



**Universidade do Algarve**

Faculdade de Ciências e Tecnologia

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e  
preventiva das doenças inflamatórias intestinais:  
Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

**Ana Catarina Prates Felismino**

Trabalho efetuado sob a orientação do Prof. Doutor João Varela

**Faro, Setembro de 2016**



**Universidade do Algarve**

Faculdade de Ciências e Tecnologia

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e  
preventiva das doenças inflamatórias intestinais:  
Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

**Ana Catarina Prates Felismino**

Trabalho efetuado sob a orientação do Prof. Doutor João Varela

**Faro, Setembro de 2016**

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais:  
Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

**Declaração de autoria de trabalho**

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

---

(Ana Catarina Prates Felismino)

**Copyright © 2016** Ana Catarina Prates Felismino

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor João Varela, inicialmente, por ter aceite o meu pedido e pela excelente orientação prestada durante a realização desta monografia. Obrigada por todas as palavras de incentivo e pela força dada ao longo destes últimos meses, para conseguir obter um bom trabalho.

Ao meu pai, por todo o apoio dado, por todas as palavras de incentivo, pela paciência, por ser o meu ouvinte e confidente desde sempre, mesmo passando muito tempo longe, está sempre comigo.

À minha mãe, que apesar de sermos muito diferentes, somos muito iguais, obrigada por toda a paciência, dedicação e apoio prestado ao longo de toda a minha vida. Obrigada por me apoiarem sempre em tudo, por nunca me colocarem barreiras em nada e por me ajudarem sempre a “fazer o que é melhor para mim”!

Aos meus avós, pela preocupação e pelo conforto, em especial à minha avó Veríssima por ser uma avó exemplar, pela ajuda ao longo destes anos de universidade e pelas palavras de afeto.

Aos meus amigos, os de sempre e os para sempre, muitos deles que levo destes 5 anos durante a minha estadia na Universidade do Algarve, agradeço por toda a paciência, todas as aventuras, todos os momentos passados juntos, vocês são os melhores do mundo. Em especial à minha amiga Beatriz Sousa, a minha companheira de curso até ao último dia – sem ti, não teria sido tão fácil, certamente.

*Inspiration is hard to come by. You have to take it where you find it.*

Bob Dylan

## **Resumo**

As doenças inflamatórias intestinais (DII) compreendem duas patologias: a colite ulcerosa (CU) e a doença de Crohn (DC), sendo ambas caracterizadas pela ativação do sistema imunitário, atuando ao nível do sistema gastrointestinal.

A colite ulcerosa é caracterizada por inflamações descontroladas no cólon e no reto, enquanto que a doença de Crohn, apesar de se centrar igualmente numa inflamação descontrolada, ela pode ocorrer em qualquer parte do aparelho digestivo, começando pela cavidade oral, esófago, estômago, duodeno e intestino, prolongando-se até ao reto. Dependendo da localização e extensão da doença, os sinais e sintomas mais frequentes incluem, entre outros, dores abdominais, cólicas, diarreia, hemorragia retal, fadiga, febre e distensão abdominal.

As causas das DII são ainda desconhecidas, apesar de se considerar uma interação entre fatores genéticos, imunológicos e ambientais.

Em termos epidemiológicos, tem-se vindo a verificar um aumento da incidência em Portugal, fazendo com que estas doenças sejam alvo de estudo, permitindo o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas, em qualquer estágio.

Corticosteroides, aminosalicilatos e derivados, imunossuppressores e agentes biológicos, antibióticos entre outros, constituem a terapêutica clássica / convencional para o controlo das DII.

Recentemente a aplicação da fitoterapia, que consiste no estudo de plantas que contêm compostos com propriedades com aplicação biomédica, tem vindo a ser utilizada não só como uma alternativa à terapêutica clássica, mas também como uma terapia complementar com foco na bioatividade de compostos presentes em algumas espécies medicinais.

Esta monografia surge com o objetivo de demonstrar a importância e a eficácia desta componente fitoterapêutica, considerando a sua função complementar relativamente ao tratamento convencional farmacológico utilizado nos diferentes estádios das DII.

**Palavras-chave:** doença inflamatória intestinal, colite ulcerosa, doença de Crohn, inflamação, sistema imunitário, fitoterapia.

## **Abstract**

The inflammatory bowel diseases are a group of two pathologies: the ulcerative colitis and Crohn's disease, both being characterized by activation of the immune system, acting in the gastrointestinal system.

Ulcerative colitis is characterized by uncontrolled inflammation of the colon and rectum, while Crohn's disease, although being also an uncontrolled inflammation, can occur in any part of the digestive tract, beginning at the oral cavity, esophagus, stomach, duodenum and intestines, extending to the rectum.

Depending on the location and extent of the disease, the most frequent signs and symptoms include, among others, abdominal pain, cramping, diarrhea, rectal bleeding, fatigue, fever and abdominal distension.

The causes of inflammatory bowel diseases are not yet known, although it is considered to be an overlap between genetic, immunological and environmental factors. In regard to epidemiology, an increase of incidence has been observed in Portugal, causing these diseases to be the target of study, allowing development of new therapeutic approaches, at any stage.

Corticosteroids, aminosalicylates and derivatives, immunosuppressive and biological agents, antibiotics, among others, constitute the classical/conventional therapy for the control of inflammatory bowel diseases.

Recently the application of herbal medicine, which is the study of therapeutical applications with plants containing compounds with biomedical properties, has been used not only as an alternative to the classic treatment, but also as a complementary therapy focusing on the bioactivity of compounds present in medicinal species.

This review comes with the goal to demonstrate the importance and effectiveness of the phytotherapeutic component, considering its complementary function relative to conventional drug treatment used at different stages of the inflammatory bowel diseases.

**Key words:** inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, Crohn's disease, inflammation, immune system, phytotherapy.

## **Índice**

<b>Agradecimentos .....</b>	<b>ii</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>iii</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>iv</b>
<b>Índice .....</b>	<b>v</b>
<b>Índice de Figuras .....</b>	<b>viii</b>
<b>Índice de Quadros.....</b>	<b>ix</b>
<b>Lista de Siglas .....</b>	<b>x</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1    Objetivos.....	3
1.2    Metodologia.....	3
<b>2. Doenças inflamatórias intestinais.....</b>	<b>4</b>
2.1    Fisiopatologia das DII.....	4
2.2    O stress oxidativo nas DII.....	6
2.4    Fatores de risco associados às DII .....	8
2.5    Epidemiologia das DII .....	12
<b>3. Colite Ulcerosa .....</b>	<b>16</b>
3.1    Sinais e sintomas da Colite Ulcerosa.....	16
3.2    Diagnóstico da Colite Ulcerosa .....	16
3.3    Estádios da colite ulcerosa.....	17
<b>4. Doença de Crohn .....</b>	<b>20</b>
4.1    Sinais e Sintomas da Doença de Crohn .....	20
4.2    Diagnóstico da Doença de Crohn .....	21
4.3    Estádios da doença de Crohn .....	22
<b>5. A importância da microbiota intestinal.....</b>	<b>25</b>
<b>6. Tratamento Farmacológico das Doenças Inflamatórias Intestinais .....</b>	<b>26</b>
6.1. Tratamento farmacológico da colite ulcerosa.....	26
6.1.1. Aminossalicilatos .....	27

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

6.1.2. Corticosteroides.....	28
6.1.3. Antibióticos .....	29
6.1.4. Probióticos.....	29
6.1.5. Imunossuppressores .....	30
6.1.5. Anticorpos Monoclonais .....	31
6.1.6. Cirurgia.....	32
6.2. Tratamento farmacológico da Doença de Crohn .....	33
6.2.1. Aminossalicilatos .....	33
6.2.2. Corticosteroides.....	33
6.2.3. Antibióticos .....	34
6.2.4. Probióticos.....	35
6.2.5. Imunossuppressores .....	35
6.2.6. Agentes biológicos .....	36
6.2.7. Cirurgia.....	37
6.2.8. Algoritmo Terapêutico para a DC.....	37
<b>7. A Fitoterapia na atualidade.....</b>	<b>39</b>
<b>8. Classificação química dos compostos naturais utilizados nas DII.....</b>	<b>45</b>
8.1 Alcaloides .....	45
8.2 Terpenos.....	46
8.3 Flavonoides e Taninos .....	48
8.4 Estilbenos.....	51
8.6 Cumarinas .....	52
8.7 Ácidos Gordos .....	53
<b>9. Produtos à base de plantas utilizados na terapia das DII.....</b>	<b>54</b>
9.1 <i>Aconitum laciniatum</i> .....	54
9.2 <i>Agave americana L.</i> .....	55
9.3 <i>Ananas comosus</i> .....	57
9.4 <i>Andrographis paniculata</i> .....	58
9.5 <i>Artemisia absinthium</i> .....	59
9.6 <i>Cannabis sativa</i> .....	60
9.7 <i>Curcuma longa</i> .....	61
9.8 <i>Echinacea spp.</i> .....	62
9.9 <i>Gymnema sylvestre</i> .....	62

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

9.10 <i>Hypericum perforatum</i> .....	64
9.11 <i>Phlomis lychnitis</i> / <i>P. purpurea</i> .....	65
9.12 <i>Sumo de bergamota</i> .....	65
9.13 <i>Thespesia populnea</i> .....	66
9.14 <i>Vitis vinífera L.</i> .....	66
<b>10. O papel da dieta .....</b>	<b>67</b>
<b>11. Conclusões finais.....</b>	<b>69</b>
<b>12. Referências Bibliográficas .....</b>	<b>71</b>

## **Índice de Figuras**

<b>Figura 2.2.1.</b> Interação entre diversos fatores causadores de DII .....	9
<b>Figura 2.3.1.</b> Incidência (por 100.000 hab.) de casos com duração superior a 15 anos de DII em diversas zonas europeias em 2010 .....	13
<b>Figura 2.3.2.</b> Prevalência de DII nos vários distritos portugueses (doentes por 100.000 habitantes) para o ano de 2007 .....	14
<b>Figura 6.1.1.</b> Pirâmide terapêutica na CU ativa .....	26
<b>Figura 6.2.8.1.</b> Algoritmo do tratamento da DC nos diversos estádios da doença, nos EUA .....	38
<b>Figura 7.1.</b> Classificação de fitoquímicos com potencial uso nas DII .....	40
<b>Figura 7.1.1.</b> Estrutura básica de um lipossacárido .....	43
<b>Figura 8.1.1.</b> Estrutura química da berberina .....	45
<b>Figura 8.2.1.</b> Estrutura química do hipoestóxido .....	47
<b>Figura 8.3.1.</b> Estrutura básica de um flavonoide .....	48
<b>Figura 8.4.1.</b> Estrutura química do resveratrol .....	51
<b>Figura 8.6.1.</b> Estrutura química geral das cumarinas .....	52
<b>Figura 9.2.1.</b> Relação entre a produção de IFN-gama e a administração de 14-O-Acetilneolina com TNBS induzida .....	55
<b>Figura 9.3.1.</b> Efeito do extrato de folhas de Agave americana no peso corporal em CU induzida por ácido acético em ratinhos .....	56
<b>Figura 9.10.1.</b> Comparação dos níveis de MPO e NO, no tecido, dos vários grupos ..	64

## **Índice de Quadros**

<b>Quadro 2.1.1.</b> Comparação do perfil de citocinas na CU e DC .....	5
<b>Quadro 3.3.1.</b> Classificação de Montreal para a CU .....	18
<b>Quadro 3.3.2.</b> Mayo Score utilizado para classificar a colite ulcerosa .....	19
<b>Quadro 5.3.1.</b> Caraterização da doença de Crohn .....	22
<b>Quadro 9.9.1.</b> Efeito da GS nas alterações histológicas no tecido do colón de ratinhos com CU induzida por ácido acético .....	63

## **Lista de Siglas**

**2-AG** - 2-araquidonol glicerol

**5-ASA** – Ácido 5-aminossalicílico

**6-MMP** – 6-metilmercaptipurina

**6-MP** – Mercaptotipurina

**8-OHcG** - 8-hidroxi-desoxiguanosina

**AA** – Ácido araquidónico

**AINEs** – Anti-inflamatórios não esteroides

**ATG16L1** - *Autophagy Related 16-Like 1*

**ASCA** – *Anti-saccharomyces cerevisiae*

**AZA** – Azatioprina

**CARD15/IBDI** - *caspase recruitment domain-containing protein 15/ inflammatory bowel disease protein 1*

**CDAI** – Índice de atividade da doença de Crohn, de *Crohn's disease activity index*

**COX** – cicloxigenase

**CU** – colite ulcerosa

**Cu/ZnSOD** – Complexo de cobre e zinco com a superóxido dismutase, respetivamente

**DA** - Alcaloides diterpénicos, de *diterpene alkaloids*

**DC** – Doença de Crohn

**DII** – Doenças inflamatórias intestinais

**DNA** – ácido desoxirribonucleico, de *deoxyribonucleic acid*

**DSS** – Sulfato de dextrano de sódio, de *dextran sulfate sodium*

**EPA** - Ácido eicosapentenóico, *eicosapentaenoic acid*

**ESR** – *Erythrocyte sedimentation rate*

**GPX** – Glutathiona peroxidase

**GS** - *Gymnema sylvestre*

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** – Peróxido de hidrogénio

**HLA** – *Human Leukocyte Antigen*

**HP** - *Hypericum perforatum*

**IBD1** - locus 1 da doença inflamatória intestinal

**IKb** – Proteína capa B inibitória

**IL-23R** – Gene do recetor da interleucina-23

**IL**- Interleucina

**INF- $\gamma$**  – Interferão- $\gamma$

**iNO<sub>2</sub>** – Óxido nítrico sintase, de *nitric oxide sintase*

**IRGM** - *Immunity-Related GTPase Family, M*

**LA** – Ácido linoleico, de *Linoleic Acid*

**LPS** – lipopolissacáridos

**MnSOD** - Complexo de manganês com a superóxido dismutase

**MPO** – Mieloperoxidase

**MTX** – Metotrexato

**NK** – Células *Natural-Killer*

**NF-Kb**- Fator nuclear capa B, de *nuclear factor kappa B*

**NO** – Óxido nítrico

**NOD2** - *Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2*

**$\cdot\text{O}_2$**  – Superóxido

**$\cdot\text{OH}$**  – Radicais hidroxilo

**pANCA** – Anticorpos anticitoplasmáticos

**PG-PS**- Péptido glicano-polissacárido

**PMNs** – Neutrófilos polimorfonucleares

**PUFA** – Ácidos gordos polinsaturados, de *polyunsaturated fatty acids*

**ROS** – Espécies reativas de oxigénio, de *reactive oxygen species*

**SOD** – Superóxido dismutase

**Th** – Linfócitos T auxiliaries, de *T-helper cells*

**THC** -  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol

**TGF- $\beta$**  – Fator de crescimento tumoral, de *Transforming Growth Factor beta*

**TNF- $\alpha$**  – Fator de necrose tumoral, de *Tumor Necrosis Factor alpha*

**TNBS** – Ácido-2,4,6-trinitobenzenesulfónico

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

**Treg** – Linfócitos T reguladores

**VDZ** – Vedolizumab

**ZO-1** – Proteína *Zonula Occludens 1*

## **1. Introdução**

A colite ulcerosa (CU) foi o primeiro subtipo de doença inflamatória intestinal (DII) a ser caracterizada como identidade distinta. Contudo, não podemos afirmar que a CU tenha surgido antes da doença de Crohn (DC), uma vez que ambas as doenças já afetavam algumas pessoas muito antes do surgimento da medicina.

Em 1859, Samuel Wilks foi o primeiro médico a utilizar o termo colite ulcerosa para descrever um estado semelhante ao descrito hoje em dia. Relatórios de diarreia grave e persistente, que não aparentavam ter uma origem infecciosa, acumularam-se durante a última metade do século XIX.

Em 1909, a *Royal Society of London* apresentou um simpósio com mais de 300 casos de CU em hospitais londrinos, apontando inúmeras observações, tais como: fatores de risco (no jovem adulto e na idade média), principais sintomas (diarreia e hemorragias) e tentativas de tratamento com algumas drogas, como adstringentes, antissépticos e sedativos, surtindo pouco efeito terapêutico.

Na década de '60, iniciou-se a terapia com imunossuppressores, nomeadamente com mercaptopurina, demonstrando-se eficaz em doentes com CU. Na década seguinte, descobriu-se a eficácia de outras tiopurinas; no entanto, a maior evolução na medicina dos últimos 60 anos centra-se na aplicação de biologia molecular e genética na compreensão da doença. Nos tempos atuais, a etiologia da CU consiste numa reação imunitária seguida de uma resposta ineficaz do próprio sistema imunitário a uma determinada colónia de bactérias. Em cerca de 95% dos casos envolve apenas o reto, estendendo-se de modo simétrico, circunferencial ou ininterrupto, envolvendo uma parte ou a totalidade do cólon.

Burril B. Crohn descreveu, em 1932, no *American Medical Association Journal*, o primeiro artigo científico que identificaria a doença que, nos dias de hoje, viria a ser designada de doença de Crohn. Na altura, foi designada de “ileíte regional” e descrita como uma necrotização e inflamação crónica na região terminal do íleo, assim como uma inflamação transmural do mesmo, podendo até levar ao desenvolvimento de estenoses e fistulas.

Mais tarde, foi descoberto que a tal inflamação poderia ocorrer ao longo de todo o trato gastrointestinal (no esófago, estômago, duodeno e jejuno).

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

Muitos dos ensaios clínicos realizados para a DC durante a segunda metade do século XX, verificaram que o tratamento da DC consiste, essencialmente, nos mesmos fármacos utilizados na CU, entre eles a mesalazina, corticosteroides, imunomoduladores e medicamentos biológicos, à exceção do metotrexato, utilizado apenas no tratamento da DC.

O desenvolvimento tecnológico tem contribuído muito para a deteção e tratamento das DII, desde a colonoscopia com biópsia, passando pela ileonoscopia e pela endoscopia em cápsula, até à ressonância magnética e outros meios imagiológicos<sup>1,2</sup>.

Atualmente, a doença caracteriza-se por englobar um grupo de características que revelam aspetos clínicos e patológicos relevantes, caracterizados por uma inflamação focal, assimétrica, transmural e ocasionalmente granulomatosa, que afeta inicialmente o trato gastrointestinal. A sua terapêutica centra-se essencialmente em controlar os sintomas, uma vez que é uma doença crónica, promovendo melhor qualidade de vida e minimizando a toxicidade e potenciais complicações a curto e a longo prazo<sup>3</sup>.

Durante o século XX, a incidência da DC e da CU tem aumentado exponencialmente em vários continentes como a América do Norte, Europa e Oceânia, predominantemente em indivíduos com ascendência europeia. O século XXI marcou o início de uma nova era, com uma taxa de incidência de DII muito elevada em países industrializados. Dos estudos mais recentes feitos em Portugal, verificou-se que a prevalência de DII aumentou de 86 casos por 100.000 habitantes em 2003, para 146 casos por 100.000 habitantes em 2007<sup>4,5</sup>.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, as terapias não convencionais têm ganho cada vez mais relevância perante a economia mundial, sendo que cerca de 65% a 80% da população mundial, particularmente nos países em desenvolvimento, recorre a produtos à base de plantas medicinais para o tratamento de certas doenças. O uso deste tipo de terapia é muito comum, tanto em adultos como em doentes pediátricos, já que a prevalência, em adultos, no norte da Europa e na América aumentou de 21% para 60%<sup>6,7</sup>.

As plantas medicinais e os medicamentos fitoterapêuticos são formados por misturas complexas de inúmeros compostos químicos que desempenham várias ações. Estas ações podem ser explicadas pela sua atividade única, pelos seus efeitos aditivos, antagónicos e/ou sinérgicos, como resultado de uma interação entre os vários

constituintes ativos em diversos locais de ação, nomeadamente em vários órgãos e tecidos <sup>8</sup>.

Nos doentes com DII, devido à sua componente natural e propriedades terapêuticas, a fitoterapia tem ganho importância nos últimos anos, pois é considerada um bom recurso como terapêutica coadjuvante e preventiva de ambas as doenças, dado que apresenta um padrão de segurança e eficácia plausível a nível da regulação do sistema imunitário, nomeadamente na inibição de ação de algumas proteínas no seu poder antioxidante.

## **1.1 Objetivos**

A presente monografia tem como principal objetivo a sensibilização para a terapêutica atual utilizada nas DII, focando-se essencialmente na fitoterapia como terapia alternativa e complementar, fazendo uma abordagem das suas potencialidades. Esta tese tem como objetivo descrever os resultados da aplicação da fitoterapia neste âmbito, uma vez que, ao longo dos anos, ela tem contribuído para a diminuição do índice de atividade da doença, para o aumento da taxa de resposta, para a diminuição do rácio de recaída, entre outros fatores a nível hemorrágico, fecal e até mesmo na prevenção de danos histológicos <sup>9</sup>.

## **1.2 Metodologia**

A presente monografia constitui uma análise qualitativa cujos dados foram recolhidos através da análise de vários documentos de modo a compreender melhor a aplicação da fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva nas doenças inflamatórias intestinais, mais concretamente, na colite ulcerosa e na doença de Crohn. Esta revisão bibliográfica envolveu a pesquisa em bases científicas e biomédicas como *PubMed*, *Web of Science*, entre outros, não só, de livros da área científica em questão, como de artigos científicos presentes em revistas, jornais e relatórios relacionados com o tema. Os termos mais usados durante a pesquisa foram: *inflammatory bowel disease*, *phytotherapy*, *Crohn's disease*, *ulcerative colitis* sendo a mesma direcionada essencialmente para publicações efetuadas entre 2000 e 2016.

