídica, tendo como consequência a alteração da função biológica das membranas celulares, esse radical é capaz de agir sobre as proteínas, alterando-as em relação à sua estrutura e/ou função biológica (Dröge, 2002; Orrenius *et al.*, 2007; Lipinski, 2011).

Assim como as enzimas antioxidantes, que removem radicais livres ou EAO antes que esses causem dano à membrana, existem substâncias que atuam como antioxidantes, evitando reações em cadeia, como a LPO. Elas são conhecidas como defesas antioxidantes não enzimáticas, sendo mais conhecidas glutathione, ácido ascórbico (vitamina C), tocoferol (vitamina E), carotenos e

flavonoides (Moreira, 2004; Peres, 2000; Dias, 2005).

Essas substâncias, quando atuam, podem evitar a formação de RL ou EAO, suprimir uma cadeia de peroxidação na fase de propagação e reparar ou reconstruir a membrana. A destruição dos tecidos provoca desequilíbrio entre agressão e defesa, caracterizando estresse oxidativo (Halliwell & Gutteridge, 2007).

## 1.4 Óxido Nítrico

O óxido nítrico (NO) é uma molécula paramagnética, possui um elétron desemparelhado em seu orbital externo, altamente lipofílico, sintetizado pelas células endoteliais, macrófagos e certo grupo de neurônios do cérebro. É um importante sinalizador intracelular e extracelular e atua induzindo a enzima guanil ciclase, que produz guanosina monofosfato cíclico (GMP) que tem entre outros efeitos, através da interação com receptores Beta-2 específicos promover o relaxamento do músculo liso, o que provoca o relaxamento da musculatura endotelial (Furchgott, 1980; Palmer, 1987; Ignarro, 1989; Baylis, 1998; Wang, 1995; Fleming, 1999).

O NO é um segundo mensageiro químico com papel de ativar ou inibir diversas moléculas alvo, merecendo destaque na regulação do tônus vascular e na resposta imunológica. Existem três isoformas de NO sintase (NOS), sendo duas constitutivas cálcio dependentes: endotelial, eNOS e neuronal, nNOS e uma induzida, a iNOS, não dependente de cálcio. O NO é produzido pela oxidação

do nitrogênio guanidínico terminal de L-arginina pela NO sintase (NOS) na presença de coenzimas como a nicotinamida adenina difosfato (NADPH) e a calmodulina (CaM) no caso das isoformas constitutivas. O NO é rapidamente convertido em dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ) e, em seguida, em formas mais estáveis como nitrito e nitrato (Palmer & Moncada, 1993; Forstermann & Sessa, 2012).

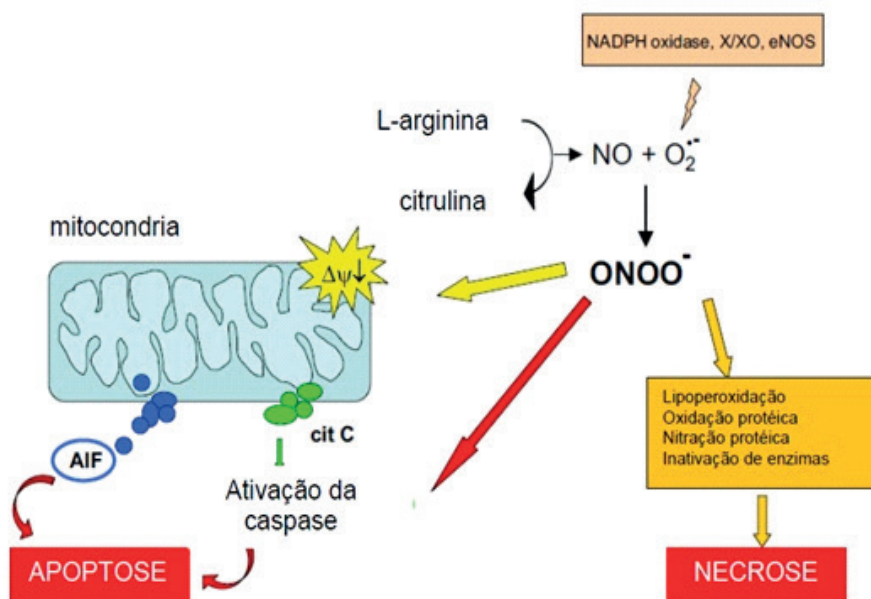


Figura 2: Metabolismo do Óxido Nítrico. Adaptado de Liaudet *et al.*, 2000.

A síntese de NO se realiza por ação de uma enzima, a óxido nítrico sintase (NOS), a partir do aminoácido L-arginina que produz NO e L- Citrulina, necessitando da presença de dois cofatores, o oxigênio e o fosfato dinucleotídeo adenina nicotinamida (NADPH) A óxido nítrico-sintase (NOS) é a enzima responsável pela síntese

do NO. Três isoformas de NOS são descritas, sendo uma NOS induzida (iNOS) e duas NOS constitutivas (cNOS). A isoforma I ou óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) é uma NOS constitutiva, presente nos neurônios, regula a transmissão sináptica no SNC; atua na regulação central da pressão sanguínea, no relaxamento do músculo liso e na vasodilatação via nervos periféricos. Também regula o fluxo sanguíneo cerebral local e está envolvida na formação da memória. A isoforma II ou óxido nítrico-sintase endotelial (eNOS) é uma NOS constitutiva e produz NO em endotélio vascular sob condições basais, porém a força de cisalhamento produzida pelo fluxo sanguíneo pode incrementar sua produção. É um potente inibidor de adesão e agregação plaquetária na parede vascular e também inibe a adesão de leucócitos ao endotélio vascular, além de ser responsável pela regulação da pressão sanguínea e contratilidade do músculo cardíaco. A isoforma III ou óxido nítrico-sintase induzível (iNOS) tem efeito citostático por inibição de enzimas contendo ferro e também causa fragmentação de DNA. A síntese de iNOS é induzida por Lipopolissacarídeos (LPS), radicais livres ou qualquer outra alteração detectável no meio intra ou extracelular, ativando a transcrição de genes pró-inflamatórios (Forstermann, 1995; Wang, 1995; Fleming, 1999).

A superprodução de NO em condições inflamatórias pode ser convertida em espécies ativas de nitrogênio (EAN) como o peroxinitrito potencializando os danos inflamatórios. Estudos bioquímicos demonstraram que as EAO oxidam diversas classes de lipídeos, formando

malondialdeído, dienos conjugados, peróxidos lipídicos e hidróxidos lipídicos (O'Donnell, 2001; Green *et al.*, 2004).

Entre algumas funções estão a integridade vascular, a motilidade intestinal e o relaxamento da musculatura anal esfínteriana (Ignarro, 1989; Baylis, 1998) geradas por macrófagos e outras células ativadas por citocinas, com capacidade de gerar NO por meio de mecanismos regulatórios complementares e distintos (Alican, 1996) com expressão aumentada em manifestações da doença intestinal inflamatória e no foco da inflamação, associada com ulceração e depleção de células caliciformes como no caso da RCUI. Assim, a geração excessiva de EAO resulta em dano celular que pode levar à redução na produção mitocondrial de ATP (Renet *al.* 2010). Neste sentido, é possível observar um aspecto marcante dessa molécula: a sua capacidade de ser benéfica ou potencialmente tóxica conforme a concentração ou depuração tecidual (Kolios, 2004).

Atualmente, é bem aceito o conceito de que o óxido nítrico é formado e liberado por células endoteliais e que possui importante efeito relaxante sobre a musculatura lisa dos vasos. O processo de relaxamento da musculatura lisa intestinal em resposta ao polipeptídeo intestinal vasoativo (VIP) é, em parte, mediado pela liberação de NO pelas próprias células da musculatura lisa. Essa sugestão é fortalecida pelo fato de VIP ocasionar relaxamento do músculo esfínter anal interno, ao mesmo tempo em que ocorre aumento de liberação de NO. Além disso, o relaxamento do músculo esfínter anal interno induzido

pelo VIP é bloqueado pela presença de inibidores da NOS. Estudos experimentais com animais sugerem que o NO e o VIP possuem ação inibitória sobre a musculatura lisa, promovendo o relaxamento do esfíncter anal, ocasionando diminuição nos níveis da pressão anal esfíncteriana (Moncada & Higgs, 2006).

## 1.5 Mesalazina

Há décadas, a primeira linha de tratamento para pacientes com doença inflamatória intestinal tem sido a sulfassalazina, uma pró-droga desdobrada no cólon, por ação bacteriana em sulfapiridina e ácido 5-aminossalicílico (5-ASA). A molécula de sulfapiridina é grandemente absorvida, levando à ocorrência de muitos efeitos colaterais, sendo então a grande responsável pela toxicidade da sulfassalazina; já a fração ativa da molécula deste fármaco responsável pelo efeito anti-inflamatório foi identificada como mesalazina (5-ASA), o que levou ao seu uso de forma isolada (Corman, 2005; Pearson *et al.*, 1996; Dallegri *et al.*, 1990). A mesalazina tem, portanto, se apresentado como fármaco padrão para o tratamento da doença inflamatória intestinal devido a seu efeito local na mucosa colônica, além de apresentar poucos efeitos colaterais (Cai *et al.*, 2003).



Figura 3: Molécula da mesalazina. Adaptado de Gennaro, 2004

A mesalazina absorvida é rapidamente acetilada a N-acetil-5-ASA, que é desativada pelo menos em dois lugares: no epitélio colônico e no fígado. A meia-vida de eliminação é de três horas e a do seu metabólito N-acetil-5-ASA é de cinco a dez horas; cerca de 1/3 da dose administrada por via oral é absorvida na forma inalterada, e o restante é transformado por ação das bactérias intestinais azoredutase, essencialmente no cólon, em sulfapiridina e ácido 5-amino-salicílico (5-ASA ou mesalazina). Menos de 10% da sulfapiridina ingerida é excretada pelo rim, enquanto 33% do 5-ASA é recuperada na urina (Velooso *et al.*, 1996). A porção não absorvida é excretada pelas fezes; a parte absorvida é eliminada pela urina; 10 a 30% da dose administrada são excretados pela urina dentro de 24 horas como N-acetil-5-ASA (Ikeda, 2007).

A mesalazina tem efeitos quimiopreventivos contra o câncer colorretal, aumentando a expressão gênica da proteína P53 através de mecanismos epigenéticos. Os efeitos anticancerígenos da mesalazina podem ser mediados também por sua capacidade de remover



moléculas que causam dano oxidativo à mucosa (Velayos, 2005). Resultados sugerem que o 5-ASA pode reduzir células tumorais, mas não a proliferação de células epiteliais normais (Ikeda, 2007).

Apesar de numerosas pesquisas, o mecanismo de ação da mesalazina está parcialmente elucidado. É aceito que seu efeito ocorra localmente na mucosa intestinal, através da inibição da ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase, diminuindo, assim, a produção de prostaglandinas e leucotrienos. Acredita-se também que atue como sequestrador de radicais livres, produzidos em maior número nos pacientes com doença inflamatória intestinal (Katzung, 2007).

Outros mecanismos potenciais de ação dos fármacos do 5-ASA estão relacionados com sua capacidade de interferir na produção de citocinas inflamatórias. O 5-ASA inibe a atividade do NFkB, um importante fator de transcrição das citocinas pró-inflamatórias. O 5-ASA também pode inibir as funções celulares das células natural killer, dos linfócitos da mucosa e macrófagos, podendo remover EAO (Benetton, 2007; Katzung, 2007; Campregher & Gasche, 2011).

O receptor ativado pelo proliferador de peroxissoma gama (PPAR $\gamma$ ) é receptor chave que medeia o efeito da terapia medicamentosa com mesalazina, reprimindo vários genes-alvo como o NFkB (Egan, 1999). Dessa forma, tal receptor possui um papel na regulação da inflamação intestinal e é altamente expresso no cólon, onde as células epiteliais e macrófagos são as principais fontes celulares.

O PPAR $\gamma$  também está envolvido na proliferação celular, apoptose e na modulação da produção de citocinas e efeitos antitumorigênicos. Portanto PPAR $\gamma$  pode formar a base para estratégias preventivas contra RCUI (Rousseaux, 2005).

Apesar de estudos que estão sendo realizados, a fisiopatologia da colite ulcerativa ainda não está totalmente esclarecida, a causa exata ainda não foi estabelecida. Até a presente data, poucos estudos avaliaram os efeitos antioxidantes do ácido 5-ASA em modelos experimentais de colite. Quando se considera que o estresse oxidativo encontra-se relacionado aos mecanismos moleculares que levam ao aparecimento da colite, e que o ácido 5-ASA apresenta atividade antioxidante, torna-se relevante a avaliação da eficácia da substância no tratamento da doença. Tendo em vista essas considerações, nos propomos a desenvolver o modelo experimental de colite frente à ação antioxidante da mesalazina para avaliar o estresse oxidativo.

# OBJETIVOS

## 2.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação da mesalazina no modelo experimental de colite induzida por ácido acético, verificando o estresse oxidativo e a atividade das enzimas antioxidantes em 24 e 48 horas de tratamento.

## 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as alterações histológicas da porção distal do intestino dos animais, através da coloração por hematoxilina e eosina;
- Avaliar as alterações na pressão anal esfinteriana nos animais submetidos à colite experimental e à ação da mesalazina;
- Avaliar os níveis de lipoperoxidação na porção distal intestino dos animais através das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS);
- Avaliar a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e Glutathione peroxidase (GPx) na porção distal no intestino dos animais;
- Avaliar os metabólitos do óxido nítrico (nitritos/nitratos) na porção distal no intestino dos animais.

# MATERIAL E MÉTODOS

## 3.1 Delineamento da pesquisa

Este estudo tem caráter experimental quantitativo. Realizada a indução de colite em ratos, os resultados obtidos foram comparados aos dos animais controle e tratados com mesalazina.

## 3.2 Animais

Os procedimentos com os animais ocorreram de acordo com os Princípios Éticos padronizados pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais - ULBRA, Canoas, RS, sob a aprovação do mesmo projeto –2015-22P.

Durante o experimento, os animais foram mantidos no Biotério da ULBRA, em caixas plásticas de 47x34x18 cm forradas com maravalha, em ciclo de 12 horas claro/escuro e temperatura entre 20 e 25°C. A água e a ração foram administradas com acesso livre.

O número de animais está de acordo com os trabalhos já desenvolvidos no nosso grupo experimental. Foram calculados cinco animais por grupo para detectar diferenças com magnitude maior de que 2,5 unidades de desvio padrão, mantendo-se  $\alpha = 0,05$  e poder de 90%.

## 3.3 Grupos experimentais

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais os quais foram avaliados em dois períodos diferentes de tratamento: 24 e 48 horas.

1. Grupo controle (CO): submetido ao enema com solução fisiológica;
2. Grupo colite (CL): submetido à indução da colite, por enema de ácido acético;
3. Grupo controle + mesalazina (CO + M): administração na dose de 20 mg/Kg;
4. Grupo colite + mesalazina (CL + M): indução da colite por enema de ácido acético e administração da mesalazina na dose de 20 mg/Kg.

### 3.4 Procedimentos experimentais

O modelo escolhido para a indução da colite foi uma adaptação do trabalho descrito por Yamada *et al.* (1992) e Tannahill *et al.* (1995). Os animais foram anestesiados e submetidos à administração intracolônica por enema, a partir de um cateter de 0,08 mm de diâmetro com solução de ácido acético diluído a 4% e com volume de 4 mL. Não houve critérios de exclusão de animais que apresentassem sinais severos da doença. Esse método já foi realizado por nosso grupo de pesquisa e a lesão é confirmada por análise histológica, demonstrando inflamação decorrente do modelo de colite.

Foram administradas nos animais doses de mesalazina por via oral a partir de uma sonda de gavagem, na dose de 20 mg/Kg diluídos em 1 mL de NaCl, uma vez ao dia, durante 48 horas após a indução da colite. O medicamento que foi administrado é conhecido comercialmente como Mesacol®, produzido pela Indústria Nycomed Pharma. Cada comprimido contém 1.200 mg de mesalazina.

Após a dissecação anatômica do intestino de cada animal, foram retirados aproximadamente dois centímetros da porção distal, os quais foram isolados e imersos em formol tamponado a 10% por até 24 horas, possibilitando a fixação do tecido. Posteriormente, foram submetidos ao processamento histológico com desidratação em seis alcoóis absolutos por uma hora cada, clarificação em dois xilóis por uma hora cada e impregnação em parafina a 64°C. Durante o processo, os tecidos permaneceram em cada cuba em período médio de uma hora e trinta minutos. As lâminas foram coradas pelo método de hematoxilina e eosina (HE) e montadas para avaliação histológica. Foi realizada a análise microscópica do intestino distal com aumento de 200 x.

Transcorridos a indução da doença e o tratamento com mesalazina, os animais foram novamente pesados e anestesiados com cloridrato de cetamina na dose de 95 mg/Kg e xilasina na dose de 8 mg/Kg para a realização das medidas de pressão anal esfíncteriana. Para isso, um aparelho de manometria anorretal (Proctossystem-Viotti – SP) com cateter de balão e medida em cm de H<sub>2</sub>O foi utilizado. O aparelho para a realização da medida de pressão anal esfíncteriana pertence ao pesquisador e é instrumento validado.

O cateter com balão foi introduzido no canal anal e tracionado de modo a registrar a pressão esfíncteriana. Foram realizadas três medidas subsequentes e, posteriormente, foi realizada a média entre os três valores para o resultado da pressão (Read, 1992). Após a realização

das medidas das pressões, os animais permaneceram em anestesia profunda, sendo-lhes retirados os intestinos e, após, pesados e congelados em nitrogênio líquido para as análises estabelecidas. Conseqüentemente a isso, ocorreu a eutanásia dos animais por anestesia profunda, seguida de exsanguinação.

### **3.5 Determinação do Estresse Oxidativo**

#### *3.5.1 Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)*

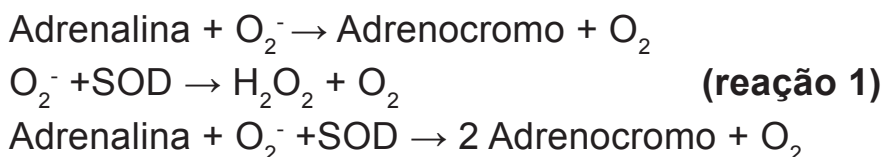
A técnica de TBARS consiste no aquecimento do homogeneizado com ácido tiobarbitúrico e na conseqüente formação de um produto corado. O aparecimento da coloração ocorre devido à presença do malondialdeído e de outras substâncias provenientes da peroxidação lipídica no material biológico. As amostras de tecido foram colocadas em tubos de ensaio com a mistura de ácido tricloroacético (TCA) 10% e ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,67%. Posteriormente foram aquecidas em banho durante 30 minutos e resfriadas em gelo por, aproximadamente, cinco minutos. O TBA reagiu com produtos da lipoperoxidação formando uma base de Schiff, o TCA foi utilizado para desnaturar as proteínas presentes, além de acidificar o meio da reação. Após o resfriamento das amostras, foi acrescentado 1,5 mL de álcool n-butílico para extrair o pigmento formado, colocados em agitador por 45 segundos e centrifugados durante dez minutos a 3000 rpm. Por último, o produto corado, presente na fração superior,

foi lido em espectrofotômetro com um comprimento de onda de 535 nm. A concentração de TBARS obtida foi expressa em nmol por miligrama de proteína (Buege, 1978).

### 3.5.2 Atividade da Enzima Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) é definida por sua capacidade de inibir um sistema de detecção que reage com o  $O_2^-$ . A técnica de medida da SOD baseia-se na inibição dessa reação. Para isso, foi utilizado adrenalina que, no meio alcalino, transformou-se em adrenocromo, produzindo  $O^-$  que é o substrato da enzima. Assim ela é definida pela quantidade de enzima SOD que é capaz de inibir em 50% a velocidade de oxidação do detector adrenalina (Misra, 1972).

Antes de realizar a determinação como homogeneizado, foi feita a medida do meio de reação (glicina - NaOH 50 Mm, pH 10) e da adrenalina (1 mM, pH 1,0), esta corresponde a 100% da reação; na cubeta, foram colocados um tampão glicina 50 mM com pH 11, uma alíquota de homogeneizado e a adrenalina. Logo após, foram realizadas a agitação e a leitura a 480 nm. Os dados foram expressos em Unidades de SOD por miligrama de proteína (USOD/ mg prot.). A catálise da adrenalina está demonstrada na reação 1 logo abaixo.