## **2. Doenças inflamatórias intestinais**

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são caracterizadas como uma inflamação crónica da mucosa intestinal que podem ser restringidas a uma parte da zona intestinal ou podem ocorrer em vários locais ao longo de todo o trato gastrointestinal. Compreendem-se como DII a colite ulcerosa (CU) e a doença de Crohn (DC) <sup>10</sup>.

### **2.1 Fisiopatologia das DII**

A fisiopatologia das DII está relacionada maioritariamente com o sistema imunitário, mais concretamente com a imunidade inata e adaptativa. A imunidade inata é inerente ao homem e consiste na resposta rápida e eficaz a microrganismos. Não é específica para um determinado antigénio, e não envolve memória imunológica. Relaciona-se com as células que apresentam antigénios, células dendríticas, epiteliais e células de Paneth. Uma das possíveis causas associadas às DII está relacionada com uma resposta ineficaz à invasão bacteriana, sendo que tal resulta numa menor produção de citocinas pró-inflamatórias e eliminação bacteriana inadequada <sup>11,12</sup>.

As citocinas são polipéptidos ou glicoproteínas extracelulares hidrossolúveis produzidas por vários tipos de células do sistema imunitário na mucosa (e outros locais) como os linfócitos T (Th1, Th2 e Th17), monócitos, macrófagos, granulócitos, células endoteliais e fibroblastos. As citocinas pro-inflamatórias correspondem às interleucinas (IL-1, IL-6 ou IL-12), o fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ). Entre as anti-inflamatórias, contam-se as interleucinas IL-1, IL-4, IL-10, IL-11 e o fator de crescimento tumoral- $\beta$  (TGFB) <sup>13,14</sup>.

Os macrófagos, ativados na DC, apresentam atividade muito aumentada e produzem mais IL-23 e TNF- $\alpha$  na mucosa intestinal, estimulando a produção de interferão- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) pelos linfócitos T. Por sua vez as células dendríticas intestinais ativadas nas DII produzem níveis elevados de citocinas IL-12 e IL-6 em ambas as doenças.

Todos os produtos de degradação presentes na mucosa que não sejam devidamente eliminados pela resposta inata ativam/estimulam a resposta adaptativa, que consiste numa resposta mais tardia e que depende da memória imunitária. Esta resposta depende, essencialmente, dos linfócitos T (imunidade celular) e linfócitos B (imunidade humoral).

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

As células apresentadoras de antígenos estimulam a diferenciação de células T nos gânglios linfáticos. Na DC, as interleucinas IL-12 e IL-23 estimulam a diferenciação de células T em células Th-1 e Th-17 (linfócitos T auxiliares) juntamente com produção de INF- $\gamma$ , IL-17 e IL-21.

Na CU, há uma resposta mais exagerada das Th2 e de IL-5, mas não de INF- $\gamma$  outras citocinas associadas a uma resposta hiperativa Th-1. As citocinas Th1 estão mais relacionadas com reações inflamatórias transmuralis, enquanto que a resposta das Th2 está mais relacionada com alterações na camada da mucosa na região mais superficial.

Desta forma, pode concluir-se que a resposta Th1 está relacionada com a DC e a resposta das Th2 com a CU. No quadro 2.2.1, pode verificar-se as diferenças entre a produção de citocinas libertadas em cada uma das doenças. A DC está mais marcada pela produção de TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-12 e IL-17, enquanto que a CU por um aumento da IL-13 entre outras.

Para além dos linfócitos T auxiliares, os linfócitos T reguladores (Treg) também apresentam um papel importante, pois têm a função de monitorizar a resposta inflamatória e prevenir a ativação em excesso do sistema imunitário. Embora ainda tenham sido realizados poucos estudos sobre este tipo celular, aparentemente, o número e função dos linfócitos Treg estão alterados nas DII<sup>11,12,15,16</sup>.

*Quadro 2.1.2. Comparação do perfil de citocinas na CU e DC (Adaptado de Head et al<sup>16</sup>)*

<b>Citocina</b>	<b>Colite Ulcerosa</b>	<b>Doença de Crohn</b>
IL-1	Normal no soro, aumentado na mucosa;	Normal no soro, aumentado na mucosa;
IL-2	Normal no soro e na mucosa;	Aumentado no soro e mucosa;
IL-6	Normal no soro e aumentado na mucosa;	Aumentado no soro e na mucosa;
IL-8	Indetetável no soro e elevado na mucosa;	Indetetável no soro e na mucosa;
INF- $\gamma$	Não são conhecidos os níveis no soro e normal na mucosa;	Níveis de soro desconhecidos e elevado na mucosa;
TNF- $\alpha$	Normal no soro, aumentado na mucosa;	Normal no soro, aumentado na mucosa;

Existe ainda uma proteína que se encontra aumentada em ambas as doenças, fazendo, conseqüentemente, aumentar as citocinas acima referidas: o nuclear fator kappa B (NF-κB). Trata-se de um fator de transcrição, que está localizado no citosol, na sua forma inativa, onde forma um complexo com a proteína kappa B inibitória (IκB). Em resposta ao stress celular, a IκB é degradada levando à ativação do NF-κB, que será posteriormente encaminhado até ao núcleo, onde se liga ao ácido desoxirribonucleico (DNA) em regiões bem definidas do genoma (regiões promotoras de genes alvo), fazendo aumentar a expressão dos genes pró-inflamatórios e o recrutamento de células inflamatórias para a mucosa intestinal. Um NF-κB aumentado nos macrófagos da parede intestinal é acompanhado de um aumento da capacidade destas células para produzir e secretar citocinas pró-inflamatórias, como o TNF-α, IL-6, entre outras responsáveis pela estimulação, ativação e diferenciação das diversas células do sistema imunitário<sup>17</sup>.

## **2.2 O stress oxidativo nas DII**

O trato gastrointestinal é considerado uma fonte de produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), como por exemplo superóxidos ( $\cdot\text{O}_2$ ), óxido nítrico (NO), radicais hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ), peróxido de hidrogénio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), entre outros. Em condições fisiológicas normais, as enzimas antioxidantes e dietéticas conferem à camada epitelial uma barreira protetora, protegendo assim os tecidos contra os efeitos das ROS. Assim sendo, a mucosa intestinal é particularmente favorecida, uma vez que é nela que se localizam as diferentes enzimas necessárias à produção de várias ROS, como a xantina oxidase, cicloxigenase (COX) e 5-lipogenase. Contudo, um estado de stress oxidativo pode ocorrer quando há um desequilíbrio entre os antioxidantes (estando estes em baixas quantidades) e as ROS (estando estas aumentadas), aumentando assim, conseqüentemente, o stress oxidativo da mucosa de todo o sistema gastrointestinal.

Uma das possíveis causas para o aumento destas espécies poderá estar relacionada com a ingestão de alguns agentes patogénicos, que podem causar inflamação através da ativação de neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) e macrófagos, levando à produção exagerada de citocinas e outros mediadores que contribuem para o agravamento do stress oxidativo.

Por exemplo, no caso da DC, a geração de ROS das enzimas COX e lipoxigenase ativam o NF- $\kappa$ B, aumentando os níveis de IL-8.

O aumento da produção de ROS está associado com a inflamação crónica do intestino em estádios iniciais das DII, sendo que estas espécies interferem com o DNA, proteínas e lípidos, desencadeando o início e progressão da doença, dando origem a uma inflamação proeminente e aumento excessivo de citocinas.

Vários estudos afirmam que sinais de stress oxidativo na mucosa intestinal de doentes com CU podem ser secundários à inflamação. Comparando os sinais de stress oxidativo e os níveis de antioxidantes no plasma, na CU e na DC, detetou-se alguns danos no DNA periférico em ambas as doenças, através da medição da produção de 8-hidroxi-desoxiguanosina (8-OHcG). Biópsias da mucosa intestinal mostraram que em doentes com CU e DC há um aumento de produtos reativos intermediários, aumento de produtos de oxidação de DNA (8-OHdG).

Existem dois grandes grupos de sistemas antioxidantes celulares: os enzimáticos e os não enzimáticos. Dos enzimáticos fazem parte a superóxido dismutase (SOD), a glutathione peroxidase (GPX) e a catalase, tendo estas um papel antioxidante muito importante pois são as principais responsáveis pela conversão de radicais livres em produtos menos reativos e menos tóxicos. O plasma humano contém baixos níveis de catalase e baixa atividade da SOD e GPX.

A SOD é uma metaloproteína responsável por converter superóxidos em peróxido de hidrogénio e oxigénio molecular, sendo, portanto, considerada uma enzima intracelular de grande relevância, uma vez que é a principal responsável pela redução do radical livre mais abundante, o  $\cdot\text{O}_2$ . Ela é classificada de acordo com o tipo de metal ou cofator, que se encontra no seu sítio ativo. Por exemplo, no citosol e nos cloroplastos das plantas, é o cobre e o zinco (Cu/ZnSOD), enquanto que na matriz mitocondrial é o manganês (MnSOD). Alguns estudos mostraram que doentes com DC apresentam baixa atividade das enzimas SOD e GPX na mucosa intestinal.

Pensa-se ainda que a óxido nítrico sintase (NOS) é a principal enzima responsável pela produção de óxido nítrico (NO) no organismo afetado pelas DII. A isoforma da NOS presente em grande quantidade, quer na CU, quer na DC, é a iNOS (óxido nítrico sintase induzida), uma vez que a sua produção é induzida por citocinas emitidas por macrófagos. Isto permite a produção de NO em grandes quantidades como um mecanismo de morte celular em resposta aos polissacáridos, citocinas e

glucocorticoides. Desta forma, pode-se associar esta enzima a vários processos inflamatórios.

Uma elevada atividade da NOS foi encontrada em modelos experimentais de colite e na mucosa intestinal de doentes com DII. Níveis elevados de produtos de reação do NO, nitratos e nitritos foram detetados no plasma, fezes e lúmen intestinal de doentes com DII.

Dos sistemas antioxidantes não enzimáticos, fazem parte as vitaminas A, C e E; vários compostos carotenóides como o  $\beta$ -caroteno; e o retinol, entre outros. Vários estudos mostraram que os doentes com DII apresentam níveis mais baixos de alguns dos compostos referidos anteriormente. Tal facto poderá ser prejudicial, uma vez que os mesmos são responsáveis pela inibição da produção de algumas citocinas e outras células do sistema imunitário.

Existem ainda teorias que afirmam que o TNF- $\alpha$  é também responsável pela produção de ROS, que por sua vez ativam o NF-kB, o qual vai despoletar a atividade do TNF- $\alpha$ .

Desta forma, pode-se afirmar que as moléculas antioxidantes podem levar a níveis elevados de ROS, podendo estas atuar localmente, ou serem secretadas diretamente para a circulação, causando danos sistémicos. Contudo, serão necessários mais estudos para demonstrar os efeitos das ROS na produção de outras citocinas que se encontram aumentadas em ambas as doenças e, particularmente na DC, nas diferentes camadas da mucosa<sup>16,18,19,20,21</sup>.

## **2.4 Fatores de risco associados às DII**

A causa das DII não está totalmente compreendida hoje em dia, mas releva estar, essencialmente, associada a fatores genéticos, ambientais e imunológicos.

Recentemente, tem-se verificado que as regiões mais desenvolvidas têm maior prevalência para a DC relativamente aos países em desenvolvimento. Esta diferença pode dever-se a fatores relacionados com o saneamento e higiene pessoal.

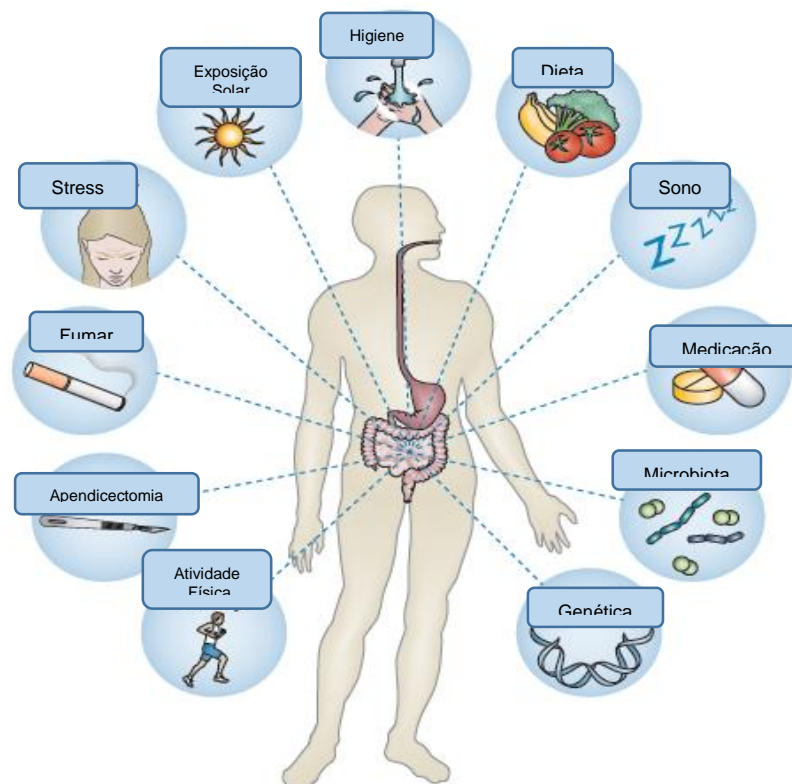
Tal como apresentado na Figura 2.2.1, outros fatores de risco associados às DII são o consumo de tabaco, uma vez que os fumadores apresentam o dobro do risco de desenvolver a doença face aos não-fumadores, assim como aumento do risco de recaída após cirurgia, para controlo da remissão da doença. A alimentação também constitui um fator de risco, especialmente no que diz respeito ao consumo exagerado de alimentos

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

ricos em ácidos gordos polinsaturados (PUFA) n-6 — frequentemente denominados por “ômega-6” — comparativamente ao consumo de PUFA n-3 ou “ômega-3”. No que diz respeito às DII, a complementação da dieta com PUFA n-3 é bastante benéfica uma vez que o seu consumo está associado à produção de enzimas, como a ZO-1 (proteína *Zonula Occludens 1*) presente nas junções oclusivas da mucosa intestinal, levando a uma melhor permeabilidade epitelial da mesma e ainda diminuição da produção de leucotrienos pelos neutrófilos da mucosa intestinal.

O stress em demasia, tal como o sono ou a atividade física, a exposição solar excessiva (aumento dos níveis de vitamina D) e procedimentos cirúrgicos como a apendicectomia são também alguns fatores de risco associados às DII. Alguns estudos demonstram ainda a relação entre as DII e o consumo de alguns medicamentos, como, por exemplo, os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs).

De ressaltar que nenhum dos fatores por si só é suficiente para o desenvolvimento da doença mas sim a interação entre os mesmos fatores <sup>16, 22,23,24</sup>.



*Figura 2.2.1. Interação entre diversos fatores causadores de DII (Adaptado de Ananthkrishnan et al <sup>23</sup>).*

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

Em 1996, foram identificados *loci* associados a ambas as doenças nos cromossomas 3, 7 e 12. No entanto, apenas mais tarde foi identificado um *locus* de suscetibilidade para a DC localizado na região pericentromérica do cromossoma 16, que ficou conhecida por *IBD1* (*locus* 1 da doença inflamatória intestinal).

Alguns anos depois, foram identificadas mutações no gene *CARD15/IBD1*, também conhecido por *CAspase Recruitment Domain-containing protein 15* ou *inflammatory bowel disease protein 1*. Este gene codifica uma proteína (caspase – NOD2 – *Nucleotide-binding Oligomerization Domain-containing protein 2*) que contém duas repetições do domínio CARD na extremidade amina. Existem três mutações causadas por substituições de aminoácidos – Arg702Trp, Gly908Arg e alteração do quadro de leitura (1007fs) – encontradas na região *CARD15* que codifica uma repetição de leucinas, que é responsável pelo reconhecimento bacteriano, ou seja, esta região liga-se ao peptidoglicano presente em praticamente todas as bactérias. Esta ligação permite a ativação do NF-κB, estimulando múltiplos genes que codificam fatores de transcrição de moléculas pro-inflamatórias. Como tal, pode afirmar-se que a NOD2 é expressa em células do sistema imunitário apresentadoras de antígenos como macrófagos, células dendríticas e epiteliais e que pelo menos uma destas três mutações está presente em cerca de 15-30% dos portadores de DC <sup>11</sup>.

Outro fator de risco associado à DC são alterações de autofagia nos genes *Autophagy Related 16-Like 1 (ATG16L1)* e *Immunity-Related GTPase Family, Mn (IRGM)* por não conseguirem eliminar os produtos de degradação celular e bacteriana no citoplasma. Deste modo, existe o recrutamento constante de linfócitos e ampliação da resposta inflamatória, levando à lesão dos tecidos, infiltração linfocitária nos tecidos e formação de granulomas na DC. Algumas pessoas com polimorfismos no gene *ATG16L1* podem apresentar alterações nas células de Paneth, diminuindo a sua capacidade de secretar péptidos endógenos antibacterianos e de controlar a quantidade e qualidade das bactérias presentes na flora intestinal, sendo esta também uma possível causa das DII.

Enquanto que o polimorfismo no gene *ATG16L1* está mais relacionado com a DC, polimorfismos no gene do recetor da interleucina-23 (*IL-23R*) está associado tanto à DC como à CU. Este gene codifica uma proteína recetora presente na membrana celular de vários tipos de células do sistema imunitário e desencadeia todo um processo inflamatório, controlado pelo sistema imunitário adaptativo.

Quando a IL-23 se liga ao seu recetor (IL-23R), a célula alvo produz proteínas antiapoptóticas e pro-inflamatórias que são traduzidas no citoplasma. A subexpressão destas proteínas facilita a ação da IL-23 à superfície dos linfócitos T, ampliando a resposta inflamatória, levando à produção de proteínas antiapoptóticas e aumentando o tempo de vida do linfócito. A IL-23 atua nos linfócitos Th1 e Th17 — mais importantes na DC — e em células *natural killer* (NK) — mais importantes na CU—, podendo os dois tipos de células apresentar alterações genéticas em comum.

Identificou-se ainda, para ambas as doenças, polimorfismos (Asp299Gly e Thr399Ile) associados ao gene que codifica o TLR4 (*Toll-Like Receptor*), que pode ocorrer em ambas as doenças, reforçando a alteração da resposta induzida pelo reconhecimento de agentes infecciosos, causando por sua vez uma imunidade inata anormal.

A parede bacteriana das bactérias Gram-negativas compreende uma grande porção de LPS (lipopolissacáridos) que são reconhecidos através do TLR-4. Desta forma, ele é responsável pela deteção de LPS presentes na parede celular de algumas bactérias. Esta estimulação leva a uma ativação do sistema NF-kB e subsequente indução da resposta inflamatória como um mecanismo de defesa do hospedeiro<sup>11,12,25,26,27,28</sup>.

Estudos recentes demonstraram ainda que existe uma forte ligação entre a CU em associação com o *superlocus* HLA (*human leukocyte antigen*) responsável por codificar proteínas apresentadoras de antigénios. A associação entre HLA e DII mostrou não só que o polimorfismo no alelo *HLADRB1\*0103* está relacionado com ambas as doenças, como também identificou mais de dez alelos associados a cada uma das doenças.

As variações nos genes da classe I e II do HLA contribuem igualmente para a DC, enquanto que as variações que ocorrem apenas na classe II são mais importantes na CU<sup>29</sup>.

A suscetibilidade genética associada às DII tem sido uma das potenciais causas das doenças, e como tal, os *loci* relacionados com as mesmas requerem mais estudos para uma melhor compreensão do seu relacionamento com o sistema imunitário e inflamação, em indivíduos suscetíveis.

Em relação à importância da microbiota intestinal, algumas bactérias patogénicas presentes no intestino secretam enterotoxinas capazes de alterar a permeabilidade intestinal e de causar efeitos sistémicos. Elas formam proteínas imunossupressoras que

interferem com a regulação normal da resposta imunitária intestinal e com o metabolismo epitelial, mas tal irá ser explicado mais detalhadamente no capítulo 5 <sup>16</sup>.

## **2.5 Epidemiologia das DII**

A CU ocorre normalmente em pessoas com idade compreendida entre 15-40 anos com um segundo pico de incidência entre 50-80 anos de idade, enquanto que a DC é geralmente diagnosticada, não só na adolescência tardia e início de vida adulta, como também numa idade mais avançada, entre os 50-80 anos de idade. A influência do género difere consoante a região demográfica, apesar de ser mais frequente no sexo feminino <sup>22,30</sup>.

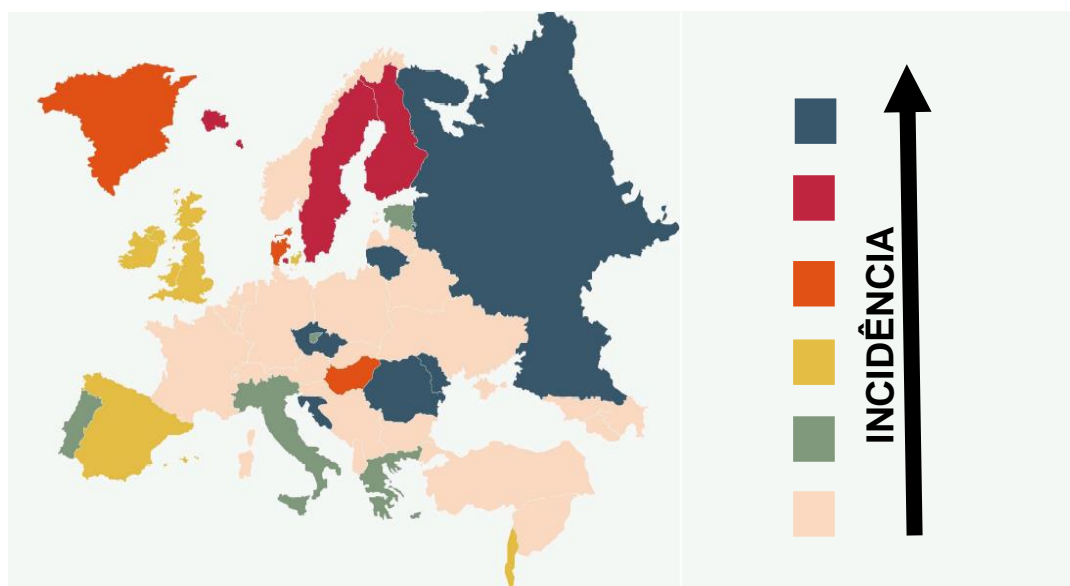
Através da análise de vários estudos, verifica-se que a incidência e prevalência das DII está a aumentar em grande escala com o tempo e em diversas áreas geográficas.