### 3.5.3 Atividade da Enzima Glutationa Peroxidase (GPx)

Esta enzima catalisa a reação dos hidroperóxidos com a glutatona reduzida (GSH) para formar glutatona oxidada (GSSG) e o produto da redução do hidroperóxido. A atividade da GPx pode ser estudada medindo-se a velocidade do consumo de NADPH em um sistema que contenha GSH em presença de glutatona redutase (GR). Utiliza-se azida sódica ( $\text{N}_3\text{Na}$ ) para inibir a catalase (Wendel, 1981). Foi necessário inibir a atividade pseudo peroxidativa da hemoglobina, assim, mede-se a quantidade de hemoglobina da amostra pela solução de Drabkin e, posteriormente, acrescenta-se a solução transformante que vai transformar toda a hemoglobina em cianometahemoglobina.

A técnica consiste em determinar a atividade da enzima espectrofotometricamente, medindo-se a velocidade de oxidação de NADPH em uma mistura de reação. Em uma cubeta, foram colocados solução reguladora de fosfatos de potássio (100 mM, pH 7,0),  $\text{H}_2\text{O}$  bidestilada, azida sódica 20 mM, com GSH 40 mM, GR e NADPH. Essa mistura foi encubada durante três minutos para, imediatamente após esse tempo, serem adicionadas amostra diluída e  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Por fim, a atividade da GPx foi medida em espectrofotômetro a 340 nm, e sua atividade expressa em nmoles por minuto por miligrama de proteína (nmol/min/mg prot) (Flohé, 1984).

### 3.6 Avaliação dos Metabólitos do Óxido Nítrico - Nitritos e Nitratos

A produção de óxido nítrico foi medida indiretamente através de um teste quantitativo colorimétrico pela reação Griess (Granger *et al.*, 1999). Baseia-se na redução enzimática de nitratos a nitritos na presença de nitrato redutase e NADPH, e posterior reação dos nitritos formados (ou presentes inicialmente nas amostras) com o reagente de Griess. Como o excesso de NADPH utilizado inibe a reação de Griess, necessário se faz oxidar todo o NADPH não utilizado na redução dos nitratos, o que é obtido pela adição de nitrato redutase. A leitura foi realizada em leitor de microplacas a 540nm, e os resultados foram expressos em mmol de  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ .

### 3.7 Análise Estatística

A partir dos dados coletados, as médias e os desvios padrões de cada grupo foram calculados, utilizando-se, para análise estatística, GrapPad Instat, versão 3.0. O teste utilizado para a análise de variância dos resultados foi o ANOVA, seguido do teste de Student-Newman-Keuls para os dados paramétricos. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando obtivemos o nível de significância de, pelo menos, 5% ( $p < 0,05$ ).

# RESULTADOS

## 4.1 Histologia

O estudo histológico foi realizado por meio da coloração com hematoxilina- eosina no intestino, o qual foi retirado no instante do sacrifício e analisado em aumento de 100x e 200x.

Na figura 4,o grupo CO e CO+M no tempo de 24 horas apresentou arquitetura normal do cólon, onde se identificaram a luz intestinal, as criptas (CP) e a submucosa (SB). No grupo CL, constatou-se alteração na arquitetura colônica na qual ocorreu destruição das CP e redução de edema de SB. No grupo CL+M, foram constatadas a preservação das CP e a redução do edema na SB.

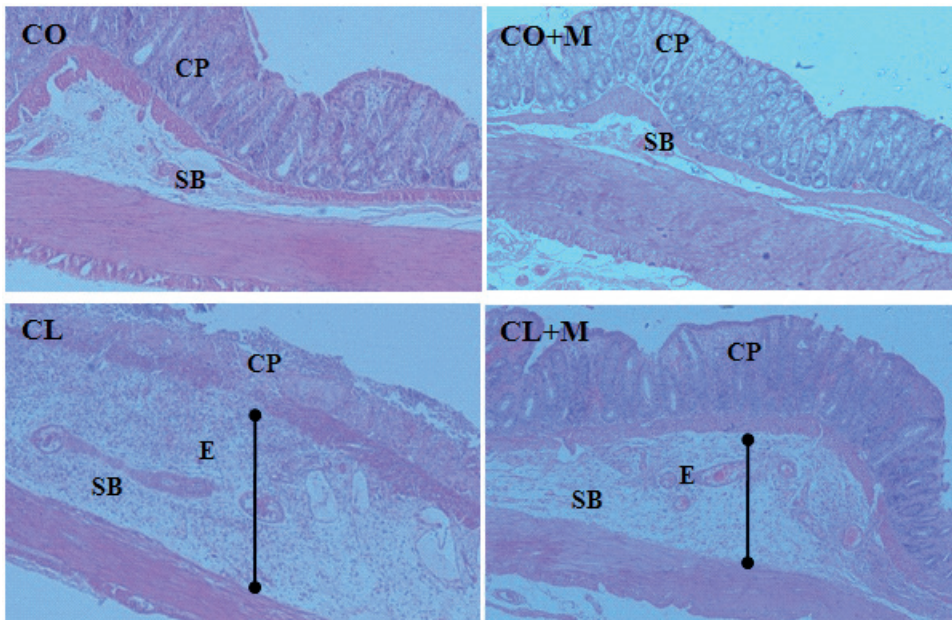


Figura 4: Fotomicrografia do intestino de animais do grupo CO; CO+M; CL e CL+M no tempo 24 horas com aumento de 200x.

Na figura 5, no grupo 48 horas, na fotomicrografia do grupo CO observou-se a arquitetura do cólon, onde se identificaram luz intestinal, CP e SB. No grupo tratado com mesalazina, foram constatadas preservação das CP e menor edema de SB. No grupo CL, verificou-se alteração mais severa na arquitetura colônica com destruição das CP e um edema de SB caracterizado por infiltrado inflamatório. No grupo CL/M, observaram-se preservação das criptas da mucosa e menor edema de submucosa. Não houve alterações histológicas no grupo de animais CO/M.

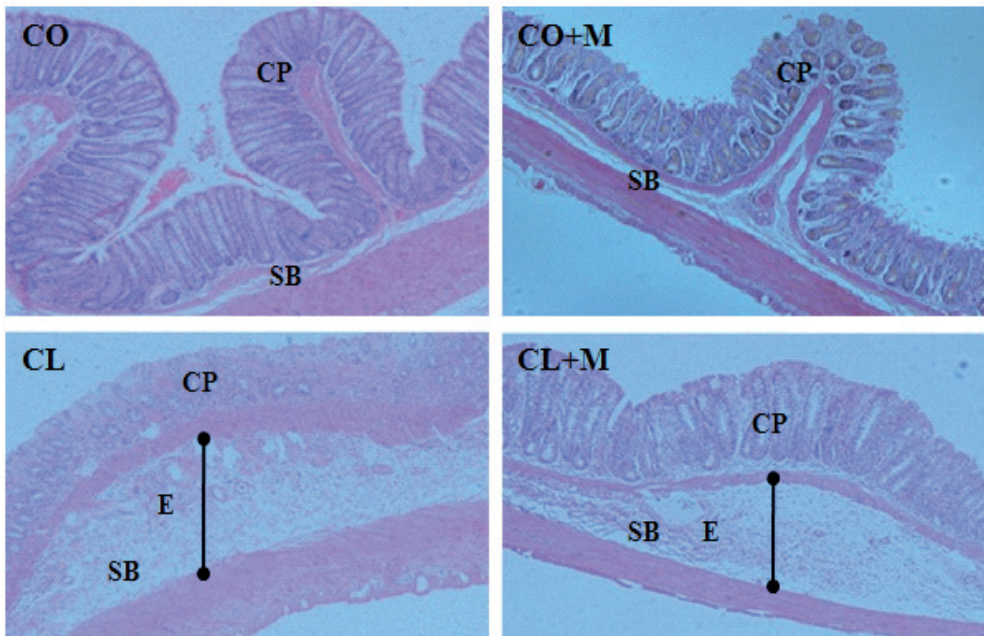


Figura 5: Fotomicrografia de 48 horas do intestino de animais do grupo CO; CO/M; CL e CL/M com aumento de 200x.

## 4.2 Medida da Pressão Anal Esfincteriana

A pressão anal esfinteriana demonstrou diminuição significativa em animais com colite, quando comparados ao grupo controle. O grupo tratado com mesalazina demonstrou aumento significativo, quando comparado ao grupo colite, sendo  $p < 0,05$ .

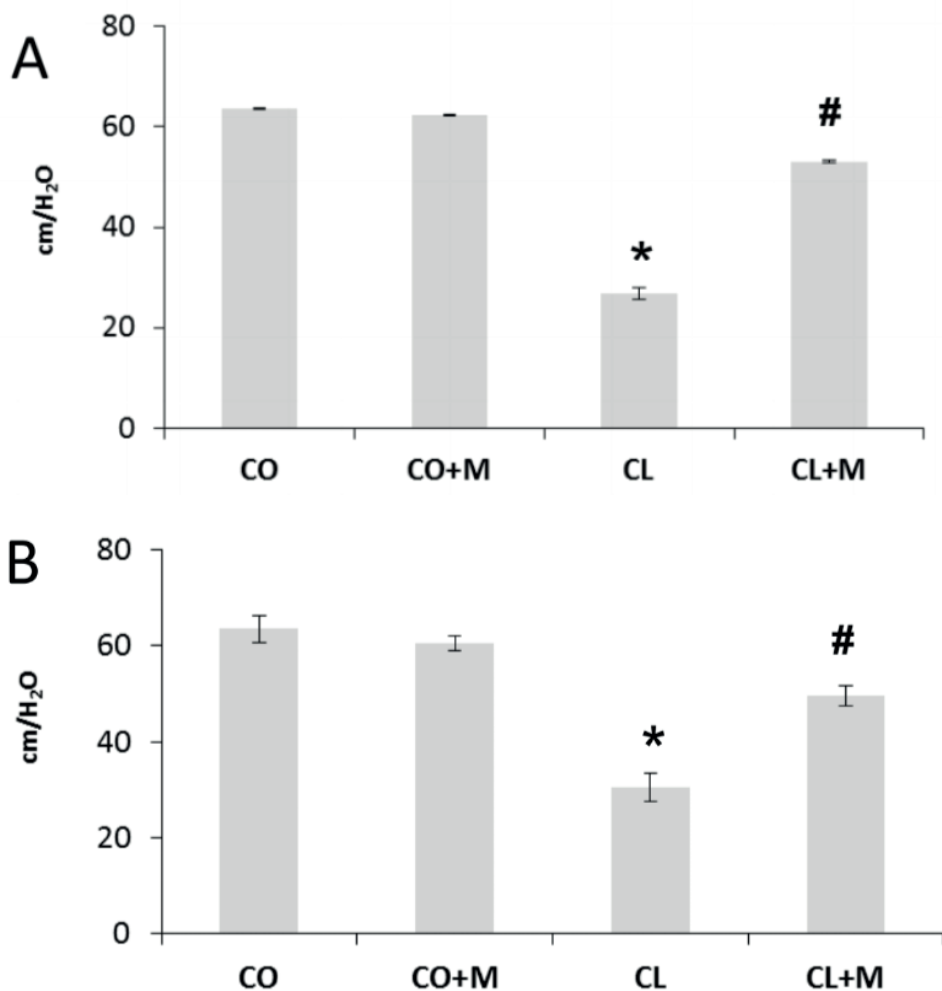


Figura 6: Valores médios das pressões anais esfinterianas no grupo 24 h(A) e 48 h (B). Os resultados correspondem à média

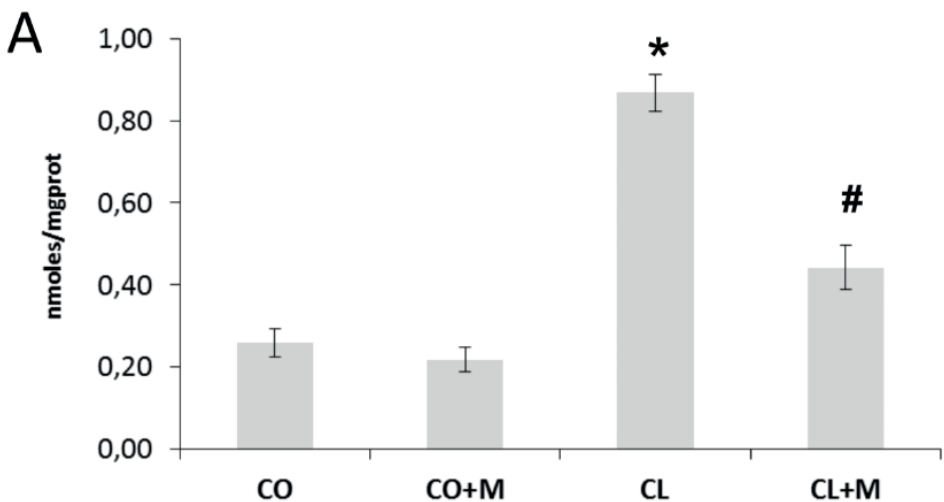
+/- erro padrão (EP) para cinco animais de cada grupo. Esses dados representam diminuição com diferença significativa na pressão anal esfinteriana após a indução de colite no grupo CL em relação ao grupo CO ( $p \leq 0,05$ ) e aumento no grupo CL+M em relação a CL, sendo  $p < 0,05$ . Os sinais representam as seguintes significâncias:

\*diferença significativa entre o grupo CO e CL+M

#diferença significativa entre o grupo CL e CL+M

### 4.3 Determinação do Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo foi avaliado pela técnica de TBARS. Constatou-se aumento significativo entre o grupo CL em relação aos controles. A administração de 20mg/kg de Mesalazina no grupo tratado diminuiu a LPO em relação ao grupo colite nos tempos de 24 e 48 horas, sendo  $p < 0,05$ .



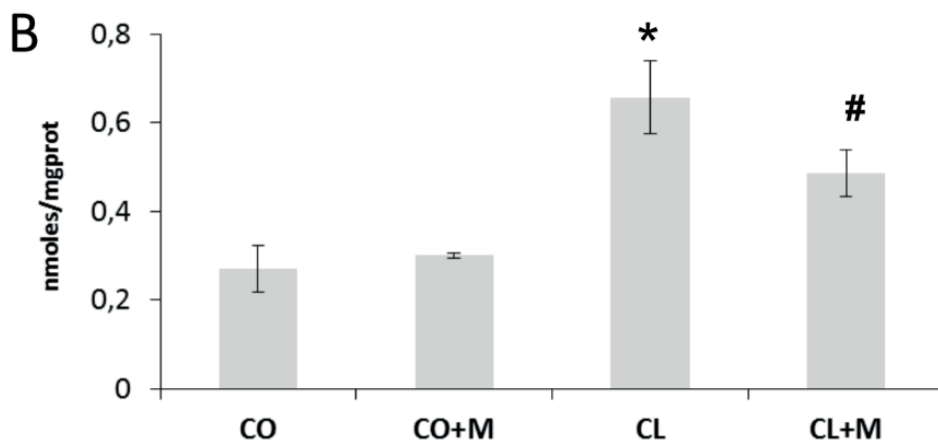


Figura 7: Valores médios das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no grupo 24 h (A) e no grupo 48 h (B).

Os resultados correspondem à média  $\pm$  erro padrão (EP) para cinco animais de cada grupo. Esses dados representam aumento com diferença significativa após indução de colite no grupo CL em relação ao grupo CO ( $p \leq 0,05$ ) e diminuição com diferença significativa no grupo CL/M em relação ao grupo CL ( $p \leq 0,05$ ). Os sinais representam as seguintes significâncias:

\*diferença significativa entre o grupo CO e CL+M

# diferença significativa entre o grupo CL e CL+M

#### 4.4 Atividade da enzima Superóxido Dismutase

A atividade da enzima superóxido dismutase foi definida por sua capacidade para inibir um sistema de detecção que reage com  $O_2^-$ . Os dados foram expressos em Unidades de SOD por miligrama de proteína (USOD/mg prot). Pudemos observar os valores referidos à atividade da enzima no homogeneizado dos tecidos dos diferentes grupos avaliados. Houve aumento na atividade enzimática nos animais do grupo CL, quando comparados ao grupo CO, e diminuição nos animais do grupo CL+M em relação

ao grupo CL.

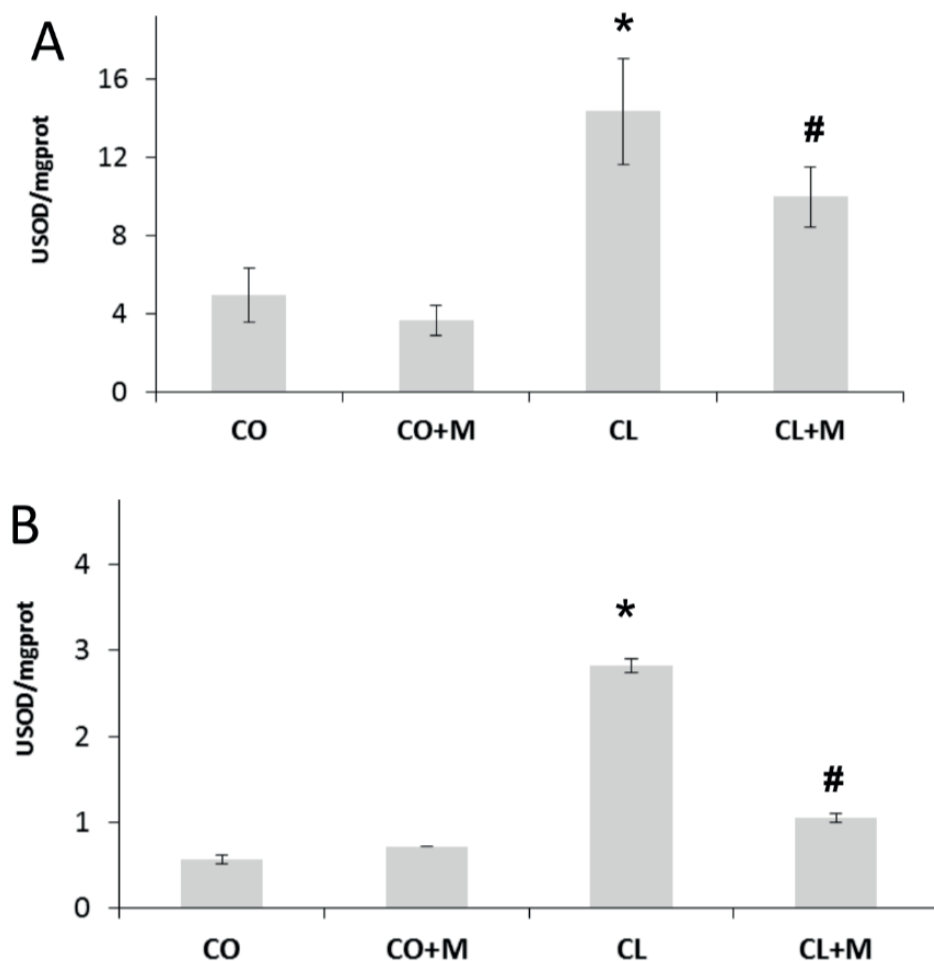


Figura 8: Valores médios da atividade da enzima SOD no grupo 24 h (A) e no grupo 48 h (B). Os resultados demonstram aumento da atividade enzimática no homogeneizado após a indução de colite no grupo CL em relação ao grupo CO e diminuição no grupo CL+M em relação ao grupo CL ( $p < 0,001$ ).