Segundo Molodecky *et al* <sup>31</sup>, a recolha de vários dados presentes em estudos realizados desde 1930 a 2010, permitiram uma avaliação da incidência das DII a nível mundial. Desta forma verificaram que a incidência anual de CU foi de 24,3 pessoas por 100.000 habitantes na Europa, 6,3 pessoas por 100.000 habitantes na Ásia e Médio Oriente e de 19,2 por 100.000 habitantes na América do Norte.

Para a DC, a incidência anual foi cerca de 12,7 pessoas por 100.000 habitantes na Europa, 5,0 pessoas por 100.000 habitantes na Ásia e Médio Oriente e de 20,2 por 100.000 habitantes na América do Norte. A maior taxa de prevalência de DII ocorreu na Europa (505 e 302 casos por 100.000 habitantes para CU e DC, respetivamente) e na América do Norte (249 e 319 casos por 100.000 habitantes para a CU e DC, respetivamente) <sup>31</sup>.

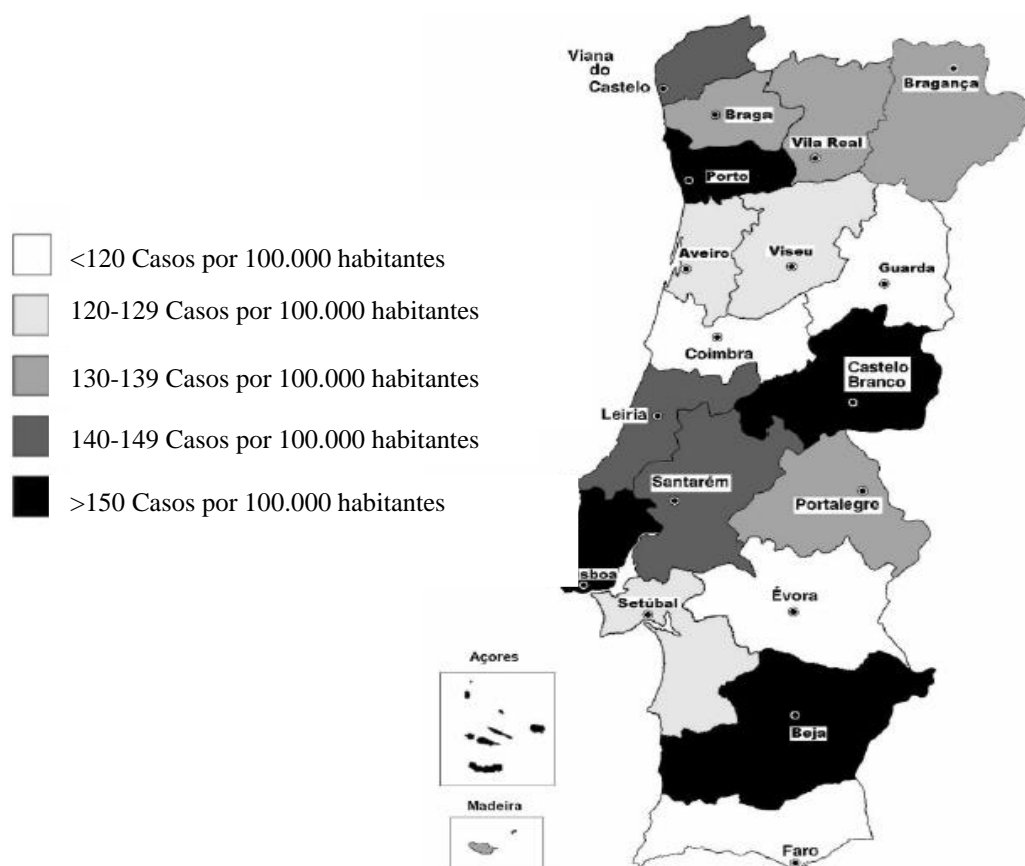
Como se pode observar através da Figura 2.3.1, em 2010, na Europa, o grau de incidência por 100.000 habitantes revela ser maior nos países mais desenvolvidos, isto é essencialmente, na região mediterrânica e norte da Europa e menor na região leste <sup>32,33</sup>.

Estes dados mais recentes comprovam o estudo efetuado por Shivananda *et al* <sup>34</sup> que sugeriu um aumento da incidência de DII nos países localizados a norte da Europa, afirmando que a sua etiologia poderia ser difícil de comprovar, mas que poderia estar relacionada com o clima, tipo de dieta, poder económico, desenvolvimento e suscetibilidade genética de cada país.



**Figura 2.3.1.** Incidência (por 100.000 hab.) de casos com duração superior a 15 anos de DII em diversas zonas europeias em 2010 (Adaptado de Burisch et al<sup>33</sup>).

Em Portugal, os dados epidemiológicos mostram uma maior prevalência de DII no sexo feminino, aumentando de 86 casos para 156 por 100.000 habitantes, desde 2003 a 2007. Este aumento foi consistente em todos os distritos portugueses, uma vez que não foi detetado nenhum gradiente de distribuição. Ainda assim, os distritos mais afetados foram Lisboa e Porto com uma prevalência que atingiu os 173 e 163 casos por 100.000 habitantes em 2007, respetivamente. Logo a seguir encontra-se o distrito de Castelo Branco e de Beja, ambos com 161 casos por 100.000 habitantes, tal como mostra a Figura 2.3.2.<sup>35</sup>.



*Figura 2.3.2. Prevalência de DII nos vários distritos portugueses (doentes por 100.000 habitantes) para o ano de 2007 (Adaptado de Azevedo et al <sup>35</sup>).*

Ainda em Portugal, em relação à CU, a prevalência aumentou de 42 casos por 100.000 habitantes em 2003 para 71 casos por 100.000 habitantes em 2007 e foi maior na faixa etária dos 40-64 anos de idade, ao passo que a DC aumentou de 43 casos por 100.000 habitantes em 2003 para 73 casos por 100.000 habitantes em 2007, apresentando maior prevalência entre os 17 e 39 anos de idade, a qual se encontra de acordo com a prevalência mundial anteriormente referida.

O mesmo estudo revela ainda que não foram detetadas alterações nos métodos de diagnóstico e conhecimento da doença em Portugal na última década, uma vez que o diagnóstico e tratamento utilizado nas DII foi constante ao longo do período estudado <sup>35</sup>.

Em suma, a incidência das DII aparenta ser reduzida em países em desenvolvimento, sendo que determinado fator pode ser explicado pelo fraco poder de

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

diagnóstico, confusão com outras eventuais causas de alguns sintomas ou até por fatores desconhecidos, no tipo de países acima referidos. À medida que as sociedades se tornam mais industrializadas, trazendo conseqüentemente alterações nos estilos de vida, na alimentação e exposição a determinados fatores ambientais, verificou-se que a incidência da CU tem vindo a aumentar, apesar da incidência da DC permanecer inalterada/baixa. No entanto, nos últimos anos, a incidência da DC tem vindo igualmente a aumentar e a sua incidência coincide, ultimamente, com a da CU <sup>36</sup>.

### **3. Colite Ulcerosa**

A colite ulcerosa, contrariamente à DC, é caracterizada por afetar apenas a camada mucosa e submucosa da parede intestinal, ou seja, não é transmural.

Podemos classificar a CU em: **proctite**, uma inflamação localizada numa porção limitada do reto; **proctossigmoidite**, uma extensão da inflamação da região distal até à junção sigmóidea; **CU distal**, que se localiza na região esquerda apenas envolvendo a porção colorretal distal, prolongando-se até à curvatura do ângulo esplênico; **colite** quando afeta apenas a parte esquerda do cólon descendente e **pancolite** (colite extensa), quando envolve o cólon na sua totalidade<sup>30,37</sup>.

#### **3.1 Sinais e sintomas da Colite Ulcerosa**

O curso da CU é marcado por exacerbações e remissões que podem ocorrer espontaneamente ou em resposta ao tratamento. Esta doença pode apresentar uma sintomatologia gradual ou a primeira manifestação poderá ser aguda e fulminante. Como sinais e sintomas apresenta diarreia (geralmente com sangue) cerca de quatro vezes ao dia, a região abdominal encontra-se geralmente “flácida”, com algumas cólicas na região abdominal mais baixa. As fezes normalmente são acompanhadas de sangue, sendo que a quantidade do mesmo depende da gravidade e estágio da doença. O indivíduo pode apresentar fadiga derivado da perda sanguínea, e, em casos mais graves, episódios de febre, assim como, diminuições de apetite durante os períodos de exacerbação da doença. O exame retal pode indicar irritação perianal, fissuras, hemorroidas, fístulas e abscessos. Casos de perda de peso podem também ocorrer em casos mais graves, tal como o aumento do risco de displasia e cancro colo retal<sup>16,30</sup>.

#### **3.2 Diagnóstico da Colite Ulcerosa**

Para a CU, o tipo de diagnóstico usado depende dos sintomas que o doente apresenta. É aconselhada, inicialmente, uma sigmoidoscopia ou colonoscopia para avaliar o estado do tecido da mucosa intestinal seguida de biópsia no caso de apresentar diarreia com sangue ou urgência em defecar. Características endoscópicas e histológicas negativas derivadas de causas infecciosas (por exemplo, *Escherichia coli*) permitem o diagnóstico de CU<sup>2,38</sup>.

Tendo em conta que os sintomas iniciais da doença são semelhantes a outras patologias como a síndrome do cólon irritável, DC, diverticulite e cancro do colo retal, é necessário avaliar corretamente o histórico clínico do doente. Para despistar potenciais casos infecciosos, como a presença de parasitas, é necessário realizar exames bacteriológicos. Devem ser também realizados testes para detetar a presença de sangue oculto nas fezes e exames sanguíneos totais para despiste de anemia <sup>16</sup>.

Pode ainda ser feita uma análise aos marcadores serológicos como, por exemplo, aos anticorpos anticitoplasmáticos de neutrófilos, pANCA, que atuam contra as proteínas presentes na lâmina nuclear dos neutrófilos, encontrando-se aumentados na colite ulcerosa <sup>39</sup>.

### **3.3 Estádios da colite ulcerosa**

Para compreender melhor em que fase da doença são utilizadas as diferentes terapêuticas apresentadas ao longo deste trabalho, encontram-se de seguida os diferentes estádios que caracterizam a doença.

A colite ulcerosa, segundo a classificação de Montreal, é classificada segundo quatro estádios distintos: remissão, média, moderada e severa. O método de diagnóstico utilizado para esta classificação foi uma sigmoidoscopia, centrando-se no número de dejeções diárias, presença ou ausência de sangue nas fezes, na temperatura corporal, no pulso e velocidade de sedimentação, tal como mostra o Quadro 3.3.1 <sup>37</sup>.

**Quadro 3.3.1. Classificação de Montreal para a CU (Adaptado de Satsangi et al<sup>37</sup>)**

<b>Remissão (S0)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Assintomática;</li></ul>
<b>Ligeira (S1)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Quatro ou mais dejeções por dia (com ou sem sangue);</li><li>• Ausência de qualquer doença sistémica;</li><li>• Marcadores inflamatórios normais (ESR – <i>erythrocyte sedimentation rate</i>)</li></ul>
<b>Moderada (S2)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mais de quatro dejeções por dia;</li><li>• Poucos sinais de toxicidade sistémica;</li></ul>
<b>Grave (S3)</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Mais de seis dejeções por dia;</li><li>• Pulso (&gt; 90 batimentos por minuto);</li><li>• Temperatura &gt; 37,5°C;</li><li>• Hemoglobina &lt;10,5g/100ml;</li><li>• ESR (&gt; 30 mm/h).</li></ul>

A remissão é definida como uma ausência completa de sintomas e por uma mucosa intestinal saudável e cicatrizada. No entanto, as taxas de remissão variam consoante a definição de remissão usada no ensaio.

A colite moderada (S2) difere da colite ligeira (S1) pois a eficácia de alguns tratamentos podem diferir em relação a cada uma. Por vezes, o parâmetro mais eficaz para avaliar se a colite se encontra no estágio moderado ou ligeiro é o estado de suscetibilidade da mucosa que diz respeito ao sangramento quando em contacto com a mucosa retal durante a sigmoidoscopia.

O termo “recaída”, fora dos estádios da doença ativa, pode ser utilizado para caracterizar um doente que apresente vários sintomas durante a fase controlada/inativa da doença ou que esteja em processo de remissão clínica. Este facto pode ocorrer espontaneamente ou após qualquer tipo de tratamento.

Em vários estudos verificou-se que a ocorrência de hemorragia retal é um sintoma importante na “recaída” e que a combinação de hemorragia retal com um aumento da frequência de dejeções e estado anormal da mucosa detetado na sigmoidoscopia, são parâmetros necessários para definir uma “recaída”<sup>37,40</sup>.

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

O *Mayo score* é outro parâmetro utilizado para classificar a doença no seu estado ativo e avalia o estado da mucosa retal usando uma pontuação de 0-3, avaliando várias características descritas no Quadro 3.3.2 utilizando a proctosigmoidoscopia como meio auxiliar de diagnóstico. Por exemplo, em dois estudos efetuados com infliximab (um anticorpo monoclonal quimérico que neutraliza a atividade do TNF- $\alpha$  em CU ativa, o processo de cura foi definido com uma pontuação de 0 a 1 comparado a um grupo controle sem terapêutica com uma pontuação de 2 a 3.

*Quadro 3.3.2. Mayo Score utilizado para classificar a CU (Adaptado de E.F. Stange et al<sup>41</sup>)*

<b>Parâmetro</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Frequência de dejeções</b>	Normal	1-2 Vezes/dia	3-4 vezes/dia	> 5vezes/dia
<b>Hemorragia retal</b>	Inexistente	Vestígios	Parcialmente	Maior parte
<b>Estado da mucosa</b>	Normal	Suscetibilidade média	Suscetibilidade moderada	Suscetibilidade espontânea
<b>Avaliação médica global</b>	Normal	Médio	Moderado	Severo

Apesar de esta classificação não estar totalmente validada, a relevância clínica destas definições usadas nos estudos com infliximab ajudou a melhorar a qualidade e a eficácia do diagnóstico assim como a definir qual a terapêutica mais adequada a cada pessoa aumentando a sua qualidade de vida<sup>42</sup>.

## **4. Doença de Crohn**

A doença de Crohn caracteriza-se por uma inflamação crônica descontínua transmural (ou seja, desde a camada mucosa até à camada serosa da pele), presente no trato gastrointestinal. Na maioria dos casos afeta apenas o íleo, sendo o íleo terminal e o cólon proximal o mais afetado. Contudo, a inflamação pode ocorrer desde a cavidade oral até ao reto. Ela é caracterizada por apresentar segmentos inflamados e não inflamados que podem intensificar a doença e despoletar o aparecimento de complicações <sup>43</sup>.

### **4.1 Sinais e Sintomas da Doença de Crohn**

Dependendo da localização e extensão da doença, os sinais e sintomas mais comuns são diarreia (diminuição da consistência das fezes por um período superior a 4 semanas) cólicas, dores abdominais, anorexia, presença de muco ou sangue nas fezes, fadiga e perda de peso. No entanto, também se verificam algumas manifestações extraintestinais, ou seja, inflamação que não está relacionada com o trato gastrointestinal, surgindo em cerca de 25% dos doentes. Estas manifestações incluem distúrbios músculo-esqueléticos, problemas oculares e défices nutricionais.

As fístulas, podem ser uma complicação desta doença, ocorrendo em cerca de 35% dos doentes, sendo que a fístula perianal ocorre em cerca de 20% <sup>22,39</sup>.

Ainda assim, uma das complicações mais graves das DII é a displasia que se caracteriza por uma neoplasia intraepitelial do cólon sendo diagnosticada através de várias biópsias de acordo com as características do doente (idade, complicações anteriores, exacerbações da doença ou manifestações extraintestinais). Apesar da distinção entre adenomas esporádicos e massas relacionadas com a displasia ser difícil, o tratamento deverá ser sempre adequado a cada situação <sup>44</sup>.

A displasia pode ser classificada como de baixo grau ou ligeira, que por vezes é difícil de detetar, exigindo assim mais meios auxiliares de diagnóstico ou de alto grau onde existe uma possibilidade elevada de desenvolvimento de células cancerígenas, sendo que nesta situação é totalmente recomendada a cirurgia (proctocolectomia) para remoção do cólon e reto, ficando o íleo conectando diretamente ao ânus <sup>45</sup>.

## **4.2 Diagnóstico da Doença de Crohn**

Atualmente não existe nenhum meio de diagnóstico definitivo e totalmente eficaz para a doença de Crohn, sendo o método auxiliar de diagnóstico mais usado a ileonoscopia total com biópsia. Este método pretende identificar a presença de granulomas no íleo (acúmulo de células do sistema imunitário resultantes do processo inflamativo), sendo que estes estão presentes em apenas 60% dos casos. Deste modo, pode-se afirmar que apesar de o íleo se encontrar sem alterações, isso não é suficiente para excluir o diagnóstico de DC, uma vez que cerca de 27% dos doentes apresenta a patologia localizada na porção terminal do íleo <sup>39</sup>.

A endoscopia em cápsula é um procedimento relativamente novo, não invasivo que envolve a presença de uma câmara contida dentro de uma cápsula que passa ao longo do trato gastrointestinal. A comparação entre o método da endoscopia em cápsula e o colonoscopia e ileonoscopia fornece um aumento de detecção de DC de cerca de 15%.

Os estudos imagiológicos têm aumentado a sua importância nos últimos anos como método de diagnóstico desta patologia. Entre eles estão incluídos os ultrassons, tomografia axial computadorizada (TAC) e ressonância eletromagnética (RMN).

A identificação de marcadores serológicos pode ajudar a diferenciar DC de CU quando o diagnóstico é muito ambíguo, seguido posteriormente de estudos histológicos e endoscópicos. A presença de marcadores serológicos tem sido igualmente importantes, nomeadamente os anticorpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). Os anticorpos ASCA detetam os epítomos da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, estando aumentados na DC. A geração de anticorpos ocorre devido a uma resposta anormal do sistema imunitário contra a microbiota intestinal comensal em indivíduos geneticamente suscetíveis. Este exame é importante para diferenciar se se trata de DC ou de CU <sup>39</sup>.

### **4.3 Estádios da doença de Crohn**

A classificação de Montreal é usada a nível internacional para classificar fenotipicamente a doença de acordo com diversos parâmetros, tais como a idade: A1, diagnosticado com idade igual ou inferior a 16 anos e a categoria A2 e A3 diz respeito ao diagnóstico da doença em pessoas com idades compreendidas entre os 17-40 anos e >40 anos de idade. A localização da doença, habitualmente, permanece estável imediatamente após o diagnóstico, enquanto que o fenótipo comportamental muda ao longo do tempo, evoluindo de não estenosante e não penetrante para penetrante e estenosante, tal como se encontra descrito no quadro 5.3.1<sup>37</sup>.

*Quadro 5.3.1. Caracterização da doença de Crohn (Adaptado de Satsangi et al<sup>37</sup>)*

<b>Idade do diagnóstico</b>	A1 - < 16 anos A2 - Entre 17 e 40 anos A3 - Acima dos 40 anos
<b>Localização</b>	L1 - íleo terminal L2 - cólon L3 - íleo e cólon L4 - tubo digestivo alto
<b>Comportamento</b>	B1- Não estenosante / não penetrante B2 - Estenosante B3 - Penetrante p - modificador de doença

O L4 pode ser adicionado a L1, L2 e L3 quando a doença no trato gastrointestinal superior concomitante está presente. O p (modificador da doença) é adicionado a B1, B2 e B3 quando a doença perianal concomitante está presente.

Esta classificação permite detetar a doença na parte superior do trato gastrointestinal e verificar que são mais frequentes do que se esperava e que podem coexistir com a doença localizada no íleo e no cólon. Isto foi possível devido ao desenvolvimento de meios auxiliares de diagnóstico, como a endoscopia em cápsula que ajudou a estabelecer esta classificação.

O Índice de Atividade da Doença de Crohn (CAI), estabelecido em 1976, tem como objetivos principais a identificação de um conjunto uniforme de parâmetros que podem ser aplicados a diferentes pessoas ao longo do tempo, e que são quantitativos e proporcionais à gravidade e estado da doença. Os investigadores formularam uma lista de dezoito variáveis, avaliando 112 pacientes. Desta forma, oito variáveis independentes foram identificadas, tais como a consistência das fezes, classificação numérica de presença de dor abdominal, bem-estar geral do doente, presença de sintomas extraintestinais, necessidade de fármacos antidiarreicos, presença de abscessos abdominais, hematócrito e perda de peso.

Cada variável é classificada numericamente, de 0 a 5, consoante a variável que se está a avaliar. Por exemplo, o uso de antidiarreicos é apenas classificado como 0 (não) e 1 (sim). De seguida, cada variável é multiplicada por um fator correspondente, sendo que este pode ser de 2, 5, 6, 7, 10, 20, 30 ou 100, consoante a variável que se está a analisar<sup>46</sup>. Assim sendo, este índice caracteriza o tipo/estádio da doença em ensaios clínicos sendo que apenas aceita o recrutamento de doentes que apresentem um índice superior a 220 pontos.

Contudo, a fiabilidade deste limite é baixa, uma vez que em estudos com terapêutica biológica existe uma taxa elevada de resposta em doentes a que são administrados placebos.

Posto isto, e com base no descrito acima, podemos classificar e dividir a doença de Crohn em três grupos: ligeira, moderada e grave. A ligeira equivale a um CAI de 150-220 pontos, alimentação alterada e <10% de perda de peso. Não apresenta sinais de obstrução, febre, desidratação, presença de massas abdominais e níveis de proteína C-reativa acima do limite superior do intervalo normal. Pode ser moderada, equivalente a um CAI de 220-450 pontos, caracterizando-se por episódios intermitentes de vômitos e perda de peso >10%. O tratamento usado no estágio anterior é ineficaz, apesar de não ocorrer obstrução e os níveis de proteína C-reativa podem estar acima do limite superior do intervalo normal. A grave apresenta um CAI > 450 pontos, sendo caracterizada por um Índice de Massa Corporal (IMC) inferior a 18kg/m<sup>2</sup> com formação de massas obstrutivas ou abscessos. Os sintomas, tais como desidratação, febre, dor abdominal, entre outros característicos da doença são persistentes, apesar de um tratamento intensivo, e os níveis de proteína C-reativa encontram-se muito aumentados, indicando uma atividade inflamatória muito acentuada.

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

Para caracterizar um quadro clínico em remissão, o critério usado é um CDAI inferior a 150 pontos, enquanto que superiores a 450 indicam doença muito grave. O termo de recaída é usado para definir um conjunto de sintomas num doente com DC controlada que está em remissão clínica ou após tratamento terapêutico, sendo confirmada na prática clínica através de parâmetros laboratoriais e endoscopias entre outros, enquanto que nos ensaios clínicos terá que conter um CDAI de 150 com tendência a aumentar pelo menos 70 pontos <sup>22,37,44</sup>.

## **5. A importância da microbiota intestinal**

O mutualismo entre a microbiota comensal e o seu hospedeiro reflete a evolução de uma relação que oferece vantagens metabólicas para o hospedeiro. Estes organismos comensais residem, essencialmente, no intestino onde fatores externos como a dieta e a própria microbiota interagem mutuamente mantendo a homeostasia intestinal ou provocando doença. A noção de que a composição da microbiota afeta a fisiologia do hospedeiro deriva do facto que diferentes espécies microbianas habitarem o hospedeiro em diferentes estádios do seu ciclo de vida. Deste modo, quando ocorre um desequilíbrio estrutural ou funcional das propriedades da microbiota intestinal, está-se perante um estado de disbiose <sup>47</sup>.

Foram realizados alguns estudos que relacionam a presença de alguns agentes patogénicos com a doença como, por exemplo, *Escherichia coli*, *Diplostreptococcus*, *Clostridium difficile*, *Fusobacterium necrophorum*, entre outros. Alguns autores referem que a microbiota intestinal não desempenha um papel importante nas DII e outros referem que alguns destes agentes aeróbios e anaeróbios se encontram presentes em quantidades elevadas em doentes com DII.

Contraditório ao referido, ao examinar a flora da mucosa retal em doentes com CU, foi encontrado um maior número de espécies bacterianas durante a fase remissiva da doença face aos doentes com a doença na fase ativa. Contudo, existe uma grande dificuldade em isolar o agente patogénico responsável pela doença.

Estudos feitos em ratinhos mostraram que diferentes espécies bacterianas podem desempenhar efeitos contrários, induzindo a doença no hospedeiro, mas efeitos protetores noutra estirpe roedora, e ainda que várias espécies bacterianas podem induzir fenótipos clínicos variáveis num hospedeiro geneticamente suscetível. Apesar das demais discrepâncias de resultados, existe uma evidência considerável que a microbiota bacteriana intestinal desempenha um papel importante na CU, de acordo com vários fatores: as lesões, habitualmente, aparecem frequentemente em áreas com maiores concentrações bacterianas; uma “flora” bacteriana intestinal normal é necessária para a indução da doença em modelos animais; pacientes com CU que tenham sofrido anastomose anal provocada pela cirurgia desenvolvem lesões na mucosa após colonização bacteriana e a terapêutica com probióticos resulta numa melhoria dos sintomas <sup>16,48</sup>.

## **6. Tratamento Farmacológico das Doenças Inflamatórias Intestinais**

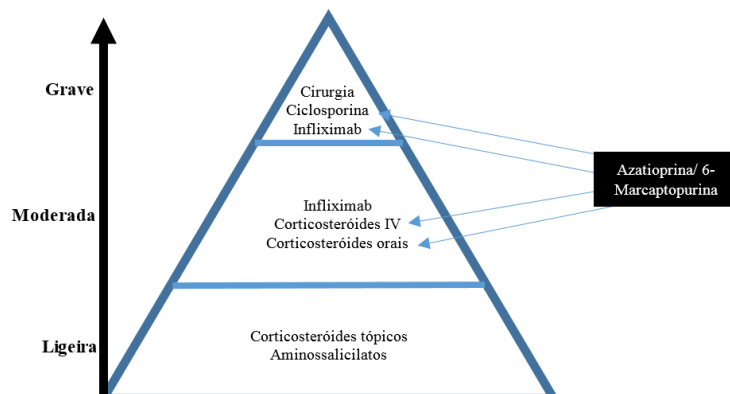
O objetivo do tratamento farmacológico, quer para a CU, quer para a DC, é a redução do processo inflamatório durante as recaídas e alargar o período de remissão dos sintomas clínicos. O tratamento depende do equilíbrio entre a eficácia e os efeitos secundários dos fármacos utilizados, tendo em conta a resposta do doente à terapêutica dita “principal”.

A escolha do tratamento deve ser feita com base na frequência de recaídas do doente, na duração e gravidade da doença e ainda na presença de manifestações extraintestinais.

Dada a complexidade da fisiopatologia das DII e de toda a sua patogénese, a terapêutica ideal seria um imunomodulador que controle eficientemente a inflamação sem criar uma imunossupressão exacerbada. Deve também criar o mínimo de reações adversas possíveis com o mínimo de translocação bacteriana possível, complicações infecciosas ou até mesmo a progressão para cancro. O tratamento difere um pouco da CU para a DC, uma vez que são patologias distintas com características fisiológicas diferentes, sendo que o tratamento clássico inclui aminosalicilatos, corticosteroides, tiopurinas, antagonistas do ácido fólico (metotrexato) e agentes biológicos anti-TNF- $\alpha$  <sup>49</sup>.

### **6.1. Tratamento farmacológico da colite ulcerosa**

Em grande parte dos casos clínicos da CU, a terapêutica deve ser aplicada de modo sequencial, tal como se encontra representado na Figura 6.1.1. Inicialmente deve-se induzir e manter a remissão da doença, de acordo, não só com a atividade e gravidade da doença (diferentes estádios), como com a resposta às diferentes classes de fármacos utilizados <sup>50</sup>.



*Figura 6.1.2. Pirâmide terapêutica na CU ativa (Adaptado de Peixe et al <sup>50</sup>)*

### **6.1.1. Aminossalicilatos**

Na CU, com atividade ligeira e durante a sua remissão, os aminossalicilatos são a terapêutica de primeira linha em Portugal, sendo o mais utilizado a sulfassalazina. A sua ação ocorre inicialmente no cólon, por ação de bactérias produtoras de azo-redutase, que transformam a sulfassalazina em sulfapiridina e ácido 5-aminossalicílico (5-ASA ou mesalazina).

A sulfapiridina funciona como transportador do 5-ASA, molécula com atividade anti-inflamatória, sendo ela também responsável pelo aumento dos efeitos adversos, como irritação cutânea, fotossensibilidade, intolerância gastrointestinal, depressão medular e agranulocitose.

Devido à intensidade e frequência destes efeitos secundários, foi realizada uma nova formulação que consiste na utilização de bactérias do cólon para libertar a molécula ativa, neste caso a 5-ASA. Durante o processo, não há formação de sulfapiridina, sendo esta terapia considerada menos tóxica, face à anterior.

A utilização a longo prazo desta classe farmacológica pode trazer complicações, e como tal, por vezes, sugere-se a utilização de formulações tópicas, sendo estas igualmente eficazes comparativamente às orais. As formulações tópicas existem sob a forma de supositórios de retenção (mais usados na proctite), clisteres e espuma (mais usados em casos de colite distal, pois permitem a libertação de mesalazina até ao ângulo esplénico).

Na CU distal, com atividade moderada, a terapêutica mais utilizada é a mesalazina tópica, ou aminossalicilatos orais. Neste estágio, quer a terapêutica oral, quer a tópica, são eficazes. Contudo, quando comparados com 5-ASA de ação tópica, os aminossalicilatos orais apresentam menor eficácia na indução da remissão da doença.

Ainda assim, os enemas de 5-ASA são preferíveis como terapêutica de manutenção relativamente aos corticoides tópicos, por estes não estarem isentos de efeitos sistémicos. Como grande parte dos doentes são intolerantes à sulfassalazina, sugere-se o início do tratamento com mesalazina, olsalazina ou balsalazida, conferindo um melhor perfil de segurança e possibilidade de serem iniciados em doses elevadas.

Na CU extensa com atividade moderada, são utilizados aminossalicilatos orais mas com doses superiores. A terapêutica tópica, nesta fase, pode ser menos eficaz, devido ao quadro de múltiplas dejeções diárias.

Num quadro de CU grave, o tratamento com 5-ASA oral poderá ser mantido em casos que o doente tolera a dieta oral total e, conseqüentemente o fármaco. Caso contrário, o uso do fármaco deve ser suspenso<sup>30,50, 51,52</sup>.

### **6.1.2. Corticosteroides**

Os corticosteroides são a classe de fármacos mais utilizada no tratamento de episódios agudos na DII, e na remissão e redução de sintomas de doentes que se encontram no estágio moderado a grave e leve a moderado da DC. Podem ser utilizados, ainda, em casos que os aminossalicilatos não tenham surtido efeito.

Os corticosteroides atuam por difusão passiva através das membranas celulares, ligando-se a recetores citoplasmáticos e o complexo recetor-corticoide altera a sua conformação. Dois complexos formam um dímero que consegue atravessar o invólucro nuclear. O dímero ativo interage com sequências de nucleótidos que respondem aos corticosteroides no núcleo ou, então, liga-se a fatores de transcrição, como NF-kB.

Deste modo, estes fármacos têm a capacidade de alterar a transcrição de genes pro-inflamatórios responsáveis pela produção de citocinas como IFN- $\gamma$ , IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 e IL-8, inibindo ainda o recrutamento de células do sistema imunitário, como os macrófagos, neutrófilos e monócitos.

Com efeito, foram reportados vários efeitos secundários a curto-prazo (por exemplo, retenção de fluidos, ganho de peso e oscilações de humor), e a longo prazo (por exemplo, aumento do risco de cataratas, osteoporose, miopia, condições associadas a supressão imunitária acima descrita e insuficiência adrenal). Em consequência, deve-se ter sempre em atenção a duração da utilização de corticosteroides e dose administrada.

Em Portugal, na CU ligeira, o corticosteroide de primeira linha é a prednisolona, sendo que deve ser sempre utilizada a dose mínima eficaz para minimizar os efeitos adversos (40mg durante 2 semanas seguido do desmame). Em relação à terapêutica administrada por via rectal, os corticosteroides mais utilizados em Portugal são a hidrocortisona, beclometasona, betametasona, prednisolona, budesonido e pode ser feita sob a forma de supositórios (em caso de proctite), clisteres de retenção e espuma (colite esquerda).

Na CU distal com atividade moderada, a terapêutica mais utilizada são os corticosteroides tópicos, nomeadamente, os enemas – hidrocortisona, prednisolona, betametasona, e mais recentemente o budesonido. Na CU extensa, a terapêutica tópica é

desaconselhada devido às múltiplas dejeções diárias, pois elimina grande parte ou a totalidade do fármaco.

Nos doentes com um quadro CU com atividade grave, há indicação para administração de corticosteroides endovenosos como a prednisolona, hidrocortisona e metilprednisolona. Caso não haja resposta terapêutica, num período entre 7-10 dias, deve-se adotar outra abordagem como antibioterapia endovenosa, cirurgia (proctocolectomia) ou anticorpos monoclonais <sup>16,50,53</sup>.

### **6.1.3. Antibióticos**

Na CU, os antibióticos demonstram-se pouco eficazes, sendo a vancomicina, metronidazol e ciprofloxacina os mais utilizados. Alguns estudos indicam que os antibióticos mostram melhorias após o início do tratamento, mas que não são eficazes a longo prazo.

No caso da CU, habitualmente, a antibioterapia reserva-se para doentes com sinais de toxicidade sistémica (colite fulminante) ou com agravamento progressivo da doença, apesar da administração concomitante com corticosteroides por via endovenosa. No entanto, em Portugal, a maioria dos protocolos de tratamento da CU num estágio grave, incluem o tratamento com antibioterapia de largo espectro de forma empírica, uma vez que pode ocorrer inflamação transmural, aumentando assim o risco de infeção bacteriana e/ou peritonite <sup>16,49,50</sup>.

### **6.1.4. Probióticos**

Como os antibióticos, por si só, não são capazes de restabelecer eficientemente o equilíbrio entre os microrganismos com propriedades benéficas e prejudiciais no intestino, uma solução para restabelecer essa homeostasia intestinal, será através de probióticos.

Os doentes com CU ativa têm frequentemente quantidades reduzidas de bactérias anaeróbias essenciais ao bom funcionamento do organismo, como as bifidobacteria, e clostridia, assim como quantidades de microrganismos facultativos baixas, quando comparado aos doentes com CU em remissão.

Os probióticos mostraram ser eficazes na CU devido ao seu modo de ação. Eles são responsáveis pela produção de ácido láctico, que reduz o pH do lúmen intestinal, inibindo o crescimento e proliferação de bactérias prejudiciais ao organismo. Assim

sendo, para um probiótico ser eficaz, deve ser seguro e bem tolerado pelo doente, chegar ao trato gastrointestinal de forma viável e mostrar uma boa adesão à mucosa.

Apesar do seu efeito não estar ainda totalmente compreendido nas DII, alguns estudos mostraram que misturas de *Lactobacillus casei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis* e *Streptococcus salivarius* induziram a remissão em doentes com UC ligeira a moderada <sup>49,50</sup>.

### **6.1.5. Imunossuppressores**

Na CU, os imunossuppressores são particularmente utilizados em casos mais graves, de doentes que desenvolvem corticodependência (impossibilidade em manter a remissão da doença com doses inferiores ou iguais a 10 mg de corticosteroides) ou corticorresistência (impossibilidade em induzir a remissão da doença com dose adequada destes fármacos).

Dentro desta classe de fármacos, os mais utilizados na CU são os inibidores da síntese de purinas, nomeadamente, a azatioprina (AZA), que durante a sua metabolização, é responsável pela formação de um metabolito hepatotóxico: a 6-metilmercaptipurina (6-MMP). O seu efeito anti-inflamatório deve-se à supressão da atividade de células NK e perda de função dos linfócitos T.

Apesar de serem eficazes, mostram efeitos adversos graves, como náuseas, vômitos, pancreatite, febre, irritação cutânea e artralgias. Contudo, são fármacos utilizados há várias décadas no tratamento da CU em Portugal, e apresentam no geral, bom perfil de segurança e eficácia a curto e longo prazo.

Outro fármaco muito utilizado na CU em casos de corticorresistência ou em estádios mais graves da doença é a ciclosporina, um fármaco imunossupressor responsável por inibir a atividade dos linfócitos T impedindo a produção de IL-2, IL-3 e IL-4, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ . A sua administração deve ser feita por via endovenosa, uma vez que a ciclosporina oral apresenta menos biodisponibilidade sistémica.

Apesar de todas estas vantagens, a ciclosporina não é eficaz em monoterapia, sendo necessário a administração conjunta com AZA ou 6-MP para uma remissão da doença a longo prazo e ainda apresenta diversos efeitos secundários (toxicidade) como: náuseas, hipertensão, vômitos, cefaleias, nefrotoxicidade, entre outros, sendo fundamental a monitorização dos seus níveis plasmáticos.

Outro imunomodulador com um mecanismo de ação e perfil muito semelhante ao da ciclosporina é o tacrolimus; contudo, é muito mais potente, provocando efeitos secundários muito mais graves<sup>16,50,54</sup>.

### **6.1.5. Anticorpos Monoclonais**

Os agentes anti-TNF- $\alpha$  são anticorpos monoclonais (mAbs) que neutralizam o processo inflamatório da mucosa gastrointestinal por inibição do TNF- $\alpha$ . O primeiro anticorpo a ser criado nos EUA foi o infliximab. É uma imunoglobulina quimérica 75% humana e 25% murina. Administrado por via endovenosa, é mais eficaz no tratamento da DC. Contudo, também apresenta eficácia em quadros clínicos mais graves da CU num estágio moderado a grave. Ele é utilizado em casos de corticorresistência e em alternativa à cirurgia.

Em casos de CU num estágio moderado a grave, ajuda a manter a remissão, a sarar a mucosa e a diminuir o uso de esteroides para lá de cerca de 54 semanas, e em casos de estádios mais graves, em doentes que apresentem resistência a glucocorticoides, uma única infusão de 5 mg/kg ajuda a prevenir a cirurgia durante algum tempo.

O grande problema com este fármaco é que uma grande parte dos doentes desenvolvem anticorpos contra o mesmo, designados por *human antichimeric antibodies* (HACAs), devido à presença de sequências não humanas na região variável do anticorpo.

Infusões esporádicas de infliximab resultam, mais frequentemente, na formação de HACAs, do que na manutenção da terapêutica.

Atualmente, sabe-se que a administração em conjunto de um análogo de purinas, como por exemplo a mercaptopurina (6-MP) aumenta a eficácia do infliximab na UC, uma vez que reduz a formação de anticorpos<sup>2,22,50,55</sup>.

Estudos com outros anticorpos, como o adalimumab, um anticorpo monoclonal da classe IgG1 totalmente humanizado anti-TNF- $\alpha$ , mostraram a sua eficácia no tratamento da CU moderada a grave em adultos que não respondam a imunomoduladores. Uma vez que os efeitos secundários associados foram raros, em 2012, o adalimumab foi aprovado pela FDA (*US Food and Drug Administration*)<sup>56</sup>.

Mais recentemente, em 2013, o golimumab, outro anticorpo monoclonal IgG1 contra o TNF- $\alpha$ , administrado por via subcutânea, foi igualmente aprovado pela FDA e pela EMA (*European Medicines Agency*) também para o tratamento da CU moderada a

grave, quando existe alguma contraindicação ou resistência à terapêutica convencional com corticosteroides ou imunomoduladores. Este composto tem mostrado eficácia na remissão da doença numa fase inicial e na sua manutenção a longo-prazo, caracterizado por vastos efeitos secundários como cefaleias ou pequenos problemas infecciosos <sup>57</sup>.

#### **6.1.6. Cirurgia**

Em casos mais graves de CU, como, por exemplo, se não se conseguir alcançar melhorias através do tratamento farmacológico intensivo por um período de 72h, doença fulminante, cólon megalotóxico, perfuração do cólon, hemorragias, doenças extraintestinais, obstruções, entre outros, deve recorrer-se à intervenção cirúrgica. A CU é tratável através da cirurgia se as manifestações ocorrem ao nível do cólon e reto.

A proctocolectomia com construção da bolsa íleo-anal é a cirurgia de eleição na CU, uma vez que garante a remoção completa da porção que contém a inflamação com posterior restauração e ligação de ambas as partes. Após o procedimento cirúrgico, os doentes podem interromper a terapêutica imunossupressora e imunomoduladora, evitando assim potenciais efeitos secundários. De referir ainda que tal procedimento reduz em grande percentagem o risco de desenvolvimento de cancro colorretal <sup>50,58</sup>.

## **6.2. Tratamento farmacológico da Doença de Crohn**

### **6.2.1. Aminossalicilatos**

Tal como na CU, os aminossalicilatos mais utilizados na DC ligeira para induzir a remissão localizada no íleo e/ou cólon são a sulfassalazina e o 5-ASA/messalazina, sendo estes considerados os ideais para uma terapêutica de manutenção.

A sulfassalazina, devido à sua estrutura química e à circulação enterohepática, atinge o cólon, na sua forma intacta, em cerca de 90%, sendo aí dividida em 5-ASA e sulfapiridina (cf. 6.1.1).

Tendo em conta que a messalazina é rapidamente absorvida no íleo proximal, investigou-se de modo a encontrar formulações de 5-ASA que atingissem outras localizações da doença ao longo de tudo o sistema gastrointestinal, com outras propriedades farmacocinéticas, sendo elas: formulações com microgrânulos, preparações pH-dependentes revestidas por uma resina acrílica e pró-fármacos com uma estrutura química sujeita à ação de bactérias produtoras de azo-redutase (cf. 6.1.1).

As formulações de microgrânulos de 5-ASA desintegram-se lentamente após administração, ao longo de todo o trato gastrointestinal, libertando o fármaco deste o duodeno até ao reto, não dependendo do pH.

A utilização de pró-fármacos com estrutura química sujeita à ação de bactérias azo-redutase é útil na medida em que estas bactérias no cólon vão quebrar a ligação azo da sulfassalazina e libertar o fármaco ativo (5-ASA) no local <sup>50,59,60,61</sup>.