Os sinais representam as seguintes significâncias:

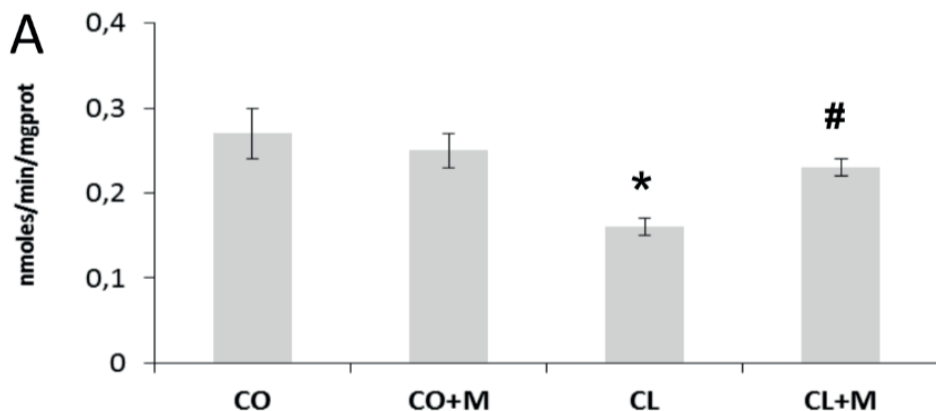
\* diferença significativa entre o grupo CO e CL+M

# diferença significativa entre o grupo CL e CL+M



#### 4.5 Atividade da Enzima GlutathionaPeroxidase

A atividade da enzima GlutathionaPeroxidase foi observada através dos valores referidos à atividade da enzima GPx no homogeneizado dos tecidos dos diferentes grupos avaliados. Houve diminuição significativa nos animais do grupo CL, quando comparados aos do grupo CO ( $p \leq 0,05$ ), e aumento nos grupos CL+M, quando comparados aos do grupo CL ( $p \leq 0,05$ ). A comparação da atividade da GPx entre os animais do grupo CO e do grupo CO+M não mostrou diferença significativa.



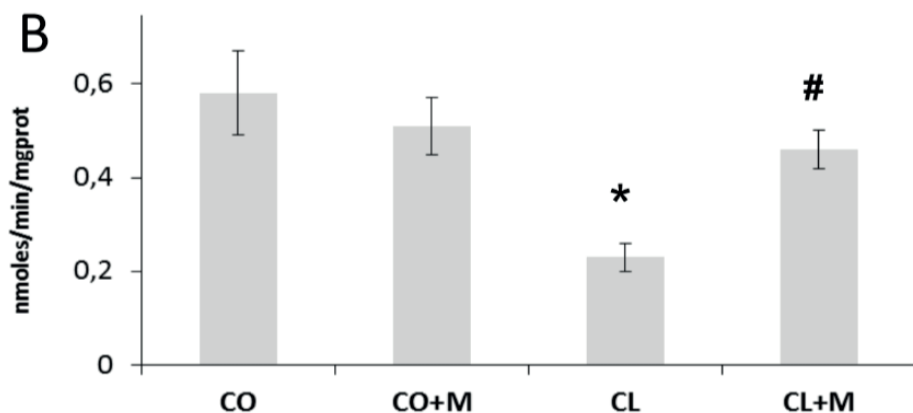


Figura 9: Valores médios da atividade da enzima GPx no grupo 24 h (A) e no grupo 48 h (B) Os resultados demonstram diminuição da atividade enzimática no homogeneizado após a indução de colite no grupo CL em relação ao grupo CO e aumento no grupo CL+M em relação ao grupo CL ( $p < 0,001$ ).

Os sinais representam as seguintes significâncias:

\*diferença significativa entre o grupo CO e CL+M

# diferença significativa entre o grupo CL e CL+M

#### 4.6 Metabólitos do Óxido Nítrico: Nitritos e Nitratos

Na figura 10 são observados os resultados nos homogeneizados do cólon distal na presença dos metabólitos indiretos do NO. Os animais do grupo CL apresentaram aumento estatisticamente significativo ao serem comparados ao grupo controle ( $p < 0,01$ ). Nos animais do grupo CL+M, houve diminuição quando comparados aos do grupo CL.

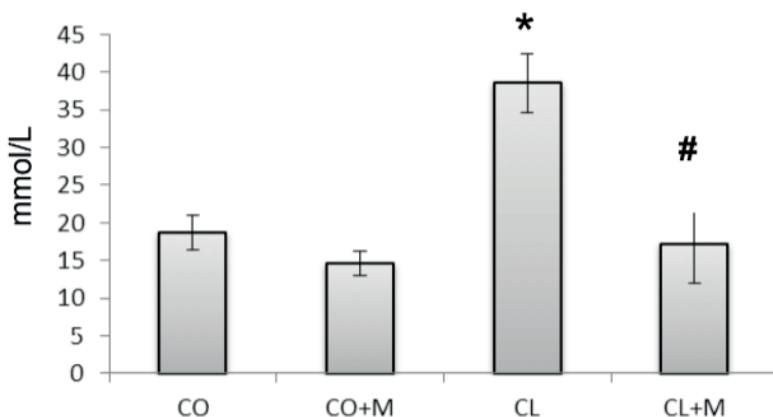
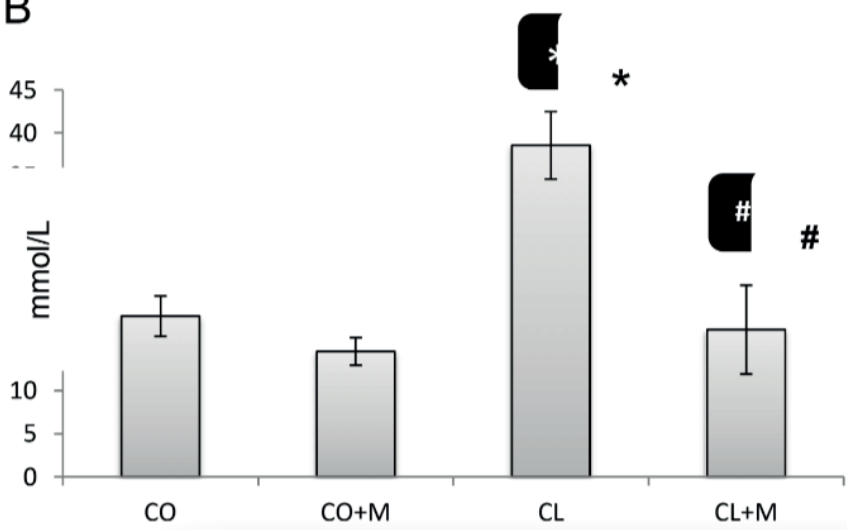
**A****B**

Figura 10: Valores médios dos níveis de nitritos e nitratos no grupo 24 h (A) e no grupo 48 h (B). Os resultados demonstram aumento de nitritos e nitratos no homogeneizado após a indução de colite no grupo CL em relação ao grupo CO e aumento no grupo CL+M em relação ao grupo CL ( $p < 0,001$ ). Os sinais representam as seguintes significâncias:

\*diferença significativa entre o grupo CO e CL+M

# diferença significativa entre o grupo CL e CL+M

## DISCUSSÃO

A incidência e a prevalência da DIII estão aumentando com o tempo e em diferentes regiões ao redor do mundo, segundo estudo da Associação Americana de Gastroenterologia realizada no ano de 2012. O interesse em investigar a etiopatogenia da RCUI no cenário científico pode estar relacionado ao desconhecimento dos mecanismos celulares e imunológicos que iniciam e perpetuam a sua etiopatogenia e, principalmente, por afetar indivíduos nos anos mais saudáveis e produtivos da vida, resultando custos em longo prazo para o paciente, para o sistema de cuidado de saúde e para a sociedade. Os modelos experimentais de colite auxiliam na investigação de diferentes aspectos relacionados ao processo inflamatório do cólon, na avaliação molecular e no uso de tratamentos eficazes. A colite induzida por enema de ácido acético possui similaridades com DIII em humanos, quanto aos aspectos histológicos e metabólicos relacionados ao ácido araquidônico, promovendo o desenvolvimento de edema da submucosa, infiltrado inflamatório, úlceras no cólon, destruição das criptas e depleção das células caliciformes nos pacientes (Hartmann *et al.*, 2012).

Apesar de aproximadamente cento e cinquenta anos terem se passado desde que Samuel Wilks descreveu a RCUI (Corman, 2005), uma terapia que possa ser considerada altamente satisfatória do ponto de vista de remissão da doença associada com baixa taxa de recidiva, e mínimos efeitos colaterais, ainda é objeto de inúmeros estudos. O uso de antioxidantes abre novas perspectivas

como alternativas no tratamento dessas patologias que promovem sintomas altamente debilitantes ao paciente, e produzem sentimentos de frustração aos profissionais da área da saúde que lidam com tais pacientes e muitas vezes não veem resultados satisfatórios ao tratamento empregado.

No presente estudo, foi avaliada a ação da mesalazina nas lesões teciduais e sobre marcadores de estresse oxidativo. Os resultados da análise histopatológica demonstraram efeito trófico da mesalazina no cólon, melhorando a estrutura colônica, diminuindo o tamanho e a intensidade da lesão. Nessa análise, houve uma lesão inicial, na qual, com o decorrer do estudo, comprovou-se a ação antioxidante da mesalazina, tendo em vista que possibilitou a regeneração da mucosa. Embora a parte apical da mucosa ainda apresente algumas lesões, a parte basal, no entanto, encontra-se íntegra. Juntamente com a ação trófica, comprovou-se a melhora na permeabilidade intestinal com a reconstrução colônica e a melhora na arquitetura da mucosa. Estudos anteriores demonstraram que a administração concomitante de butirato e mesalazina em modelo de colite experimental induzida por dextran sulfato de sódio (DSS) melhorou a lesão colônica e o perfil inflamatório da mucosa e do linfonodo cecal, com a normalização do infiltrado de neutrófilo, eosinófilo, linfócito B ativado e linfócito T auxiliar ativado destacando o uso potencial do butirato como adjuvante no tratamento da RCUI (Dianzani *et al.*, 2006; Gassull, 2006; Song, 2006; Hamer *et al.*, 2008; Vieira *et al.*, 2011). O efeito sinérgico

parece ser por controle gênico, via acetilação de histonas, aumentando transcrição da GPx que leva à diminuição da produção de hipoclorito ( $\text{HOCl}^-$ ) possivelmente por competição direta por substrato, resultando em menor dano tissular. Além disso, a modulação gênica garantiria maior acesso às enzimas de reparo ao DNA, diminuindo e evitando danos e erros no funcionamento e na estrutura celular (Yin *et al.*, 2001; Song, 2006; Sauer *et al.*, 2007; Kien *et al.*, 2008). Em ensaios experimentais, o 5-ASA foi administrado em combinação com a NAC em ratos colíticos induzidos por TNBS, e verificou-se que o tratamento combinado apresentou sinergismo frente aos agentes isolados, promovendo reparo na mucosa inflamada (Siddiqui *et al.*, 2006).