### **6.2.2. Corticosteroides**

Durante muitos anos, os corticosteroides foram a primeira linha terapêutica para a DC, na fase ativa da doença, na indução da remissão, sendo que, hoje em dia, é a classe farmacológica mais escolhida no tratamento de exacerbações da doença pela sua ação eficaz em regular a transcrição de genes pro-inflamatórios.

Na DC com atividade ligeira, localizada no íleo e/ou cólon ascendente, devido à panóplia de efeitos secundários associados aos corticosteroides, adotou-se a administração tópica, via oral, de budesonido, pois apesar de apresentar baixa biodisponibilidade oral, é menos tóxico e mais eficaz na indução da remissão da DC. Contudo, não se mostrou eficaz na terapêutica de manutenção.

Os corticosteroides de ação sistêmica são a terapêutica convencional de primeira linha em doentes com DC ativa, com atividade moderada a grave, nomeadamente a prednisona e prednisolona, hidrocortisona e metilprednisolona.

O budesonido também pode ser utilizado nesta fase da doença, com localização íleal ou íleo-cólica. É administrado por via oral, por libertação íleal controlada, sendo uma alternativa aos corticosteroides sistêmicos, evitando potenciais efeitos secundários dos mesmos. Tal como os de ação sistêmica, o budesonido não impede a recidiva em doentes com DC quiescente.

Pode-se rematar assim que, o início do tratamento com corticosteroides na DC presume sempre a consideração de tratamentos alternativos na terapêutica de manutenção, a longo prazo<sup>22,49</sup>.

### **6.2.3. Antibióticos**

Na DC ligeira, os antibióticos mais utilizados na indução da remissão e manutenção são o metronidazol e a ciprofloxacina, apesar da sua eficácia nestes casos ainda não estar totalmente comprovada. No entanto, a sua maior utilização é em doentes que apresentam fistulas, abscessos e doença perianal.

O metronidazol é um imidazole sintético com ação em microrganismos anaeróbios (Gram negativos e protozoários). A sua ação imunomoduladora ainda não está bem esclarecida, sabendo-se apenas que atua a nível da síntese de ácidos nucleicos das células bacterianas.

A ciprofloxacina é uma fluoroquinolona com um espetro de ação que engloba bactérias Gram-negativas, atuando na síntese de DNA bacteriano.

Estes antibióticos são utilizados principalmente em complicações infecciosas que possam ocorrer nesta fase. Contudo, a sua utilização nesta fase (manutenção) é desaconselhada devido não só à grande incidência de efeitos secundários, como ao facto dos resultados terapêuticos obtidos serem inferiores aos dos corticosteroides e aminossalicilatos.

A terapêutica antimicrobiana pode levar a disbiose, que resulta num deterioramento bacteriano intestinal e agravamento da doença.

Em casos de DC grave penetrante, ou seja, com formação de fístulas simples ou complexas, se a doença estiver em remissão, pode-se recorrer a antibioterapia. Cerca de 50-80% dos doentes com fistulas ou lesões perianais obtiveram sucesso terapêutico no tratamento com doses elevadas de metronidazol ou ciprofloxacina. Caso não se

obtenha efeito terapêutico, deverá recorrer-se a um procedimento cirúrgico: fistulotomia 22,49,50.

#### **6.2.4. Probióticos**

Os efeitos terapêuticos provenientes de probióticos na DC, ocorrem devido à sua ação competitiva com a microbiota comensal patogénica e à influência da resposta do sistema imunitário à inflamação. Apesar de, na DC, não existirem tantos estudos que comprovem a eficácia deste tipo de compostos, há relatórios que garantem a efetividade de alguns, nomeadamente, a *E. coli*, *Saccharomyces boulardii* e *Lactobacillus rhamnosus* <sup>62</sup>.

#### **6.2.5. Imunossuppressores**

Tal como na CU, a terapêutica de primeira linha para DC com atividade moderada a grave são os análogos de purinas AZA e 6-MP.

Para além da sua elevada capacidade em induzir a remissão, as tiopurinas são uma alternativa aos corticosteroides, apesar de apresentarem um início de atuação tardio na indução da remissão. Contudo, se se adicionar as tiopurinas aos corticosteroides em doses mais baixas, aumenta em larga escala a taxa de remissão da doença.

Tal como todos os outros, as tiopurinas são fármacos com elevada incidência de efeitos secundários como perdas sanguíneas, outras infeções, sintomas gastrointestinais, hipersensibilidade cutânea, hepatotoxicidade, entre outros.

O metotrexato (MTX) é considerada a primeira alternativa às tiopurinas no tratamento da DC corticorresistente e corticodependente, por apresentar um início de atuação terapêutica mais rápido. O MTX é um antagonista do ácido fólico, e o seu mecanismo de ação centra-se na sua capacidade de inibir algumas enzimas relacionadas com as vias biossintéticas dos folatos, purinas e pirimidinas. Esta inibição faz aumentar os níveis extracelulares de adenosina que estão relacionados com as propriedades anti-inflamatórias do MTX. Contudo, devido à sua elevada hepatotoxicidade, é necessário, antes da administração, a realização de uma biópsia hepática e ainda a administração concomitante de suplementos de ácido fólico <sup>49,50</sup>.

O tacrolimus e a ciclosporina são ambos inibidores da calcineurina e igualmente utilizados no tratamento da DC, habitualmente em doentes com falha terapêutica aos corticosteróides e ao infliximab (uma vez que é o anticorpo monoclonal de primeira

linha). O tacrolimus é considerado a primeira opção para o tratamento de fístulas derivadas da DC <sup>63,64</sup>.

#### **6.2.6. Agentes biológicos**

Sendo o infliximab um anticorpo que neutraliza a atividade do TNF- $\alpha$ , está indicado na indução e manutenção do estado de remissão em doentes com DC moderada a grave que não tenham respondido ao tratamento convencional.

A combinação do infliximab com a azatioprina é mais eficaz do que apenas com o infliximab.

No entanto, tal como referido na Secção 6.1.5, o desenvolvimento de HACAs levou à criação de novos anticorpos monoclonais humanizados, como o adalimumab, que foram aprovados para manutenção e remissão clínica. Apesar de não serem muito comuns, tanto o infliximab como o adalimumab apresentam alguns efeitos secundários, tais como eventos hematológicos, hipersensibilidade, hepatotoxicidade, entre outros.

A administração conjunta do infliximab com azatioprina é mais eficaz do que apenas só com infliximab para induzir a remissão sem corticosteroides e para tratar a mucosa intestinal na DC. Segundo Colombel *et al.* <sup>65</sup>, o estudo biológico e imunomodulador em doentes com doença de Crohn mostrou que o infliximab em monoterapia é melhor na indução da remissão da doença e cicatrização da mucosa do que apenas a azatioprina.

Na DC fulminante (com formação de fistulas perianais), se a fistula for simples ou complexa e não houver doença retal em atividade, deve utilizar-se infliximab e azatioprina. Caso não resulte, deverá recorrer-se a procedimentos cirúrgicos, como a fistulotomia.

Um anticorpo monoclonal, recentemente aprovado na remissão da doença em doentes com DC moderada a grave é o vedolizumab (VDZ). O VDZ é uma imunoglobulina monoclonal humanizada, mais concretamente uma anti-integrina- $\alpha\beta$ . Também é utilizado em doentes que não respondem à terapêutica convencional anti-TNF- $\alpha$  <sup>22,55, 66</sup>.

### **6.2.7. Cirurgia**

A maioria dos doentes com DC requerem cirurgia durante alguma fase da vida. Um dos procedimentos que pode ser praticado é a “estenoplastia” em doentes que apresentam várias estenoses ao longo de um determinado segmento do íleo e com risco elevado para síndrome do cólon irritável, com exceção de grandes segmentos com estenose. Contraindicações para este procedimento são outros episódios inflamatórios agudos como fístulas, abscessos ou cancro.

Quando a doença ocorre no cólon, o alvo principal é o íleo terminal. Estenoses pequenas podem ser tratadas através de dilatação endoscópica. A cirurgia é indicada para doentes que apresentem obstrução refratária – ressecção ileocecal.

Em casos de emergência (sangramento, perfuração) é aconselhada uma colectomia subtotal. Em casos com doença retal com proctite persistente ou formação de fístulas/abscessos, deve ser executada uma proctocolectomia.

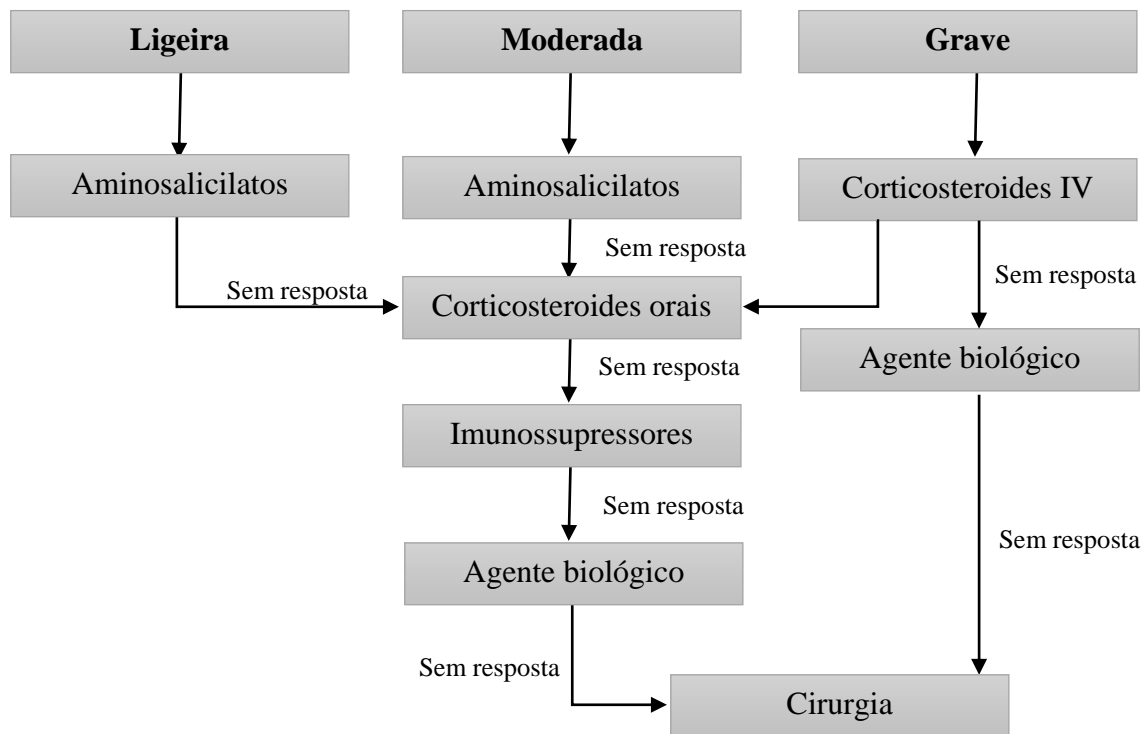
Pode também ser executada, ainda, uma ostomia (no íleo ou no cólon), em doentes que apresentem fístulas perianais, ano/retovaginais, estenoses, incontinência retal e proctite refratária. Uma proctocolectomia completa e ileostomia é o procedimento de escolha para doentes com pancolite, proctite, fístulas/abscessos perianais e incontinência anal <sup>67</sup>.

### **6.2.8. Algoritmo Terapêutico para a DC**

A melhor abordagem terapêutica para a DC ainda não está totalmente definida, uma vez que existem autores com afirmações divergentes em relação ao melhor algoritmo terapêutico utilizado: *top-down* ou *step-up*. A abordagem *top-down* é feita com agentes biológicos com ou sem imunossuppressores como terapêutica de primeira linha, ou seja, utiliza um fármaco muito potente numa fase inicial da doença, num estado ativo grave da doença. A abordagem *step-up* usa aminossalicilatos, esteroides tópicos ou sistémicos como terapêutica inicial, seguido de imunossuppressores e posteriormente de agentes biológicos.

Assim sendo, o fármaco de escolha para o tratamento da DC é centrado na eficácia, nos efeitos secundários, gravidade da doença, localização e alvos específicos da doença ao longo do trato gastrointestinal. Contudo, o risco-benefício e efetividade-custo devem ser sempre muito bem avaliados quando a estratégia de tratamento é estabelecida <sup>68,69</sup>.

O algoritmo terapêutico para os diversos estádios da DC, utilizado nos EUA, encontra-se representado na Figura 6.2.8.1 <sup>22</sup>.



*Figura 6.2.8.1. Algoritmo do tratamento da DC nos diversos estádios da doença, nos EUA (Adaptado de Chan et al <sup>22</sup>)*

As abordagens *step-up* convencionais na DC juntamente com o uso concomitante de fármacos que apresentem baixa toxicidade e novas abordagens *top-down* com o uso desde cedo de agentes biológicos são eficazes na remissão da doença a curto prazo, sendo que a segunda é mais eficaz na manutenção da remissão, diminuição de potenciais recaídas, redução de administração de corticosteroides e potenciais complicações a longo prazo <sup>69</sup>.

Deste modo, devido à complexidade da DC, é estritamente necessário a seleção de uma estratégia terapêutica adequada às necessidades e características de cada doente, até porque o surgimento de novos fármacos é uma constante e a associação destes com outras terapias alternativas é uma mais-valia no controlo da remissão da doença e potenciais recaídas.

## **7. A Fitoterapia na atualidade**

A fitoterapia baseia-se no uso das plantas ou extratos de plantas para o tratamento de algumas doenças.

O isolamento de constituintes com atividade farmacológica e o início da síntese química na obtenção de novas moléculas, sempre tivera maior relevância nos países em desenvolvimento, face aos países em desenvolvimento. Contudo, a partir da década de '60, os países desenvolvidos começam a ganhar maior interesse pela fitoterapia, uma vez que os “novos” fármacos vegetais e da infusão dos mesmos, cozimento e tinturas, deram lugar a formas farmacêuticas mais elaboradas como os comprimidos, cápsulas, geles, nebulizadores, etc. Deste modo, a fitoterapia atualmente, deixou de se fundamentar no uso tradicional, passando ao contrário do que se verificava anteriormente, a centrar-se mais na qualidade, eficácia e segurança <sup>70</sup>.

Segundo o Decreto-Lei 196/2006 “Estatuto do Medicamento”, um medicamento à base de plantas é *“qualquer medicamento que tenha exclusivamente como substâncias ativas uma ou mais substâncias derivadas de plantas, uma ou mais preparações à base de plantas ou uma ou mais substâncias derivadas de plantas em associação com uma ou mais preparações à base de plantas.”* Por outro lado, as preparações à base de plantas são preparações obtidas através do tratamento de substâncias derivadas de plantas. Esses tratamentos podem ser a extração, destilação, fracionamento, purificação, fermentação, entre outros. Deste modo, preparações podem ser substâncias derivadas de plantas pulverizadas (pós), tinturas, extratos, óleos essenciais, sucos e exsudados transformados.

Este tipo de medicamentos destina-se a ser administrados de acordo com uma dosagem e posologia específica, por uma ou mais vias, e que possam demonstrar efeitos farmacológicos de eficácia e segurança, tendo em conta a utilização por longos períodos.

O uso da terapêutica convencional acarreta muitos efeitos secundários para o doente e continua a ser um desafio clínico. Desta forma, alternativas a este tipo de terapêutica são muito procurados pela população, sendo que cerca de 50% de doentes que padecem de DII já experimentaram as terapias ditas “naturais” <sup>71</sup>.

O uso de terapias alternativas na população em geral tem aumentado muito nos últimos anos, assim como em doentes com DII. Tanto que no consenso recente da

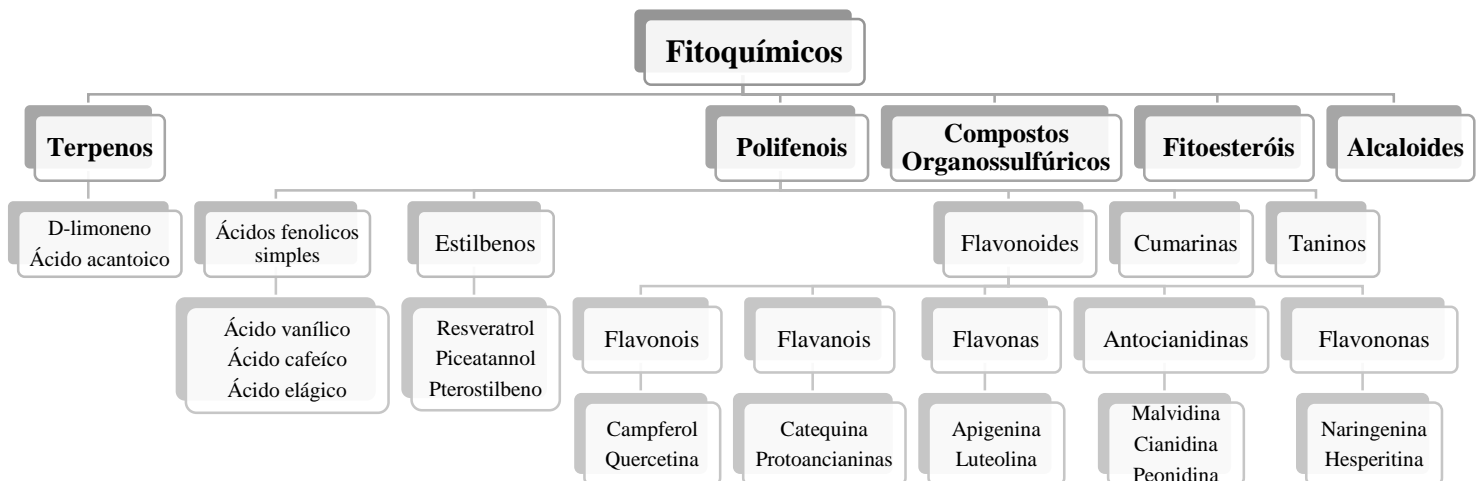
ECCO (*European Crohn and Colitis Organization*), foram estabelecidos capítulos específicos referentes a este tipo de terapêutica, fazendo ainda um comunicado onde questionava os doentes sobre o uso de medicinas alternativas.

Segundo a análise feita por Fernández *et al*<sup>72</sup> em doentes com DII em dois hospitais distintos em Espanha, a percentagem de adesão a terapias alternativas, como produtos à base de plantas, aloé vera, hidroterapia, entre outros foi de 26.5% para a DC e 20.3% para a CU<sup>72</sup>.

Os compostos derivados de plantas demonstraram resultados promissores em modelos farmacológicos de inflamação e a eficácia de alguns foi também avaliada em fases iniciais de ensaios clínicos. Os metabolitos obtidos através de várias plantas com propriedades anti-inflamatórias incluem terpenoides, polifenóis, compostos organossulfúricos, fitoesteróis e alcaloides, assim como outros compostos com estruturas semelhantes, tal como se encontra na Figura 7.1<sup>73</sup>.

Estes compostos são designados de fitoquímicos, uma vez que são os químicos que se encontram em diversas plantas. Eles são compostos bioativos não nutritivos, presentes em plantas (folhas, flores, frutos), vegetais e grãos.

Grande parte destes metabolitos afetam a atividade do NF-κB, enzimas modeladores e fatores de transcrição ou redução da secreção de citocinas<sup>73,17</sup>.



*Figura 7.1. Classificação de fitoquímicos com potencial uso nas DII (Adaptado de Somani et al.<sup>73</sup>)*

Em adição, para avaliar a atividade anti-inflamatória dos produtos naturais em modelos biológicos *in vivo* e *in vitro*, alguns estudos da relação estrutura-atividade

foram realizados com o objetivo de encontrar a relação entre as propriedades químicas e a atividade anti-inflamatória de modo a otimizar a sua estrutura química <sup>17</sup>.

### **7.1. Modelos biológicos utilizados nas DII em Fitoterapia**

Durante a última década, a descoberta de vários modelos biológicos desenvolveu a capacidade para desenvolver a próxima geração de terapias para das DII assim como estudar a complexidade das doenças.

Os resultados obtidos com cada modelo ajudam-nos a definir novas estratégias terapêuticas e a estabelecer, num cenário pré-clínico, a segurança e a eficácia destes mesmos tratamentos antes do seu uso em humanos. O facto de existirem vários modelos, significa que nenhum deles é perfeito, e como tal, é crucial avaliar bem qual a questão a ser estudada de modo a identificar qual o modelo mais adequado para o estudo em questão <sup>74</sup>.

Os modelos animais mais utilizados incluem o modelo da colite quimicamente induzida, modelo da transferência celular e modelos animais geneticamente alterados (engenharia genética) <sup>75</sup>. Os modelos animais são desenhados de acordo com o problema imunitário da mucosa, que é considerado o mais importante no desenvolvimento das doenças. Assim sendo, um modelo pode mimicar as anomalias na permeabilidade e integridade da camada epitelial, nas células do sistema imunitário inato e adaptativo.

As tentativas de criar um modelo experimental de indução de DII através da administração de químicos têm continuado ao longo dos últimos anos, apesar destes não serem modelos ideais. Isto deve-se ao facto de complicações genéticas, imunológicas, ambientais e fisiológicas que ocorrem nas DII não poderem ser produzidas simultaneamente. A grande maioria dos estudos utiliza os modelos TNBS-etanol (ácido-2,4,6-trinitrobenzenesulfónico), DSS (sulfato de dextrano de sódio) ou colite induzida por ácido acético em ratinhos ou ratos <sup>21</sup>.

Estudos recentes mostraram que a inflamação crónica induzida em ratinhos pode ser alcançada através da administração de DSS durante 2 meses. Em contraste, a administração oral numa concentração de cerca de 1-5% em aproximadamente 1 semana, induz inflamação aguda no intestino. De um modo geral, a DSS despoleta a inflamação através da disrupção da barreira epitelial, causando lesões a nível vascular e

da mucosa, expondo a lâmina própria e o conteúdo luminal. Desta forma, esta exposição permite uma ativação de um processo inflamatório, resultando no aumento da produção de citocinas inflamatórias TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-12 e IFN- $\gamma$ . A longa exposição ao DSS aumenta a expressão da IL-4 e IL-5, sugerindo que a colite induzida por DSS é mediada pelos linfócitos Th1 e Th2 <sup>76</sup>.

Para se tornar quimicamente ativo, o TNBS tem de ser solubilizado em etanol, e é a mistura resultante que induz inflamação intestinal, através da alteração de proteínas do hospedeiro, que o organismo reconhece como *non-self*. O etanol atua também como um agente irritante que contribui para danificar a barreira epitelial.

Apesar do TNBS ser usado inicialmente para estabelecer uma inflamação intestinal aguda em modelos animais, também é capaz de causar inflamação crónica em roedores. Nas inflamações agudas em ratinhos, a resposta imunitária inicial segue uma resposta pro-inflamatória Th1, aumentando a expressão da IL-12, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Um aumento brusco da produção de IL-23 indica o início de colite crónica em ratinhos, e à medida que a colite progride, o perfil de citocinas altera-se para um resposta dominante de Th17, evidenciado por um aumento da expressão da IL-17 e IL-25, que por ultimo se altera para um resposta imunitária dominada pelo aumento de IL-13 <sup>76</sup>.

Estes dois modelos anteriormente referidos são mais eficazes para situações de CU do que para a DC, uma vez que estes modelos são restritos ao colón e nenhum apresenta fibroses significativas como aquelas que são provocadas noutros protocolos experimentais <sup>77</sup>.

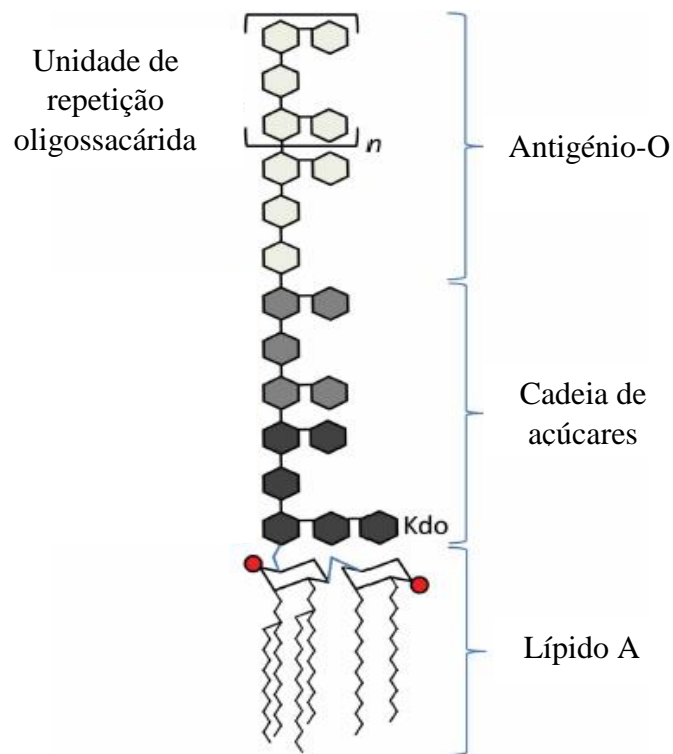
O ácido acético é outro composto químico muito utilizado para induzir colite em ratinhos em modelos experimentais, uma vez que é de fácil indução. Habitualmente, a administração faz-se por via intrarectal, de uma solução de ácido acético diluída que causa inflamação que não é transmural, caracterizada pelo aumento da infiltração dos neutrófilos no tecido intestinal, necrose da camada mucosa e submucosa, dilatação vascular, edema e presença de úlceras. Estudos revelaram que a forma protonada do ácido acético liberta protões no meio intracelular, sendo estes os possíveis responsáveis pela acidificação do meio, causando danos na camada epitelial.

Tendo em conta o papel do stress oxidativo nas DII, a metabolização do ácido acético no organismo leva à produção de ROS que incluem superóxidos, radicais hidroxilo, peróxido de hidrogénio e outras espécies azotadas que se encontram aumentadas nos doentes com DII. Deste modo, a colite induzida por ácido acético em

ratinhos pode ser considerada um desequilíbrio entre as espécies oxidantes e antioxidantes do composto.

Tal como referido na Secção 2.2.1., a infiltração dos neutrófilos leva a uma produção de anião superóxido e à produção de várias espécies reativas, o que leva progressivamente, à necrose do tecido e disfunção da mucosa <sup>78</sup>. As bactérias Gram-negativas fazem parte da microbiota intestinal e, como tal, na indução de colite em ratinhos através de modelos anteriormente referidos, que pode estar associada a uma alteração da “flora” existente no colón. De facto, foi detetado um número elevado de bactérias Gram-negativas patogénicas oportunistas em tais casos.

Os LPS que se encontram na parede celular das bactérias Gram-negativas ou que são libertadas da sua parede celular são componentes inflamatórios muito fortes. Os LPS são constituídos por 3 partes: lípido A, que é reconhecido pelos recetores das células *toll-like* (TLR4) e o seu coreceptor MD2 nas células hospedeiras; uma cadeia de açúcares (ácido 3-desoxi-D-*mano*-oct-2-ulosónico) um oligossacárido e o antígeno O, que consiste na repetição de cadeias oligossacáridas, tal como se pode observar através da Figura 7.7.1. <sup>79</sup>.



*Figura 7.1.1. Estrutura básica de um lipossacárido (adaptado de Maeshima et al <sup>79</sup>)*

A porção do lípido A é responsável pela atividade biológica dos LPS, enquanto estudos recentes sugerem que a cauda polissacárida determina as propriedades antigénicas. Os LPS são um dos estimuladores mais potentes da atividade associada ao TNF- $\alpha$ , uma vez que são reconhecidos pelo complexo TLR4-MD2 levando à ativação do fator de transcrição NF- $\kappa$ B e posterior produção de citocinas pro-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$  e a IL-6.

Um gene único, *LPS*, no cromossoma 4 presente nos ratinhos, regula a resposta do hospedeiro à porção do lípido A. As moléculas LPS são muito potentes pois, ao funcionarem como endotoxinas, ativam a concentração de macrófagos abaixo de 1 nM, atuando como um fator patogénico utilizado para promover a inflamação em diversos estudos relacionados com a CU e a DC <sup>80,81</sup>.

O modelo PG-PS (peptidoglicano-polissacárido) é um modelo experimental utilizado em ratinhos e está mais relacionado com a DC, pois alcança também a região terminal do íleo e a região direita do colón. Neste modelo, as características histológicas incluem inflamação granulomatosa e fibrose proeminente e ainda manifestações extraintestinais como artrite, observada em doentes que padecem de DC <sup>77</sup>. A inflamação é induzida através de uma laparotomia, seguida de uma injeção intramural de um composto estéril, purificado, de uma parede celular muito pouco degradada de bactérias, constituído por peptidoglicano e polissacáridos derivados de *Streptococcus* (PG-APS).

Tem sido demonstrado que o PG-PS quando administrado a ratinhos causa estimulação de citocinas inflamatórias como a IL-1. O aumento da produção de NO após administração de PG-PS também foi identificado <sup>78</sup>.

## 8. Classificação química dos compostos naturais utilizados nas DII

### 8.1 Alcaloides

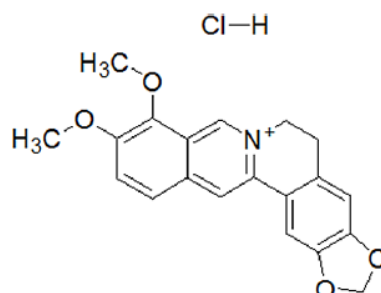
O termo *alcaloide* refere-se a uma substância básica que contém um ou mais átomos de azoto na sua estrutura, e que, normalmente, estão inseridos num anel aromático.

Os alcaloides são compostos azotados que apresentam grande atividade biológica, estando presentes em algumas plantas, habitualmente combinados com ácidos orgânicos, formando sais solúveis. A maioria dos alcaloides são oxigenados, pelo que são sólidos e cristalinos, ao contrário dos não oxigenados, que são líquidos. Quando estão sob a forma básica, são insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Isto faz com que sejam compostos com bom potencial terapêutico uma vez que atravessam membranas com facilidade.

Por apresentarem uma reduzida margem de segurança, a utilização das plantas que os contêm tem sido relativamente baixa, uma vez que é necessário conhecer muito bem a quantidade de alcaloides existentes em cada planta <sup>17,70</sup>.

Quimicamente, podemos classificar os alcaloides de acordo com a sua estrutura química em: piridínicos e piperidínicos (como a lobelina e a nicotina), quinolínicos (quinina e quinidina), isoquinolínicos (como a tubocurarina, emetina e alcaloides do ópio), indólicos (por exemplo, vinblastina, camptotecina e quinina), imidazólicos (pilocarpina), tropanicos (hioscina, hiosciamina e atropina) e ainda em bases purínicas, como a cafeína e a teobramina <sup>82</sup>.

Por exemplo, a berberina (5,6-dihidro-9,10-dimetoxibenzo-1,3-benzodioxolo[5,6-a]quinolizínio) é um alcaloide isoquinolínico presente em várias plantas como a *Hydrastis canadensis*, *Berberis aquifolium* e a *Berberis vulgaris*.



*Figura 8.1.1 Estrutura química da berberina (Adaptado de Li et al <sup>83</sup>)*

Vários estudos experimentais ao longo dos anos demonstraram as suas variadas ações farmacológicas: anti-inflamatórias, antidiabéticas, cardioprotetoras e antiarrítmicas.

Num episódio de colite induzida por DSS, a berberina ajuda na perda de peso corporal, no comprimento do cólon e diminui a atividade das citocinas TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-17.

Estudos mais recentes mostraram ainda que ajuda também a prevenir a integridade intestinal, preservando os complexos presentes nas junções apicais e diminuindo a apoptose celular <sup>73</sup>.

Li *et al* <sup>83</sup> investigou a atividade pré-clínica da terapêutica convencional com 5-ASA juntamente com berberina na colite induzida por DSS em ratinhos. Os resultados mostraram que comparando com a 5-ASA isoladamente, juntamente com a berberina, o grau de gravidade da doença diminuiu, havendo um encurtamento do tamanho do cólon e diminuição das lesões histológicas da mucosa. Para além destes factos, os níveis de TNF- $\alpha$  e de NF- $\kappa$ B foram mais elevados nos ratinhos tratados com a combinação de ambos os fármacos, do que apenas com 5-ASA.

## **8.2 Terpenos**

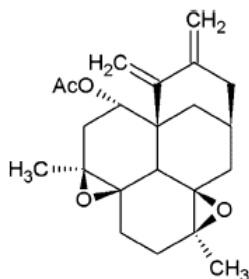
Os terpenos, igualmente conhecidos como terpenoides ou isoprenoides são compostos por um esqueleto base formado por 5 carbonos (C5) e tipicamente classificados em vários grupos de acordo com o número de carbonos que contêm: hemiterpenos (C5), monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C20), triterpenos (C30) e politerpenos, constituídos por uma cadeia longa, com mais de 30 carbonos <sup>84</sup>.

Este grupo é considerado a maior família de compostos e tem sido associada a todos os tipos de atividade biológica, incluindo atividade antimicrobiana, antiparasitária, antitumoral e, essencialmente, anti-inflamatória <sup>80</sup>.

O andalusol (*1R,3S,4S,4aR,8S,8aS*)-8-(hidroximetil)-3,4a,8-trimetil-4-(3-metilidene-pente-4-en-1-il)decahidro-1,3-naftalenediol, um diterpeno encontrado e identificado em extratos da planta *Sideritis foetens*, reduziu o processo inflamatório em ratinhos com CU induzida por ácido acético <sup>17</sup>.

Heras *et al* <sup>85</sup> mostraram que o andalusol tem propriedades inibitórias do NF- $\kappa$ B, sendo este o principal responsável pela expressão da NOS em resposta ao LPS e ao IFN- $\gamma$ . Este composto foi responsável ainda pela inibição de complexos de NF- $\kappa$ B formados no citosol.

Outro diterpeno com efeito anti-inflamatório foi o hipoestóxido, que é extraído da planta *Hypoestes rosea*, da família *Acanthaceae*, uma planta medicinal muito utilizada na Nigéria. A sua estrutura básica é um anel tetracíclico de carbonos saturados com dois epóxidos e um grupo acetoxi, tal como representado na Figura 8.2.1.



*Figura 8.2.1. Estrutura química do hipoestóxido* <sup>17</sup>.

Em concentrações superiores a 100  $\mu$ M, conseguiu reduzir a atividade do TNF- $\alpha$  e IL-6 em linfócitos ativados por LPS, estimulando estas células, sem mostrar efeitos citotóxicos. É responsável pela inibição de produção de NO através da estimulação da IL-1 e IL-17 presentes nos condrócitos humanos.

Esta atividade anti-inflamatória pode estar relacionada com o facto de o hipoestóxido inibir a ativação do NF- $\kappa$ B nas células HeLa, por inibição direta da atividade da I $\kappa$ B. Este mecanismo de inibição permanece desconhecido. Contudo, é possível que esteja relacionado com uma alteração da ligação covalente da subunidade da I $\kappa$ B no grupo funcional <sup>17,86</sup>.

Vários estudos mostraram que as latonas sesquiterpénicas também apresentam atividade anti-inflamatória, devido à presença de determinados grupos na sua estrutura. Um composto que pertence a este grupo é o partenólido, que é uma substância que é extraída da *Tanacetum parthenicum*, sendo este também um potente inibidor do NF- $\kappa$ B. O partenólido interferiu com a ativação do NF- $\kappa$ B por inibir a fosforilação da I $\kappa$ B, um passo que leva à degradação do NF- $\kappa$ B pelo proteossoma, como descrito anteriormente <sup>17</sup>.

Os canabinoides são compostos terpenofenólicos quimicamente relacionados com os terpenos, uma vez que parte da sua estrutura é derivada de uma unidade terpenóide com 10 carbonos ligada a um anel aromático derivado dos poliquétidos. Os canabinoides são os compostos ativos da *Cannabis sativa* e estão presentes em variados medicamentos.

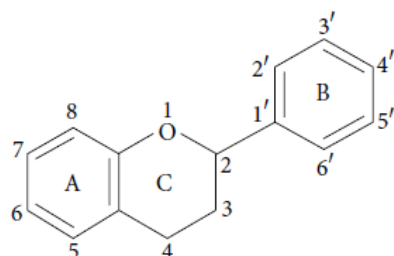
Estudos *in vitro* revelaram que a atividade imunomoduladora de extratos da *Cannabis sativa* permitiram inibir colite LPS-induzida e a liberação de TNF- $\alpha$  no sobrenadante de macrófagos <sup>80</sup>.

Os efeitos farmacológicos dos canabinoides naturais ou sintéticos depende da sua interação com os seus recetores específicos (CB1 e CB2, respetivamente). Enquanto os recetores CB1 são maioritariamente expressos na região central e periférica do sistema nervoso, os recetores CB2 estão presentes nas células do sistema imunitário. Estes recetores de canabinoides (CB2), juntamente com os seus ligandos endógenos e com enzimas específicas (ácido gordo amida hidrolase e monoacilglicerol lipase) estão envolvidos na síntese de endocanabinoides, principais responsáveis pela liberação de várias citocinas pro-inflamatórias, incluindo a IL-1, TNF- $\alpha$  e NO. A grande eficácia deste tipo de compostos está relacionada com o controlo da motilidade intestinal em estudos *in vitro* com colite induzida por PG-PS <sup>87</sup>.

### 8.3 Flavonoides e Taninos

Quimicamente, os flavonoides são compostos por um esqueleto formado por 15 átomos de carbono com dois anéis benzénicos (A e B, tal como mostra a Figura 8.3.1), ligados via um anel heterocíclico.

Os flavonoides podem ser divididos em várias classes (tal como se encontra representado na Figura 7.1), diferindo no nível de oxidação e no padrão de substituição do anel C, pelo que os compostos simples inseridos dentro de cada classe diferem no padrão de substituição dos anéis A e B. Eles são muitas vezes hidroxilados nas posições 3, 5, 7, 2, 3', 4' e 5'. Os metil-éteres e acetil-éteres do grupo alcoólico são conhecidos por se formarem espontaneamente na natureza <sup>88</sup>.



*Figura 8.3.1. Estrutura básica de um flavonoide* <sup>88</sup>.

Os flavonoides podem ser absorvidos desde o intestino delgado ou apenas no cólon, pois depende das propriedades químicas do composto, como o peso molecular, configuração, lipofilicidade, solubilidade e pKa. A estrutura do flavonoide também é um fator importante, por exemplo, se se trata de um glicósido ou de uma aglicana.

Grande parte dos flavonoides, exceto a classe das catequinas, estão presentes em plantas ligados a açúcares como  $\beta$ -glicósidos. Os aglicanos (forma estrutural simples) podem ser facilmente absorvidos no cólon, enquanto os glicósidos têm de ser convertidos na forma aglicana.

A capacidade dos flavonoides como agentes anti-inflamatórios tem sido adotada na medicina tradicional chinesa e na indústria dermocosmética sob de forma de extratos de plantas. Vários estudos *in vitro* e *in vivo* mostraram a eficácia de compostos fenólicos como agentes anti-inflamatórios e a sua habilidade de modular citocinas pro-inflamatórias<sup>80</sup>.

Por exemplo, a quercetina é um flavonoide glicosídico hidrofílico presente em diversos alimentos como maçãs, cebolas, citrinos, amoras e brócolos. A sua potente atividade antioxidante pode ser atribuída à presença de um grupo hidroxilo na sua estrutura. Ela é responsável por prevenir a disrupção da barreira intestinal através do aumento da expressão de proteínas presentes nas junções oclusivas, como, por exemplo, a redução da atividade da NO sintase como consequência da redução da atividade do Nf- $\kappa$ B.

Segundo Camuesco *et al*<sup>89</sup>, vários polifenóis como a quercetina (bioisoflavonoide) ou outros extratos como o chá verde reduzem a quantidade de IL-1, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$  s em variados modelos de ratinhos com CU. Em contraste, citocinas anti-inflamatórias como o IL-4 e o IL-10 encontram-se diminuídas devido à ação do DSS, e a presença de polifenóis não contraria estas alterações, sugerindo então uma resposta imunitária e protetora do cólon dos distúrbios inflamatórios, por parte destes compostos<sup>73,89</sup>.

A luteolina (3',4',5,7-tetrahidroxiflavona) é uma flavona glicosídica presente em ervas medicinais e vegetais como salsa, pimento verde, entre outros. A sua atividade anti-inflamatória centra-se na redução da atividade do TNF- $\alpha$  e expressão da IL-8 nas células epiteliais intestinais através do impedimento da ativação do NF- $\kappa$ B.

Segundo Nihitani *et al.*<sup>90</sup>, foi mostrado que a luteolina atenua a lesão inflamatória no colón de ratinhos induzida por DSS, através da inibição de macrófagos

e de IFN- $\gamma$ , produzindo linfócitos T (CD4+) na mucosa, no local da lesão. Foi também mostrado que a expressão do RNAm do IFN- $\gamma$  aumentou em ratinhos com colite induzida por DSS e que a sua expressão diminuiu igualmente, aquando tratados com luteolina.

Boussenna *et al.* <sup>91</sup> mostraram que o extrato de bagaço de uva vermelha é rico em polifenóis e que o seu consumo durante 3 semanas ajuda a atenuar o desenvolvimento de inflamação na região do cólon em ratinhos com CU induzida por DSS.

O consumo deste extrato mostrou uma diminuição de IL-1, IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , que pode ser devido a uma diminuição destas células infiltração na mucosa do cólon.

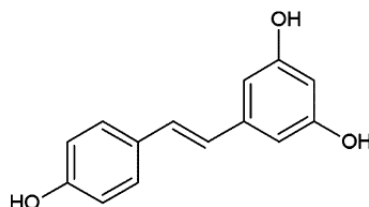
Os taninos são compostos polifenólicos com afinidade para proteínas formadas por dois grandes grupos: hidrolisáveis, poliésteres de ácidos fenólicos; e condensados, de estrutura próxima dos flavonoides. Os condensados são representados pelos taninos catéquicos e as procianidinas oligoméricas (por exemplo, a procianidina B-2) formadas por 2 a 4 monómeros da catequina ou da epicatequina. As procianidinas são compostos polifenólicos com coloração avermelhada, enquanto que as proantocianidinas não apresentam qualquer coloração, mas grande interesse medicinal.

Grande parte das propriedades biológicas dos taninos está relacionada com a possibilidade destes formarem complexos com macromoléculas (enzimas digestivas, proteínas fúngicas ou virais) que podem ser de natureza reversível ou irreversível, quando intervêm fenómenos de oxidação com formação de o-quinonas que, ao reagirem com os grupos nucleófilos das proteínas, formarão ligações covalentes <sup>70,92,93</sup>.

Os taninos presentes em plantas ajudam a reduzir a inflamação nas DII. A produção de muco encontra-se diminuída, levando ao aumento de oxidação de algumas moléculas aumentando a inflamação e lesão da mucosa. Os taninos exercem um efeito protetor contra a morte celular induzida pelo stress oxidativo. Os taninos condensados podem também ajudar na reposição da microbiota gastrointestinal, fazendo com que esta atinja um estado de equilíbrio <sup>94</sup>.

## 8.4 Estilbenos

Os estilbenos são compostos fenólicos, sendo o resveratrol o mais abundante (5-*E*-2-4-hidroxifeniletieno) na natureza. A biodisponibilidade do resveratrol é muito baixa, pois este é rapidamente metabolizado <sup>95</sup>.