Trabalhos anteriores já demonstraram aumento da produção de NO na colite, quando comparado ao grupo controle. As medidas de pressão esfíncteriana através de manometria ano-retal variaram significativamente entre os dois grupos. O grupo de animais com colite apresentou níveis de pressão esfíncteriana significativamente inferiores ao grupo controle. Por outro lado, os animais tratados com mesalazina apresentaram aumento significativo da pressão, assemelhando-se ao grupo controle. Fillmann *et al.* (2007) e Kretzmann *et al.* (2008) observaram que a administração de glutamina bloqueou a superprodução dos metabólitos do NO nos animais com colite.

Entre os fatores relacionados com a RCUI estão a infiltração de neutrófilos devido a sua capacidade de liberar EAO, as citocinas pró-inflamatórias com o aumento

da LPO e acumulação de neutrófilos com níveis elevados de mieloperoxidase na mucosa (Sklyarov *et al.*, 2011). Por outro lado, o estresse oxidativo teve seus danos minimizados através das defesas antioxidantes de natureza endógena ou exógena. Assim, a mesalazina diminuiu a LPO nos animais tratados, assemelhando-se ao grupo controle possivelmente por sua ação antioxidante quando avaliada por TBARS nos grupos 24 e 48 horas após indução de colite com redução significativa após mesalazina. Estudos de Harris *et al.* (1992) demonstraram que as EAO desempenham papel importante na patogênese atribuída a LPO das membranas celulares. Biópsias realizadas em pacientes com RCUI apresentaram elevado índice de LPO em relação a indivíduos normais. Os estudos de Panès (1996) demonstraram aumento significativo do estresse oxidativo em animais submetidos à colite induzida por irradiação abdominal. Resultados semelhantes foram encontrados com a ação da *Boswellia serrata* (Hartmann *et al.*, 2014), glutamina (Kretzmann *et al.*, 2008) e N-acetilcisteína (NAC) (Cetinkaya *et al.*, 2005). Outros resultados semelhantes foram encontrados em estudos que utilizaram substâncias com ação antioxidante como probióticos, melatonina, extrato de marmelo em modelos experimentais de colite ulcerativa por AA (Sengüi *et al.*, 2010; Tahan *et al.*, 2010; Ghatule *et al.*, 2014).

O estresse oxidativo tem seus danos minimizados por sistemas de defesa antioxidante não enzimático, como vitaminas e /ou enzimático. No grupo colite, ocorreu aumento da SOD em resposta ao aumento da LPO devido

ao estresse oxidativo e à redução desses parâmetros nos dois grupos tratados com mesalazina. Por outro lado, a GPx teve atividade reduzida no grupo colite e aumento no grupo que recebeu o tratamento. Os resultados apontam que a mesalazina aumentou a atividade enzimática nos grupos tratados, confirmando sua ação sobre o estresse oxidativo. Sugere-se que a utilização da mesalazina neste modelo experimental fornece efeitos positivos no cólon, comprovando os resultados da histologia. Nossos resultados corroboram com o estudo de Maheshwari *et al.* (2015) que utilizou sinvastatina e rosuvastatina no tratamento da colite induzida por TNBS, observaram um aumento da atividade da GPx, possivelmente pelo efeito antioxidante dessas substâncias utilizadas como tratamento. Nossos resultados corroboram com o estudo de Arab *et al.* (2014) que avaliou a atividade das enzimas antioxidantes SOD e GPx no modelo de colite experimental induzida por TNBS. Após o tratamento com telmisartan, a atividade da SOD e da GPx mostraram um aumento significativo evidenciando os efeitos antioxidantes desses tratamentos.

A implicação do estresse oxidativo na patogênese da RCUI tem sido destacada por vários estudos clínicos e experimentais, onde a geração de RL e NO gerado estão relacionados às lesões intestinais (Halliwell & Gutteridge, 2007; Hartmann *et al.*, 2012; 2014). Em nosso trabalho, na avaliação dos níveis dos metabólitos do NO, pela técnica de nitratos e nitritos, foi observado aumento significativo de NO nos animais com colite comparados aos controles. Hartmann *et al.* (2014) demonstraram a existência de



infiltrado inflamatório na mucosa e submucosa do intestino de animais com colite induzida por ácido acético. Os dados supracitados sugerem que o estresse oxidativo tem papel essencial no aparecimento e na perpetuação da lesão onde a ação efetiva da mesalazina reduziu os níveis destes metabólitos do NO nos grupos 24 e 48 horas, fato observado também por Fillmann *et al.* (2007).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados demonstraram que:

- a mesalazina restabeleceu a histologia da porção distal do intestino dos animais tratados em comparação aos animais do grupo colite;
- a mesalazina aumentou a pressão anal esfinteriana dos animais tratados;
- a mesalazina diminuiu a lipoperoxidação dos animais tratados em comparação aos animais do grupo colite;
- a mesalazina diminuiu a atividade da SOD e aumentou a atividade da GPx nos animais submetidos ao tratamento após indução da colite;
- a mesalazina diminuiu os metabólitos do óxido nítrico nos animais tratados quando comparados aos animais do grupo colite.

Apesar da patogênese da colite ainda não ser totalmente esclarecida, os tratamentos disponíveis têm sido capazes de intervir, melhorando a qualidade de vida dos pacientes. Sugere-se que a mesalazina através de sua ação antioxidante possa ser benéfica no tratamento da colite.

## REFERÊNCIAS

Ahmad P, Sarwat M, Sharma S. Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants. *Journal of Plant Biology*. 2008; v. 51, n. 3, 167-73.

Alican I, Kubes P. A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction. *Am J Physiol*. 1996; 225-237.

Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu Rev Plant Biol*; 2004; v. 55, 373-99.

Arab HH, Al-Shorbagy MY, Abdallah DM, Nassar NN. Telmisartan attenuates colon inflammation, oxidative perturbations and apoptosis in a rat model of experimental inflammatory bowel disease. *PLoS One*. 2014; 9: e97193.

Baylis C, Vallance P. Measurement of nitrite and nitrate levels in plasma and urine – what does this measure tell us about the activity of endogenous nitric oxide system? *Circulation and hemodynamics*. 1998; 7(1): 59-62.

Benetton CA. *et al.* Colite ulcerativa e Antioxidantes. *Revista de Pesq e Extensão em Saúde*. 2007; v. 3: 1-6.

Blonski W, Buchner AM. Treatment of ulcerative colitis. *Curropin Gastroenterol*. 2014; 30(1):84-96

Blumberg R, Cho J, Lewis J, *et al.* Inflammatory Bowel Disease: An Update on the Fundamental Biology and Clinical Management. *Gastroenterol*. 2011; 140:1701–3.

Bona S, Filippin LI, Di Naso FC, *et al.* Effect of Antioxidant Treatment on Fibrogenesis in Rats with Carbon Tetrachloride-Induced Cirrhosis. *ISRN Gastroenterology*. 2012; 2012: 1-7.

Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*. 1973; 707-16.

Boveris A. Biochemistry of free radicals: from electrons to tissues. *Medicina*. 1998; 350-6.

Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 1978; 302-309.

Cai QX., Zhu KJ, Chen, *et al.* Synthesis, characterization and in vitro release of aminosalicic acid and 5-acetyl aminosalicic acid polyanhydride – P (CBFAS). *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2003; 55: 203-8.

Campregher C, Gasche C. Aminosalicylates. *Best Pract Res ClinGastroenterol*. 2011; 25: 535–46.

Camuesco D, Comalada M, Rodríguez-Cabezas ME, Nieto A, Lorente MD. The intestinal anti-inflammatory effect of quercitrin is associated with an inhibition in iNOS expression. *Br J Pharmacol*. 2004; 143: 908-18.

Cardozo W S, Walter C. Doença inflamatória intestinal. 2ª ed. São Paulo: Saraiva. 2015.

Carocho M, Ferreira, ICFR. "A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives". Food and Chemical Toxicology. 2013; 51,5.

Carrier JC, Aghdassi E, Jeebhoy K, Allard JP. Exacerbation of dextran sulfate sodium induced colitis by dietary iron supplementarion: role of NF-KB. Int j colorectalDis. 2006; 318-7.

CetinkayaA, Bulbuloglu E, Kurutas EB, Ciralik H, Kantarceken B, Buyukbese MA. Beneficial effects of n-acetylcysteine on acetic acid-induced colitis in rats. Tohoku J Exp Med; 2005; 206:131-9.

Chuong MC, Christensen J M, Ayres J W. New dissolution method for mesalamine tablets and capsules. Dissol. Technol.2008; 15(3): 7-14.

Carocho M, Ferreira FR. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. Food and Chemical Toxicology. 2013; v. 51: 15-23.

Corman ML. Colon and rectal surgery. 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2005

Cosnes JC, Gower-Rousseau P, Cortot A. Epidemiology and Natural History of Inflammatory Bowel Diseases. Gastroenterology. 2011; 140: 1785-94.

Cotran RS. Patologia - Bases Patológicas das Doenças. 7ª ed. Rio de Janeiro. Elsevier; 2005.

Cotran R S. Fundamentos de Patologia. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2012.

Cury DB, Moss AC. Doenças inflamatórias intestinais: retocolite ulcerativa e doença de crohn. 2ª ed. São Paulo: Saraiva; 2015.

Dallegri C, Ottonelo L, Ballestrello A. Cytoprotection against neutrophil derived hypochlorous acid: a potential mechanism for the therapeutic action of 5-aminosalicylic acid in ulcerative colitis. Gut. 1990; 3:184-6.

Damião AO, Vasconcelos ML. Doença Inflamatória Intestinal. Nutrição em Pauta. 2004; 9(51): 25-28.

Damião AOMC, Sipahi AM. Doença Inflamatória Intestinal. In: Gastroenterologia. 2004; Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda; 1105-49.

Del Maestro, RF. An Approach to free radicals in Medicine and Biology. Acta Physiol. 1980; 153-168.