*Figura 8.4.1. Estrutura química do resveratrol <sup>17</sup>.*

Estudos recentes mostraram que o estilbeno é um potente inibidor das ROS através da desregulação do NF- $\kappa$ B em CU induzida por DSS em ratinhos.

A enzima mieloperoxidase (MPO) é libertada pelos neutrófilos com o intuito de destruir alguns agentes patogénicos. No entanto, também é responsável pela formação de espécies tóxicas, como o ácido hipocloroso. Desta forma, medir a atividade da MPO é um método útil para avaliar a infiltração granular nos tecidos do cólon em colite induzida <sup>96</sup>.

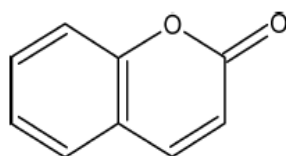
Yao *et al* <sup>96</sup> caracterizaram o poder antioxidante do resveratrol em colite induzida por DSS em ratinhos, através da avaliação de características histológicas e por análise do CDAI. Verificou-se que o efeito do resveratrol pode melhorar os sintomas da CU, assim como proteger os tecidos do cólon. Os resultados mostraram que um houve uma diminuição da atividade da MPO no grupo com CU induzida tratado com este composto. Adicionalmente, verificou-se também uma diminuição da expressão de TNF- $\alpha$ , IL-8 e IFN- $\gamma$ , causada pelo resveratrol. O estudo mostrou ainda que doses elevadas de resveratrol apresentam maior poder antioxidante e anti-inflamatório comparativamente com doses baixas (30mg/kg/dia vs. 60mg/kg/dia).

Um estudo realizado por Samsami-kor *et al* <sup>95</sup> mostrou que 500 mg por dia de resveratrol conseguia aumentar a qualidade de vida de doentes com UC num estágio ligeiro a moderado através da atenuação da atividade do NF- $\kappa$ B, resultando numa redução de marcadores inflamatórios.

Segundo Rahal *et al*<sup>77</sup>, foi demonstrado que o resveratrol diminui a fibrose da parede cecal histologicamente, facto que se encontra relacionado com uma diminuição de TGF- $\beta$  assim como um variado número de outras citocinas (IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ ) num modelo murino de DC induzida por PG-PS.

## 8.6 Cumarinas

As cumarinas, também conhecidas como benzopironas compreendem uma classe alargada de derivados de ácidos fenólicos que se encontram em várias plantas, fungos ou bactérias. São metabolitos formados por heterocíclicos secundários compostos por um benzeno e um anel pirrónico, tal como se encontra representado na Figura 8.6.1.



*Figura 8.6.1. Estrutura química geral das cumarinas*<sup>97</sup>.

Semelhantemente aos flavonoides, algumas cumarinas apresentam atividade antioxidante e representam uma classe com compostos ativos muito potentes na prevenção e no tratamento das DII, apesar de existirem ainda poucos estudos sobre esta classe.

Luchini *et al.*<sup>97</sup> examinaram a atividade da cumarina e de um derivado, a 4-hidroxycumarina em CU induzida por TNBS em ratinhos. Os resultados mostraram que doses de 5 e 25mg/kg de cumarina e 4-hidroxycumarina respetivamente atenuam a inflamação causada pelo TNBS, através de uma avaliação histológica microscópica, quer quando a mucosa do cólon se encontra intacta, quer quando está em processo de recuperação após um processo inflamatório.

Estes efeitos podem ser associados a uma melhoria a nível do stress oxidativo intestinal, uma vez que ambos os compostos inibem a depleção da GPX. Este facto pode estar relacionado com a ação destes compostos como inibidores da síntese de prostaglandinas, tendo em conta que uma fonte de produção de radicais livres é a

oxidação do ácido araquidônico, quer pelas reações da lipoxigenase (LOX) ou da cicloxigenase (COX) <sup>97</sup>.

Alguns anos mais tarde, Witaienis *et al.* <sup>98</sup> avaliaram a atividade de vários derivados de cumarinas num modelo TBSS de CU induzida em ratinhos. Os resultados revelaram que o tratamento com alguns derivados da cumarina como a esculina, escoparona e dafnetina é eficaz na inflamação intestinal.

A esculina (6,7-dihidroxi-6-O-glucosilcumarina) é uma cumarina glicosilada. Quando hidrolisada produz o seu metabolito, a esculetina, que é reconhecida como a cumarina com maior poder antioxidante e o mais potente inibidor da COX.

A escoparona é conhecida pela sua atividade farmacológica relacionada com processos inflamatórios, particularmente como agente supressor do NF-κB assim como de outros mediadores inflamatórios (IL-1, IL-2, IFN-γ, TNF-α) <sup>80,98</sup>.

Mais recentemente, Mu *et al.* <sup>99</sup>, mostraram que uma nova cumarina, 3-angeloxiloxi-4ceto-3,4-dihidrossesselina, isolada a partir da planta *Bupleurum malconense*, suprimem o processo inflamatório induzido por LPS em macrófagos por inibir a atividade de NF-κB e reduzir a expressão de iNOS, COX-2, levando a uma diminuição de NO nos macrófagos ativados. O presente estudo mostrou também uma diminuição na produção de algumas citocinas pró-inflamatórias, como o TNF-α e IL-1.

## **8.7 Ácidos Gordos**

Geralmente, os ácidos gordos são constituídos, maioritariamente, por ésteres de ácidos gordos e da glicerina, por isso, denominados glicéridos. Os ácidos gordos dividem-se em saturados e insaturados (PUFA n-6), sendo, estes, o ácido oleico, linoleico (LA), o linolénico e o araquidónico os biologicamente mais importantes, e como tal, designados de ácidos gordos essenciais. Deste modo, de acordo com a sua atividade biológica, denominam-se os ω-6 (ómega-6, PUFA n-6), ou seja, os ácidos: linolénico, γ-linolénico e ácido araquidónico e ainda o ácido α-linolénico, um ω-3 (ómega-3, PUFA n-3). O ácido γ-linolénico sob a forma de glicérido existe em teores elevados nas sementes de onagra (*Oenothera biennis*) e na borragem (*Borrago officinalis*) <sup>70</sup>.

Os PUFA-3 apresentam atividade anti-inflamatória devido à presença de eicosanoides derivados do ácido eicosapentenoico (EPA), que por sua vez pode ser sintetizado após ingestão do LA (funcionando este como seu substrato). Estes

eicosanoides exibem propriedades opostas aos derivados do ácido araquidônico (AA). Os eicosanoides derivados do AA, ou seja, as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, são potentes vasoconstritores, vasodilatadores e antiagregantes plaquetários. Desta forma, os eicosanoides derivados do EPA, incluindo as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, apresentam fraco poder antiagregante e uma atividade quimiostática fraca, sendo considerados fracos agentes mediadores da inflamação <sup>100</sup>.

Esta situação pode dever-se ao facto do EPA conseguir substituir o AA e, conseqüentemente inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$  e a IL-6.

Alguns estudos têm mostrado a eficácia da utilização de óleos derivados de plantas ricas em ALA, como o óleo de linhaça e o óleo de menta, quando comparados a suplementos que contêm óleo de peixe, particularmente em doentes que tomam outro tipo de medicação anticoagulante ou que padecem de outro tipo de doença que envolva eventos hemorrágicos <sup>101</sup>.

Reifen *et al.* <sup>101</sup> mostrou que o consumo alimentar de óleo de linhaça, durante 4 semanas, inibiu a produção de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  em mais de 30%.

## **9. Produtos à base de plantas utilizados na terapia das DII**

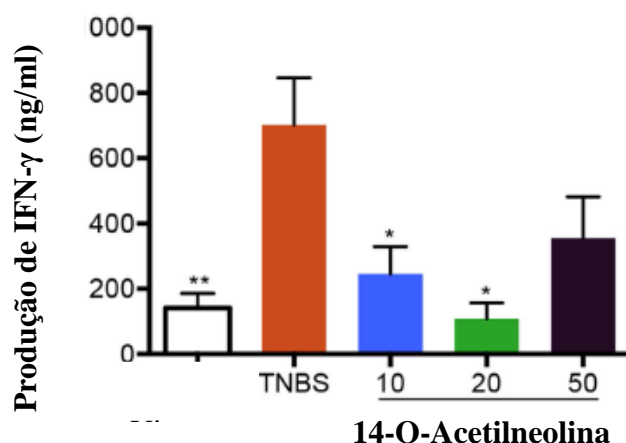
### ***9.1 Aconitum laciniatum***

Os acónitos são plantas que pertencem à família *Ranunculaceae*, sendo consideradas venenosas e que requerem muito cuidados e precaução na sua manipulação. No entanto, a *Aconitum laciniatum* é uma utilizada tradicionalmente em várias infeções crónicas e condições inflamatórias. Fitoquimicamente, cerca de 197 alcaloides diterpénicos (DA) com estruturas mais complicadas foram isolados de 56 espécies diferentes de *Aconitum* com relevância farmacológica <sup>102</sup>.

Em 2005, Wangchuk *et al.* <sup>102</sup>, estudaram esta planta, identificando inicialmente que o seu extrato metanólico apresentara inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias, TNF- $\alpha$  ativada por monócitos LPS-ativados. Desta forma, seguidamente os autores isolaram cinco DA e mostraram que um desses compostos – 14-O-Acetilneolina - apresentava proteção inflamatória em ratinhos induzidos com TNBS. Foram administradas três doses diferentes de 14-O-acetilneolina – 10, 20 e 50  $\mu$ g – e

avaliou-se a consistência fecal, perda de peso corporal, visto estes serem alguns dos sinais e sintomas presentes nas DII e o estado clínico geral. Concluiu-se que, o *score* aplicado à consistência fecal, comprimento do cólon e à mobilidade dos ratinhos diminuiu significativamente quando tratados com doses mais elevadas de composto, uma vez que as fezes tornaram-se mais consistentes ( $p = 0.0011$  para 20  $\mu\text{g}$  e  $p = 0.0061$  para 50  $\mu\text{g}$ ) e a mobilidade e comprimento do cólon aumentou.

Outro parâmetro avaliado no presente estudo foi a produção de IFN- $\gamma$ . Tal como se pode constatar pela avaliação da Figura 9.2.1., doses de 10 e 20 ng/ml mostraram eficácia terapêutica na medida em que houve uma redução significativa de produção de TNF- $\alpha$ , quando comparada ao grupo controlo (TNBS) e a doses mais elevadas de 50  $\mu\text{g}$ , uma vez que tal como foi referido anteriormente, trata-se de uma planta tóxica e em doses mais elevadas pode não apresentar os efeitos terapêuticos desejados ( $p = 0.0242$  para 20  $\mu\text{g}$  e  $p = 0.0271$  para 10  $\mu\text{g}$ ).



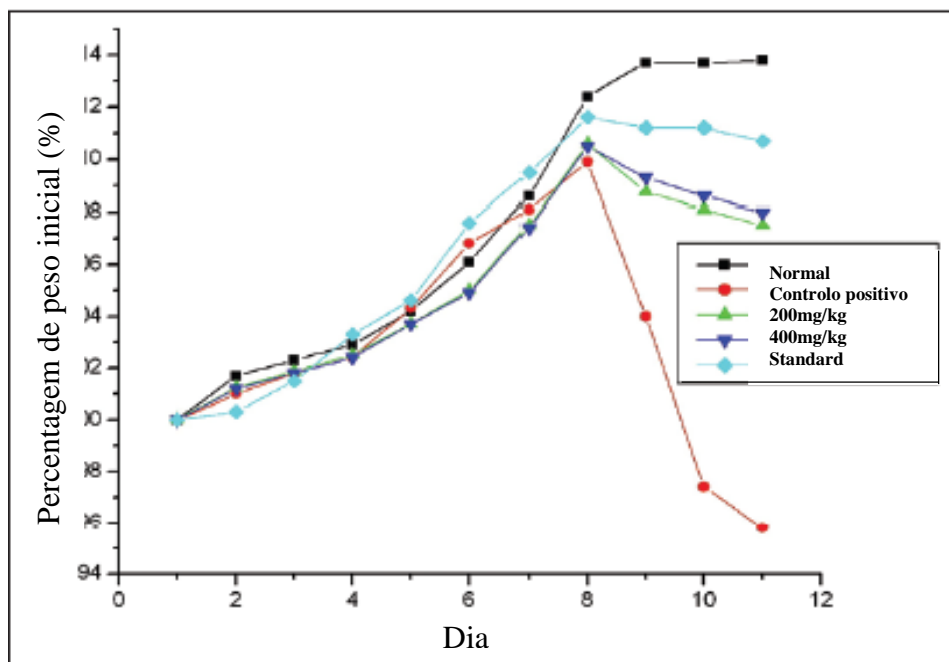
*Figura 9.2.1. Relação entre a produção de IFN- $\gamma$  e a administração de 14-O-Acetilneolina com TNBS induzida. (adaptado de Wangchuk et al <sup>102</sup>)*

## **9.2 *Agave americana* L.**

As folhas de *Agave americana* L. da família *Agavaceae* têm tido várias utilizações como hepatoprotetoras, antioxidantes, antissépticas e outras relacionadas com algumas doenças hepáticas. A maioria dos constituintes presentes na *A. Americana* são saponinas<sup>103</sup>.

Mannasaheb *et al*<sup>104</sup> avaliaram o efeito do extrato das folhas desta planta em CU induzida com ácido acético em ratinhos, caracterizando o perfil inflamatório.

O extrato de folhas de *A. americana* mostrou a presença de esteroides, triterpenoides, saponinas glicosídicas, flavonoides, alcaloides e glicídios. A amostra era composta por 5 grupos distintos: grupo 1 - controlo normal, sem doença induzida; grupo 2 - controlo positivo (administração de 2 ml de ácido acético via retal); grupo 3 - extrato de 200 mg/kg de *A. americana* + ácido acético; grupo 4 - 400mg/kg de *Agave americana* + ácido acético; grupo 5 – prednisolona (2mg/kg) + ácido acético (standard). Como se pode verificar pela análise da Figura 9.3.1., a amostra foi administrada durante 7 dias consecutivos pelo que ao oitavo dia, todos os grupos receberam uma dose de 2 ml de ácido acético. A terapêutica continuou até ao 11º dia, dia em que o seu peso corporal foi analisado. Através do gráfico consegue-se concluir que houve um decréscimo significativo no grupo 2 ( $p < 0.001$ ) comparando com o grupo normal. Os animais tratados com 200 mg/kg e 400 mg/kg extratos de planta e o grupo standard retêm praticamente a totalidade do seu peso corporal comparados ao grupo do controlo positivo.



*Figura 9.3.1. Efeito do extrato de folhas de *Agave americana* no peso corporal em CU induzida por ácido acético em ratinhos (Adaptado de Mannasaheb *et al*<sup>104</sup>)*

Os resultados deste estudo mostraram também que as amostras tratadas com extratos de *A. americana* revelaram uma diminuição do encolhimento e peso do cólon, indicando assim o seu efeito anti-inflamatório. Outros parâmetros avaliados no estudo em questão foram características macroscópicas relacionadas com necrose e inflamação dos tecidos do cólon - os resultados mostraram uma diminuição da quantidade de TNF- $\alpha$  e IL-6 nos ratinhos tratados com extrato de *A. americana*. Foi ainda analisada a quantidade de produção de LPO associada ao stress oxidativo e produção de metabólitos reativos na CU. Assim sendo, os resultados mostraram que quanto maior a concentração de *A. americana* administrada, menor o decréscimo de peso corporal, menor a formação de úlceras, menor atividade da MPO e aumento da contração da musculatura do cólon <sup>104</sup>.

### **9.3 *Ananas comosus***

A bromelaína é uma protease cisteínica derivada da planta ananás, *Ananas comosus* L., da família Bromeliaceae. Ela tem demonstrado eficácia semelhante a alguns anti-inflamatórios não esteroides em indivíduos com doenças reumáticas e com CU.

Borrelli *et al.* <sup>105</sup> realizaram alguns estudos *in vivo* e *in vitro*, analisando o tecido e a motilidade intestinal em diferentes estádios fisiológicos e patológicos da doença, CU. Verificaram, *in vitro*, que a bromelaína inibe os espasmos intestinais no íleo. O efeito inibitório não é seletivo, uma vez que este composto inibe com potência semelhante as contrações induzidas pela acetilcolina, que atua diretamente nos recetores muscarínicos, localizados no musculo liso. Tal indica que a bromelaína atua diretamente na contratilidade da musculatura lisa, mas não no processo de libertação de neurotransmissores. *In vivo*, verificaram que a bromelaína tinha uma ação mais ativa por via intraperitoneal face à administração oral, uma vez que há formação de uma “barreira” entre ambas as superfícies peritoneais. Por esta razão, parece ter uma ação mais eficaz no local da inflamação, apesar da inflamação aumentar a potência da bromelaína. Tal facto corrobora o estudo *in vivo* efetuado por Sahbaz *et al.* <sup>106</sup>, o qual mostra que a bromelaína atua através da barreira intestinal, apresenta propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, sem aumentar a probabilidade de hemorragia ou qualquer efeito secundário durante a cicatrização das feridas. O efeito anti-inflamatório poderá

dever-se a uma diminuição da atividade de citocinas pro-inflamatórias, como o IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ .

#### **9.4 *Andrographis paniculata***

A *Andrographis paniculata* é uma planta da família *Acanthaceae*, utilizada tradicionalmente no tratamento de infecções respiratórias e na inflamação. O seu extrato etanólico é maioritariamente formado por lactonas diterpénicas denominadas por andrografolidos. O extrato desta planta apresenta atividade inibitória *in vitro* contra o TNF- $\alpha$ , IL-1 e NF- $\kappa$ B<sup>107</sup>.

Tang *et al.*<sup>108</sup> comparou a eficácia da mesalazina (4500 mg/dia) com extrato de *A. paniculata* (1200 mg/dia), em 120 doentes com CU ligeira a moderada, através da avaliação da diminuição de scores relacionados com os sintomas, remissão da doença, cicatrização da mucosa ou diminuição da inflamação através da realização de colonoscopias. A atividade da doença foi avaliada de 2 em 2 semanas e ao final de 8 semanas por colonoscopia.

Ambos os compostos mostraram melhorias clínicas relacionadas com a gravidade da doença e ocorreu eliminação da inflamação em 25% dos doentes. A distribuição de percentagem em doentes em remissão, remissão parcial não foi diferente em ambos os grupos. Ao final das 2 semanas, nos doentes tratados com *A. paniculata*, houve remissão da doença em 21% dos doentes e ao final de 8 semanas em 76%, comparativamente aos tratados com mesalazina com 28% e 74% respetivamente.

Desta forma, o presente estudo conclui que o extrato de *A. paniculata* pode ser utilizado como substituto à terapêutica com mesalazina ou em doentes que apresentem uma resposta ineficaz à mesalazina. Os efeitos adversos observados com *A. paniculata* foram raros, apenas ocorrendo algumas reações alérgicas como urticária, pelo que erupções cutâneas foram reportadas apenas numa pessoa.

Sandborn *et al.*<sup>109</sup> realizou um estudo de modo a avaliar a eficácia do extrato de *A. paniculata* em 224 adultos com CU ligeira a moderada. Os doentes foram submetidos à administração de 1200 mg e 1800 mg diariamente durante 8 semanas, concomitantemente com outro grupo de doentes administrados com placebo. Para além destes dois grupos, um terceiro grupo – subgrupo - composto por doentes a tomar mesalazina.

No final do estudo, verificou-se que o grupo tratado com extrato de *A. paniculata* (1800mg/dia) concomitantemente com mesalazina apresentava melhor indução de remissão da doença e cicatrização da mucosa intestinal. Também se verificou que os efeitos secundários eram semelhantes aos presentes no grupo de doentes tratados com placebo. Contudo, são necessários estudos adicionais para avaliar a eficácia de *A. paniculata* em monoterapia em doentes com CU.

### **9.5 *Artemisia absinthium***

A *Artemisia absinthium*, comumente conhecida como absinto, tem mostrado bastante eficácia em variados estudos *in vitro*, pela sua potencial ação em inibir o TNF- $\alpha$  e outras IL.

Krebs *et al*<sup>110</sup> verificou se esta ação se verificava em doentes com DC onde o TNF- $\alpha$  desempenha um papel fundamental. No estudo foram utilizados folhas e caules secos de *A. absinthium*, que contêm na sua constituição óleos essenciais (compostos por elevadas concentrações de cetonas monoterpénicas e outros derivados terpénicos, que são neurotóxicos para o ser humano em doses elevadas), absintina, artemisinina, artabsinina e matricina. Este estudo é composto por dois grupos populacionais - grupo controlo e grupo tratado com *A. absinthium* (administrado oralmente) - em que ambos recebiam a mesma dose oral de AZA e mesalazina. Começou-se por dosear os níveis de TNF- $\alpha$  em todos os doentes de ambos os grupos ao fim de seis semanas de tratamento, e verificou-se que o grupo administrado conjuntamente com *Artemisia absitium* apresentou uma significativa descida na concentração de TNF- $\alpha$  de 24.5 pg/ml para 8 pg/ml) comparativamente ao grupo controlo que decresceu de 24.7 pg/ml para 22.1 pg/ml).

Foi avaliado ainda o CDAI no grupo tratado com *A. absinthium*, sendo que este sofreu um decréscimo de 275 pontos para 175 pontos, face ao grupo controlo que apenas desceu de 282 para 260 pontos.