Dewulf NS, Monteiro RA, Passos DC, *et al.* Adesão ao tratamento medicamentoso de pacientes com doenças inflamatórias intestinais acompanhados no ambulatório de um hospital universitário. ArqGastroenterol. Ribeirão Preto, v. 44, n. 4, p.289-296, 2007.

Dias AS, Porawski M, Alonso M, *et al.* Quercetin Decreases Oxidative Stress, NF- $\kappa$ B Activation, and iNOS Overexpression in Liver of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J Nutr.* 2005; 135 (10): 2299-304.

Dianzani C, Cavalli R, Zara GP, Gallicchio M, Lombardi G, Gasco MR, Panzanelli P & Fantozzi R. Cholesteryl butyrate solid lipid nanoparticles inhibit adhesion of human neutrophils to endothelial cells. *Br J Pharmacol.* 2006; 148: 648-56.

DiNaso FC, Forgiarini LAJ, Forgiarini LF, *et al.* Aminoguanidina reduz o estresse oxidativo e as alterações estruturais pulmonares em diabetes mellitus experimental. *J. Bras. pneumol.* 2010; 36(4); 485-489.

Di Naso FC, Porawski A, *et al.* Exogenous Superoxide Dismutase: Action on Liver Oxidative Stress in Animals with Streptozotocin-Induced Diabetes. *Experimental Diabetes Research.* 2011; 1-6.

Dias AS, Porawski M, Alonso M, Marroni N, Collado PS, González-Gallego J. Quercetin decreases oxidative stress, NF- $\kappa$ B activation, and iNOS overexpression in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Nutr.* 2005;135(10):2299-304.

Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002; 47-95.

Egan LJ, Mays DC, Huntoon CJ, *et al.* Inhibition of interleukin-1-stimulated NF- $\kappa$ B RelA/p65 phosphorylation by mesalamine is accompanied by decreased transcriptional activity. *J Biol Chem.* 1999; 448-53.

Ferreira AL, Matsubara, L S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. 1997; Rev. Ass. Med. Brasil. 1999; 61-68.

Fillmann HS, Kretzmann N, Llesuy S, Fillmann LS, Marroni NP. O Papel do Óxido Nítrico na Pressão Anal Esfincteriana de Ratos Submetidos à Colite Experimental. RevBrasColoproct. 2006; 437-442.

Fillmann H, Kretzmann NA, San-Miguel B, Llesuy S, Marroni N, González-Gallego J, Tuñón MJ. Glutamine inhibits over-expression of pro-inflammatory genes and down-regulates the nuclear factor kappaB pathway in an experimental model of colitis in the rat. Toxicology. 2007; 236:217-26.

Fleming I, Busse R. NO: The primary EDRF. J Mol Cell Cardiol. 1999; 5-14.

Flohé L, Gunzler WA. Assays of glutathione peroxidase. Methods Enzymol. 1984; 114-21.

Forstermann U, Kleinert H. Nitric oxide synthase: expression and expressional control of the three isoforms. Department of Pharmacology, Johannes. Gutenberg University, Mainz, Germany. NaunynSchmiedebergs Arch Pharmacol. 1995; 351-64.

Forstermann U, Sessa WE. Nitric oxide synthases: regulation and function. Eur Heart Journal. 2012; 33: 829-37.

Freire AC, Podczeck F, Sousa J, *et al.* Liberação específica de fármacos no cólon por via oral. II - Tipos de sistemas utilizados. Rev. Bras. Ciênc. Farm. São Paulo. 2006; 42: 337-55.



Furchgott F, Zawadzki V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 373-6.

Gassull MA. Review article: the intestinal lumen as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2006; 24: 90-95.

Ghatule RR, Gautam MK, Goel S, Singh A, Joshi VK, Goel RK. Protective effects of Aeglemarmelos fruit pulp on 2,4,6trinitrobenzene sulfonic acid-induced experimental colitis. *Pharmacogn mag*. 2014;10(1):S147-52.

Gennaro AR. *A ciência e a prática da farmácia*. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2004.

Granger DL, Anstey NM, Miller WC, Weinberg JB. Measuring nitric oxide production in human clinical studies. *Methods Enzymol*, 1999; 301:49-61.

Green K, Brand MD.; Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes*. 2004; 53:110-8.

Guyton AC, Hall JE. *Tratado de Fisiologia Médica*. 12<sup>a</sup>ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011.

Halliwell B, Gutteridge J. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4<sup>a</sup> ed. New York: Oxford University Press Inc. 2007.

Ham M, Moss AC. Mesalamine in the treatment and maintenance of remission of ulcerative colitis. *Expert Rev ClinPharmacol*. 2012; 113-23.

Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ & Brummer RJ. Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharmacol Ther.* 2008; 27: 104-19.

Hanauer, S.B. Review article: aminosalicylates in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004; 20(4):60-5,.

Harris, ED. Regulation of antioxidant enzymes. *Faseb J.* 1992 ; 2675-83.

Hartmann RM, Fillmann HS, Martins ML, *et al.* *Boswellia serrata* has beneficial anti-inflammatory and antioxidant properties in a model of experimental colitis. *Phytotherapy Research.* 2014; 28: 1392-8.

Hartmann RM, Morgan Martins MI, Tieppo J, Fillmann HS, Marroni NP. Effect of *Boswelliaserrata* on Antioxidant Status in an Experimental Model of Colitis Rats Induced by Acetic Acid. *Dig Dis Sci.* 2012; 2038-44.

Hayashi Y, Aoyagi K, Morita I, Yamamoto C, Sakisaka S. Oral administration of mesalazine protect against mucosa injury and permeation in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *Scand J Gastroenterol.* 2009; 1323-31.

Hürdağ C, Uyaner I, Gürel E, Utkusavas A, Atukeren P, Demirci C. The effect of alpha-lipoic acid on NOS dispersion in the lung of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Diabetes Complications.* 2008; 22(1):56-61.

Ignarro LJ. Endothelium-derived nitric oxide: actions and properties. *Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J.* 1989; 31-6.

Ignarro LJ. Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Ann Rev PharmacolToxicol*, 1990; 30:535-60.

Ikeda I, *et al.* 5-Aminosalicylic Acid Given in the Remission Stage of Colitis Suppresses Colitis - Associated Câncer in a Mouse Colitis Model. *Clinical Cancer Research*. 2007; 13(21): 6527-31.

Jones DP. Disruption of mitochondrial redox circuitry in oxidative stress. *Chemico-biological Interactions*. 2006; 163: 38-53.

Kandice, L.K. Inflammatory bowel disease. *Clinical Cornestone*. 2002; 4: 49-60.

Katzung BG. *Farmacologia Basica& Clinica*. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

Kenji T, Yoshitaka A, Toshiharu A, Takatoshi M, Toshitaka N. Comparative Absorption of 5-aminosalicylic acid (5-ASA) after administration of a 5-ASA enema and salazosulfapyridine (SASP) after an SASP suppository in Japanese volunteers. *Biol Pharm Bull*. 2012; 25(2):264-7

Kien CL, Peltier CP, Mandal, *et al.* Effects of the in vivo supply of butyrate on histone acetylation of cecum in piglets. *J PEN J Parenter Enteral Nutr*. 2008; 32: 51- 6.

Kolios G, Valatas V, Ward SG. Nitric oxide in inflammatory bowel disease: a universal messenger in an unsolved puzzle. *Immunol*. 2004;113(4):427-37.

Kretzmann NA, Fillmann H, Mauriz JL, Marroni CA, Marroni N, González-Gallego J, Tuñón MJ. Effects of glutamine on proinflammatory gene expression and activation of nuclear factor kappa B and signal transducers and activators of transcription in TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis.* **2008;14(11):1504-13**

Lambeth, JD.;Neish, AS. "Regulation of Nox and Duox enzymatic activity and expression". *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease.*2014; 9:119.

Licks F, Marques C, Zettler C G, *et al.* Antioxidant effect of N-acetylcysteine on prehepatic portal hypertensive gastropathy in rats. *Annals of hepatology.* 2014; 13: 370-7.

Lipinski B. Hydroxyl Radical and its Scavengers in health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2011; 11:1-9

Maheshwari RA, Balaraman R, Sailor GU, Sem DB. Protective effect of simvastatin and rosuvastatin on trinitrobenzenesulfinic acid-induced colitis in rats. *Indian J Pharmacol.* 2015;47(1):17-21.

Marques C, Licks F, Zationi I, *et al.* Antioxidant properties of glutamine and its role in VEGF-Akt pathways in portal hypertension gastropathy. *World Journal of Gastroenterology.* 2013; 19: 4464.

Mayer L. Evolving paradigms in the pathogenesis of IBD. *J Gastroenterol.* 2010; 45: 9-16.

Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972; 247(10):3170-5.

Moncada, S.; Higgs, E. A. "The discovery of nitric oxide and its role in vascular biology." *British Journal of Pharmacology.* 2006;147-93.

Moreira AJ, Fraga C, Alonso M, Collado PS, Zettler C, Marroni C, *et al.* Quercetin prevents oxidative stress and NF-kappa B activation in gastric mucosa of portal hypertensive rats. *BiochemPharmacol*, 2004; 15;68(10):1939-46.

Murano M, Maemura K, Hirata I, Katsuk. Therapeutic effect of intracolonic administered nuclear factor kappa B (p65) antisense oligonucleotide on mouse dextran sulphate sodium (DSS) - induced colitis. *ClinExpImmunol*, 2000; 120(1):51-8.

Naito Y, Takagi T, Yoshikawa T. Molecular fingerprints of neutrophil dependent oxidative stress in inflammatory bowel disease. *Journal of Gastroenterology.* 2007; 42: 787-98.

Orrenius S, Gogvadze V, Zhivotovsky B. Mitochondrial oxidative stress: implications for cell death. *Annu Rev PharmacolToxicol.* 2007; 47: 143-83.

O'Donnell, V.B.; Freeman, BA. Interactions between nitric oxide and lipid oxidation pathways. 2001; 88(1):12-21.

Palmer J, Ferrige G, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature.* 1987;327(6122):524-6.

Panès J & Granger DN. Leucocyte-endotelial cell interactions: molecular mechanisms and implications in gastrointestinal disease. *Gastroenterology*. 1999;14(5):1066-90.

Peres W, Tunon MJ, Collado PS, Herrmann S, Marroni N, Gonzalez-Gallego J. The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction. *J Hepatol*. 2000; 33(5):742-50.

Pearson DC.;Jourd'Heuil D, Meddings J B. The antioxidant properties of 5-aminosalicylic acid. *Free Radical Biology and Medicine*. 1996; 21(3): 367-73.

Peixoto EB, Pessoa BS, Biswas SK, Lopes de Faria JB. Antioxidant SOD mimetic prevents NADPH oxidase induced oxidative stress and renal damage in the early stage of experimental diabetes and hypertension. *Am J Nephrol*. 2009; 29(4):309-18.

Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *The New England Journal of Medicine*. 2002; 347: 417-29.

Podolsky DK, Xavier RJ. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2007; 448: 427-34.

Pravda J. Radical Induction Theory of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2005; 11(16):2371-84.

Rahal A. "Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay". *BioMed Research International*. 2014; 2014:761264.

Read NW, Sun WM. Anorectal manometry. In *Coloproctol*. Swash M. 1992; 119-45.

Reid G, Carey FA. Pathology of idiopathic inflammatory bowel disease. *Surgery*. 2011; 29: 362-5.

Ren J, Pulakat L, Whaley-Connell A, Sowers J R. Mitochondrial biogenesis in the metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Journal of Molecular Medicine (Berlin)*. 2010; 88(10): 993-1001.

Rezaie, A. Oxidative Stress and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease: An Epiphenomenon or the Cause? *Digestive Diseases and Sciences*. 2007; 52: 2015-21.

Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*. 2009; 84:705-12.

Ristow, M.; Schmeisser, S. "Extending life span by increasing oxidative stress". *Free Radical Biology & Medicine*. 2011; 51: 327.

Rossignol DA. Hyperbaric oxygen treatment for inflammatory bowel disease: a systemic review and analysis. *Med Gas Res*. 2012; 2(1): 6.

Rousseaux C, Lefebvre B, Dubuquoy L, *et al*. Intestinal anti-inflammatory effect of 5-aminosalicylic acid is dependent on peroxisome proliferator-activated receptor- gamma. 2005; 201(8):1205-15.

Rudich A, Kanety, H, Bashan N. Adipose stress-sensing kinases: linking obesity to malfunction. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2008; 18:291-9.

Santos CX, Tanaka LY, Wosniak J, *et al.* Mechanisms and implications of reactive oxygen species generation during the unfolded protein response: roles of endoplasmic reticulum oxidoreductases, mitochondrial electron transport, and NADPH oxidase. *Antioxid Redox Signal.* 2009; 11: 2409-42.

Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology.* 2006; 3: 390-407.

Sauer J, Richter KK, Pool-Zobel BL. Physiological concentrations of butyrate favorably modulate genes of oxidative and metabolic stress in primary human colon cells. *J NutrBiochem.* 2007; 18: 736-45.

Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell.* 1986; 46(5):705-16.

Sengül N, Isik S, Aslim B, Uçar G, Demirbag AE. The effect of exopolysaccharide producing probiotic strain on gut oxidative damage in experimental colitis. *DigDisSci.* 2011; 56(3):707-14.

Siddiqui A, Ancha H, Tedesco D R F, *et al.* Antioxidant therapy with N-Acetylcysteine plus mesalamine accelerates mucosal healing in a rodent model of colitis. *Dig. Dis. Sci.* 2006; 51: 698-705.

Sies H. Strategies of antioxidant defence. *Eur J. Biochem.* 1993; 215(2):213-9.

Sies H. Oxidative Stress: From basic research to clinical application. *Am, J. Med.* 1991; 91(3C):31S-38S.



Sklyarov AY, Panasyuk NB, Fomenko IS. Role of nitric oxide-synthase and cyclooxygenase/lipooxygenase systems in development of experimental ulcerative colitis. *J. PhysiolPharmacol.* 2011; 62(1):65-73.

Sohal, R. S.; Orr, W. C. "The redox stress hypothesis of aging". *Free Radical Biology & Medicine.* 2012; 52:539.

Song M, Xia B, Li J. Effects of topical treatment of sodium butyrate and 5-aminosalicylic acid on expression of trefoil factor 3, interleukin 1beta, and nuclear factor kappaB in trinitrobenzenesulphonic acid induced colitis in rats. *PostgraduatMed J.* 2006;82(964):130-5.

Souza MM, Barbosa DA, Barbosa M, Espinosa A. "Qualidade de vida de pacientes portadores de doença inflamatória intestinal." *Acta Paul Enferm.* 2011; 24: 479-84.

Steinbrenner H, Sies H. Protection against reactive oxygen by species selenoproteins. *Biochimicaet BiophysicaActa.* 2009; 1790:1478-85.

StensonWF. Tratado de Medicina Interna: Doença intestinal inflamatória. In: Bennet A, Goldman L. 21ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan; 2001.

Tahan G, Gramignoli R, Marongiu F, Aktolga S, Cetinkaya A, Tahan V, Dorko K. Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats. *Dig Dis Sci.* 2011;56 (3): 715-20.

TannahillA. Health promotion and public health: a model in action. *Community Med.* 1988: 10(1):48-51.

Vassalo EC. Influência da administração da *Plantago ovata* (fibra dietética) na proteção da parede colônica em colite inflamatória induzida por ácido acético: estudo estereológico experimental em ratos. *Rev. Col. Bras.* 2011; 34(6):385-91.

Velayos FS, Terdiman JP, Walsh JM. Effect of 5-aminosalicylate use on colorectal cancer and dysplasia risk: a systematic review and metaanalysis of observational studies. *Am J Gastroenterol.* 2005; 100(6):1345-53.

Veloso, F.T. Review article: skin complications associated with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther. Suppl.* 2004; 20(4):50-3.

Victoria LY, Sasaki H, Nunes R. Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in Midwestern of São Paulo State, Brazil. *Arq Gastroenterol.* 2009; 46: 20-5.

Vieira EL, Leonel AJ, Sad AP, Beltrao NR, Costa TF, Ferreira TM, Gomes-Santos AC, Faria AM, Peluzio MC, Cara DC & Alvarez-Leite JI. Oral administration of sodium butyrate attenuates inflammation and mucosal lesion in experimental acute ulcerative colitis. *J Nutr Biochem.* 2012; 23(5):430-6.

Zaltman, C. Doença inflamatória intestinal: qual a relevância da doença no Brasil? *Cadernos de Saúde Pública.* 2007.

Wang Y, Marsden PA. Nitric oxide synthases: gene structure and regulation. *Adv Pharmacol.* 1995;34:71-90.

Wendel A. Glutathione peroxidase. *Meth. Enzymol.* 1981; 77:325-33.

Yamada Y, Marshall S, Specian RD, Grisham MB. A comparative analysis of two models of colitis in rats. *Gastroenterol.* 1992;102(5):1524-34.

Yepes, J. N.; *et al.* "Antioxidant against cell death". *Pharmacology & Therapeutics.* 2014;142-206.

Yin L, Laevsky G &Giardina C (2001) Butyrate suppression of colonocyte NF-kappa B activation and cellular proteasome activity. *J Biol Chem.* 2001; 276: 44641-6.

# CARTA DE APROVAÇÃO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



## Comissão de Ética no Uso de Animais

### CERTIFICADO

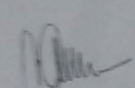
Certificamos que o projeto intitulado "A ação da mesalazina na colite experimental induzida por ácido acético", protocolo nº 2015-22P, sob a responsabilidade de Norma Anair Possa Maroni – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Luterana do Brasil, em reunião de.

O(a) responsável fica ciente que nenhuma alteração poderá ser feita na condução do projeto, sem a prévia autorização por escrito desta Comissão.

Ao término das atividades, ou quando esta Comissão julgar necessário, o responsável deverá apresentar relatório.

Vigência do Projeto: 09/06/2015 a 31/12/2016						
Espécie animal	Linhagem	Idade	Peso aproximado	Quantidade		
				M	F	M+F
Rato heterogênico	Wistar	90 dias	250g	40	**	40
Origem: Biotério Central*****						

Canoas, 09 de junho de 2015.

  
**Prof. Dr. Paulo Tadeu Campos Lopes**  
 Coordenador  
 Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)  
 Rua nº 122/14 - 27060-014 - ULBRA

## ROSA MARIA BRAGA LOPES DE MOURA

Professora e pesquisadora em Genética e Neurociências Comportamental com ênfase em neurônios-espelho, funções executivas, memória, aprendizagem, linguagem, neuroanatomia funcional, neurodegeneração bem como fisiopatologia e perspectiva antioxidante no tratamento da doença de Alzheimer.

A autora tem Pós Doutorado em Educação com doutorado em Educação e doutorado em Ciências da Saúde pela Universidade Martin Lutero (UML) Flórida-EUA e mestrado em Genética e Toxicologia Aplicada a Saúde pela Universidade Luterana do Brasil (ULBRA).

Publicou trinta e um artigos em revistas nacionais e internacionais bem como seis livros com as temáticas “Neurociências desvendando as bases neurais da empatia: conexão do leitor nas obras literárias (2023); “Diálogo Profícuo entre Neurociências e Educação na Formação Docente: Impacto das Emoções na Subjetividade Humana (2023); “Estresse Oxidativo na Gênese das Doenças Cardiovasculares e suas Implicações: O processo de Envelhecimento” (2023); Competências Socioemocionais no Contexto Pandêmico: Desafios e Possibilidades na Formação Docente sob o Viés das Neurociências” (2022); “Neurociências e Educação: Um Diálogo Promissor” (2022); Tratamentos da Doença de Alzheimer: Perspectivas e Suas Implicações Bioéticas” (2021).

AVALIAÇÃO DA MESALAZINA NO MODELO  
EXPERIMENTAL DE RETOCOLITE

# ULCERATIVA INESPECÍFICA

SOB PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO



[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)



[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)



[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)



[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

 **Atena**  
Editora

Ano 2023

AVALIAÇÃO DA MESALAZINA NO MODELO  
EXPERIMENTAL DE RETOCOLITE

# ULCERATIVA INESPECÍFICA

SOB PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO

 [www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

 [contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br)

 @atenaeditora

 [www.facebook.com/atenaeditora.com.br](http://www.facebook.com/atenaeditora.com.br)

 Atena  
Editora

Ano 2023