Omer *et al.*<sup>111</sup> realizou um estudo que consistia na administração oral de absinto, em indivíduos com DC a fazer corticoterapia, de modo a verificar se o uso concomitante deste conseguia reduzir a dependência provocada pelos corticosteroides. A população em estudo foi dividida em dois grupos distintos, composto por 20 pessoas cada – um grupo a tomar absinto (grupo I) e outro grupo, placebo (grupo II) – sendo que

ambas encontravam-se medicados concomitantemente com aminosalicilatos, AZA e MTX. Verificou-se que à medida que a dose de corticosteroide diminuía, 80% dos doentes do grupo II não conseguiu fazer o “desmame” sem exacerbação da doença, ao passo que no grupo I, apenas 10% fez o desmame da corticoterapia sem exacerbação da doença. Avaliou-se ainda o CDAI dos doentes de ambos os grupos, verificando-se uma pontuação menor no grupo I, sendo que após a retirada completa da corticoterapia, 65% dos indivíduos do grupo I encontravam-se, praticamente, assintomáticos <sup>112</sup>.

Tais ocorrências podem estar relacionadas com a presença de um composto isolado do absinto, a cardamonina, uma cetona aromática, que tem revelado vários efeitos anti-inflamatórios. A cardamonina é responsável por inibir as iNOS induzidas por LPS, assim como algumas moléculas presentes na formação do Nf- $\kappa$ B e a produção de TNF- $\alpha$ .

Outro flavonóide, o p7F (tetrametoxi-hidroxi-flavona), isolado a partir do absinto, tem exibido potenciais efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes *in vitro* e *in vivo*, por inibir a ação do TNF- $\alpha$  e do Nf- $\kappa$ B e ainda por diminuir os níveis intracelulares de ROS <sup>113</sup>.

Para além do p7F, artemisina e o seu metabolito, o artesunato presentes no absinto, apesar de em quantidades reduzidas, podem também apresentar um papel importante nos resultados obtidos <sup>110</sup>.

## **9.6 Cannabis sativa**

Os canabinoides extraídos da cannabis sativa, tal como os canabinoides sintéticos apresentam vários efeitos benéficos no trato gastrointestinal.

Os canabinoides naturais compreendem o  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol (THC), o canabicromeno, canabidiol e canabinol. O efeito farmacológico dos canabinoides naturais e sintéticos dependem da sua interação com recetores específicos da proteína G – recetores de canabinoides, denominados CB1 e CB2 (presentes em células do sistema imunitário), e os seus ligandos endógenos: anandamida e o 2-araquidonol glicerol (2-AG), também denominados endocanabinoides.

Estudos mais recentes mostraram que os endocanabinoides podem inibir a libertação de mediadores pro-inflamatórios incluindo IL-1 e TNF- $\alpha$  e NO <sup>114</sup>. Assim que os recetores CB2 são ativados, as células T sofrem apoptose diminuindo a sua

proliferação. Adicionalmente, a ativação dos CB2 diminui o recrutamento de neutrófilos, células-T e macrófagos para o tecido inflamado. Os recetores CB1 também são importantes, pois são responsáveis pelo controlo da motilidade e secreção intestinal, pelo que conseguem diminuir a hipersecreção causada pelas DII <sup>115</sup>.

Naftali et al.<sup>116</sup> realizou um estudo em 21 pacientes com DC com CDAI superior a 200 que não respondiam à terapêutica com esteroides e imunossuppressores. A alguns pacientes foram distribuídos canábis, duas vezes por dia, sobre a forma de cigarro contendo 115 mg de THC e a outros um placebo contendo flores de canábis de onde o THC tinha sido extraído. A atividade da doença e testes laboratoriais foram assegurados durante o período do estudo que foram 8 semanas e, posteriormente, passadas 2 semanas.

A remissão total (CDAI <150) foi alcançada em 5 de 11 pacientes no grupo de pessoas que tomou canábis (45%) e 1 em 10 no grupo placebo (10%). Uma resposta clínica (CDAI <100) foi obtida em 10 de 11 pacientes no grupo de canábis (90%) e de 4 em 10 pacientes no grupo placebo (40%). Três pacientes no grupo de canábis obtiveram desabituação da dependência causada pelos esteroides e todos neste grupo relataram um aumento de apetite e sono, sem efeitos secundários significativos.

### **9.7 *Curcuma longa***

A curcumina é um composto natural presente na planta *Curcuma longa*, que é frequentemente utilizada como especiaria na alimentação, mais conhecida por açafrão-da-índia. Este composto apresenta variadas atividades farmacológicas, como anti-inflamatória e antioxidante, através da inibição da expressão de vários genes inflamatórios, incluindo o da COX-1, COX-2, LPO, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e ativação do NF- $\kappa$ B <sup>117</sup>.

Num estudo piloto, Holt *et al*<sup>118</sup> mostraram a sua utilização na DC e proctosigmoidite. Cinco pacientes com proctite foram tratados com 550 mg de curcumina duas vezes por dia durante 1 mês, seguido de 550 mg três vezes por dia durante o mês seguinte. Todos os 5 pacientes melhoraram o estado geral da doença, com uma redução da terapêutica concomitante (corticoides e imunossuppressores) em 4 pacientes.

Os outros cinco pacientes com DC foram tratados com 360mg de curcumina três vezes ao dia durante um mês, seguido de 360 mg quatro vezes por dia durante os dois meses seguintes. Quatro de cinco dos pacientes desceram a sua pontuação no CDAI em cerca de 55 pontos, sendo que a velocidade de sedimentação também diminuiu.

### **9.8 *Echinacea spp.***

A *Echinacea spp.* é uma das espécies de plantas mais conhecidas em todo o mundo, pertencendo à família *Asteraceae*.

É útil em várias doenças inflamatórias e em processos de cicatrização devido aos seus efeitos imunomoduladores. Os compostos polissacáridos na sua estrutura conferem redução da inflamação e aceleração o processo de regeneração dos tecidos. Ainda, a *Echinacea* consegue aumentar a secreção das hormonas no córtex adrenal, como a cortisona, o que faz com que a inflamação diminua <sup>119</sup>.

Dogan et al.<sup>120</sup> avaliaram os efeitos protetores da *Echinacea spp.* (*Echinacea angustifolia* e *Echinacea purpurea*) num modelo experimental em ratinhos com colite induzida por ácido acético, utilizando para o extrato 100 mg de *E. angustifolia* e 400mg de *E. purpurea*. Os ratinhos foram divididos em quatro grupos: controlo, *Echinacea*, *Echinacea*-colite e colite. Foram medidos os níveis de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , e TGF- $\beta$  e foi também feita uma comparação histológica em todos os grupos. Foi avaliado o CDAI e verificou-se que foi bastante superior no grupo colite comparativamente ao grupo controlo, *Echinacea* e *Echinacea*-colite ( $p < 0.001$ ), não se verificando diferenças significativas entre o CDAI no grupo controlo, *Echinacea* e *Echinacea*-colite ( $p > 0.07$ ). No entanto, verificou-se que os mediadores de inflamação, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  encontravam-se bastante elevados no grupo colite comparado aos outros grupos ( $p < 0.007$  e  $p < 0.001$  respetivamente).

### **9.9 *Gymnema sylvestre***

A *Gymnema sylvestre* (GS) é uma planta conhecida pelas suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, pertencendo à família *Asclepiadaceae* que se encontra distribuída pelo sul da Índia, África e Austrália, sendo utilizada tradicionalmente como planta medicinal.

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

Esta planta contém triterpenos e saponinas conhecidas como ácidos gimnêmicos, alcaloides, antraquinonas e seus derivados <sup>121</sup>.

Aleisa *et al.* <sup>121</sup> avaliaram a atividade da GS em colite induzida por ácido acético em ratinhos, divididos em três grupos administrados com diferentes doses de extrato de folhas de GS (50, 100 e 200 mg/kg/dia) e uma única dose diária de mesalazina (300 mg/kg/dia) durante sete dias. Vinte e quatro horas depois, foi recolhida uma amostra de tecido do cólon de cada ratinho, sendo quantificadas as citocinas pro-inflamatórias IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 e NO. As alterações histológicas também foram observadas e quantificadas de acordo com a Figura 9.9.1.

*Quadro 9.9.1. Efeito da GS nas alterações histológicas no tecido do colón de ratinhos com CU induzida por ácido acético (Adaptado de Aleisa et al <sup>121</sup>)*

	<b>Úlcera</b>	<b>Hiperémia</b>	<b>Necrose</b>	<b>Edema</b>	<b>Infiltração celular</b>	<b>Hiperplasia</b>
<b>Grupo controlo</b>	0	0	0	0	0	0
<b>AA</b>	3	3	4	3	4	2
<b>GS (50) +AA</b>	2	2	2	2	2	1
<b>GS (100) +AA</b>	1	1	1	1	3	1
<b>GS (200) +AA</b>	0	1	0	1	1	0
<b>MES + AA</b>	0	1	0	1	1	0

0: Sem anormalidades detetadas;

1: Anormalidades ou alterações detetadas < 25%; 2: Anormalidades ou alterações detetadas < 50%; 3: Anormalidades ou alterações detetadas < 75%; 4: Anormalidades ou alterações detetadas >75%.

Relativamente aos níveis de citocinas pro-inflamatórias, IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ , encontram-se significativamente aumentadas ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.056$  e  $p < 0.01$  respetivamente) no grupo AA face ao grupo controlo. Em todos os grupos tratados com GS, os níveis de IL-1 $\beta$  ( $p < 0.05$ ). Enquanto que os grupos tratados com 100 e 200 mg/kg de GS apenas demonstraram redução no TNF- $\alpha$  ( $p < 0.05$ ) e no IL-6 ( $p < 0.05$  e  $p < 0.01$ , respetivamente), quando comparados aos outros ratinhos do grupo AA. Contudo, o grupo tratado com mesalazina mostrou níveis muito reduzidos de citocinas comparado ao grupo AA.

### 9.10 *Hypericum perforatum*

A espécie *Hypericum perforatum*, pertencente à família *Clusiaceae*, é tradicionalmente utilizada para o tratamento da ansiedade, depressão, queimaduras, como antioxidante, anti-inflamatório, analgésico e agente neuroprotetor. Os efeitos anti-inflamatórios de *H. perforatum* podem estar relacionados, em parte, com a inibição de iNOS e COX-2. Os compostos com maior poder anti-inflamatório presentes nesta planta são a pseudohipericina e a hiperforina. Estes constituintes, juntamente com os flavonoides, podem inibir a produção de prostaglandina E2. Para além disso, o hiperósido, outro composto ativo de *H. perforatum*, apresenta atividade anti-inflamatória por suprimir a produção de TNF- $\alpha$ , IL-6 e óxido nítrico <sup>122</sup>.

Dost *et al.* <sup>123</sup> investigou o efeito do *Hypericum perforatum* na resposta inflamatória da mucosa do colon em ratinhos com CU induzida por TNBS e avaliou a atividade de algumas enzimas no sangue e no tecido intestinal. Foram divididos em três grupos principais: controlo (sem CU induzida), terceiro dia e sétimo dia com CU induzida. Os grupos terceiro e sétimo dia foram ainda divididos em quatro subgrupos: um grupo apenas com TNBS e outros três grupos em tratamento, recebendo extrato de HP (50, 150 e 300 mg/kg/dia).

Como se pode verificar através da Figura 9.10.1., no terceiro e no sétimo dia, a atividade da MPO no tecido verificou-se muito aumentada no grupo 2 (TNBS) e nos grupos em tratamento comparativamente ao grupo controlo ( $p < 0.007$ ).

A atividade do NO encontra-se fortemente aumentada no grupo com CU e no grupo em tratamento ao terceiro dia, descendo até um nível normal ao sétimo dia, após a instilação com TNBS.

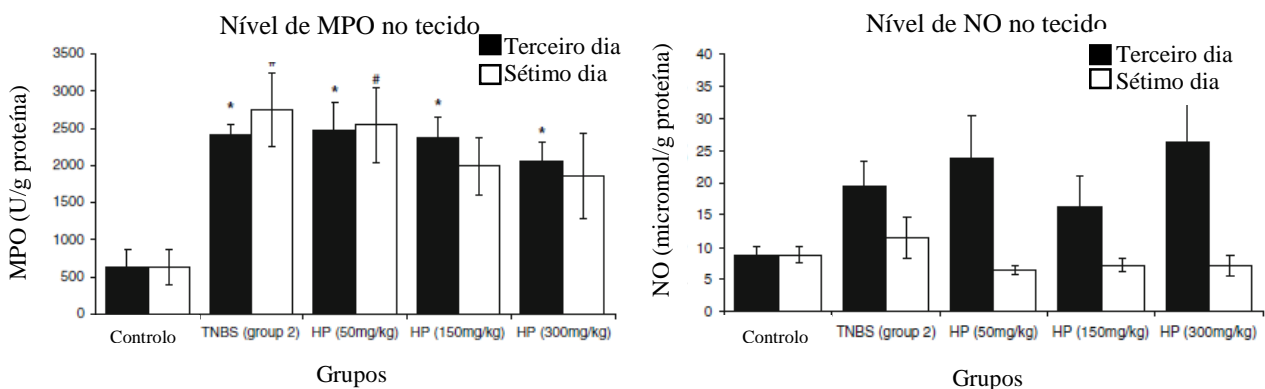


Figura 9.10.1. Comparação dos níveis de MPO e NO, no tecido, dos vários grupos (Adaptado de Dost *et al.* <sup>123</sup>)

Desta forma pode reter-se que o HP apresenta um efeito protetor em DII induzida por TNBS, provavelmente devido ao seu efeito anti-inflamatório e antioxidante.

### **9.11 *Phlomis lychnitis* / *P. purpurea***

O género *Phlomis* é característico da região mediterrânica, sendo que comporta 65 espécies distribuídas pela Europa e Norte de África, 4 delas nativas da península ibérica: *P. crinita*, *P. herba-venti*, *P. lychnitis* e *P. purpurea*. A sua composição inclui sesquiterpenoides, diterpenoides, triterpenoides, triterpenos, saponinas e flavonoides.

Algieri et al.<sup>124</sup> investigaram os efeitos do extrato hidroalcoólico de partes aéreas de ambas as espécies *P. lychnitis* e *P. purpurea* em ratinhos com colite induzida por TNBS.

A análise histológica (micro- e macroscópica) de amostras do cólon revelaram que ambos os extratos apresentam efeitos anti-inflamatórios, confirmado bioquimicamente por uma diminuição da atividade da MPO, um aumento da quantidade de glutathione no cólon, que contraria o estado oxidativo associado ao processo inflamatório, e ainda diminuição da expressão de iNOS. Contudo, apenas do extrato de *P. purpurea* apresentou redução da expressão de citocinas pro-inflamatórias como IL-1 $\beta$  e IL-17.

### **9.12 *Sumo de bergamota***

*Citrus bergamia*, pertencente à família *Rutaceae*, é cultivado essencialmente a sul da Itália, onde as condições climáticas são mais favoráveis. O fruto desta espécie, bergamota, é maioritariamente utilizado para a extração do seu óleo essencial, mundialmente utilizado na indústria da perfumaria e recentemente pelo seu efeito neuroprotetor e efeito citotóxico. Mais recentemente, foi mostrado que baixas concentrações de extrato de sumo de bergamota, devido à fração de flavonoides, reduz a resposta inflamatória induzida pela LPS nos monócitos THP-1, através da inibição de NF- $\kappa$ B em estudos com modelos animais.

Impellizzeri et al.<sup>125</sup> estudaram o efeito deste composto em ratinhos com colite induzida por instilação no cólon de TNBS, administrando oral e diariamente, 5, 10 e 20 mg/kg de extrato. O tratamento com sumo de bergamota diminuiu o aparecimento de diarreia e perda de peso corporal, o que estava associado a uma redução da atividade da

MPO no cólon. Reduziu também a translocação do NF-Kb e a libertação de citocinas pro-inflamatórias como o TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ .

### **9.13 *Thespesia populnea***

A *T. populnea* pertence à família *Malvaceae* e tem como principais constituintes taninos, flavonoides, resinas, esteroides, mucilagens e açúcares, sendo tradicionalmente utilizada para o tratamento de úlceras e cólicas. Mais recentemente, tem sido mostrado o seu potencial antioxidante e anti-inflamatório, crucial nas DII <sup>126</sup>.

Nirmal *et al.* <sup>127</sup> mostraram a eficácia da planta em ratinhos com CU induzida por TNBS, utilizando duas dosagens diferentes de extrato de *T. populnea* (100 e 200 mg/kg). Inicialmente, a planta foi macerada e submetida a uma extração com etanol, sendo de seguida uma parte extraída com água no condensador de refluxo, obtendo-se assim um extrato aquoso e um etanólico. O extrato etanólico foi adicionalmente fracionado com clorofórmio e com acetato de etilo de modo a obter 4 extratos. Em seguida, foi feita a análise histológica da mucosa do cólon e medida a atividade d MPO. Após a administração do extrato aquoso de *T. populnea*, os níveis de MPO reduziram significativamente, no extrato aquoso, de 412 para 205 U/mg de tecido e de 404 U/ml para 219 U/ml de sangue, concluindo-se que o extrato aquoso de *T. populnea* é o mais eficaz, pois é aquele que diminui em maior quantidade os níveis de MPO.

### **9.14 *Vitis vinifera* L.**

*Vitis vinifera* é considerada a espécie de videira mais abundante na Europa, sendo a mais utilizada na produção de vinho. No entanto, a sua eficácia como terapêutica no tratamento das DII ainda gera alguma controvérsia.

Sangiovanni *et al.* <sup>128</sup> investigaram a atividade biológica de um extrato aquoso obtido de folhas secas de *V. vinifera*, em células epiteliais humanas, da mucosa gastrointestinal. Os resultados mostraram que o extrato aquoso de folhas de *V. vinifera* inibe a indução de TNF- $\alpha$  e a secreção de IL-8 nas células epiteliais gástricas. O efeito mantém-se apesar de diminuir ligeiramente após a digestão gástrica. Pelo contrário, o efeito após digestão intestinal diminui drasticamente, pois ocorre a degradação dos componentes ativos (flavonoides e antocianinas) no intestino, o que não permite que o extrato interaja

eficientemente com o TNF- $\alpha$  ou com a indução de IL-8 através da via do NF- $\kappa$ B. Este efeito deve-se ao facto do pH neutro do intestino, juntamente com a microbiota humana, converterem as antocianinas numa variedade de metabolitos, levando à rápida degradação dos compostos, enquanto que o pH do estômago (1-2) mantém as antocianinas na sua forma mais estável.

Por outro lado, a literatura revela que a administração intramuscular de proantocianidinas da grainha da uva, que se obtém de *V. vinifera*, apresenta elevada atividade anti-inflamatória, uma vez que estudos farmacocinéticos mostraram que a degradação destes compostos ocorre maioritariamente no cólon. Assim sendo, estas características metabólicas sugerem que as proantocianidinas afetam a mucosa do cólon diretamente, sendo, como tal, particularmente importantes na CU <sup>129</sup>.

Li *et al.* <sup>129</sup> mostraram que a administração de proantocianidinas em ratinhos com CU induzida por TNBS reduz a atividade do NF- $\kappa$ B, reduzindo, conseqüentemente, a atividade da IL-1 e da MPO.

## **10. O papel da dieta**

Os objetivos principais da dietoterapia nas DII são aplicar uma dieta adequada ao tipo de doença e à sua atividade, manter e/ou recuperar o estado nutricional do doente, aumentar o tempo de remissão da doença, reduzir a possibilidade cirúrgica e as complicações pós-operatórias <sup>130</sup>.

Para além dos ácidos gordos, antioxidantes e probióticos referidos anteriormente ao longo da dissertação, a suplementação com outros nutrientes, por vezes, é necessária nas DII. Por exemplo, na DC, a ocorrência de anemia é muito frequente, e como tal deve recorrer-se a suplementos que contenham ferro.

As suplementações com fibras solúveis podem ser benéficas nas DII. Da fermentação bacteriana de glícidos que não são absorvidos no intestino delgado (fibras solúveis, amido) são produzidos ácidos gordos de cadeia curta. Dessa fermentação, resultam ainda outros compostos como o butirato e o propionato que são rapidamente absorvidos no jejuno, íleo, cólon e reto. Assim sendo, estes ácidos gordos, ajudam a regular o metabolismo das células do cólon, bloqueando as citocinas inflamatórias (IL-6, IL-8 e TNF- $\alpha$ ), promovendo assim a homeostase imunológica e o crescimento de bactérias não patogénicas <sup>131, 132</sup>. Contudo, de acordo com a Sociedade Portuguesa da Doença Inflamatória do Intestino, os doentes com DC que apresentem estenose do íleo,

devem eliminar as fibras insolúveis (presentes, por exemplo, em vegetais) da sua alimentação, adotando, então, uma dieta pobre em fibras.

A glutamina é um substrato metabólico das células epiteliais do íleo, sendo considerado essencial em estados catabólicos. Ele atua como um transportador de azoto, estando presente num grande numero de proteínas. Uma dieta rica em glutamina aumenta a imunidade local com um aumento de imunoglobulina A, diminuindo a lesão intestinal e a prevenção de um aumento da permeabilidade intestinal <sup>133</sup>.

O ideal seria sempre manter a via oral ativa durante todas as fases da doença, adotando uma dieta mais líquida ou pastosa. Contudo, por vezes, é complexo manter um aporte calórico adequado durante esta fase e, como tal, é necessário recorrer a outra via de administração e a outro tipo de nutrição. Por vezes, recorre-se à nutrição entérica (utilizando, por exemplo, uma sonda nasogástrica) ou parentérica (utilizando a via endovenosa), sendo que a via entérica é mais vantajosa face à parentérica, uma vez que preserva a mucosa intestinal e previne a translocação bacteriana.

Os doentes que apresentam a doença em remissão, devem apresentar uma alimentação equilibrada, apenas com algumas restrições no que diz respeito a intolerâncias individuais, de modo a diminuir a ocorrência de flatulência, diarreia, entre outros <sup>130, 134</sup>. A nutrição tem um papel relevante nas DII, uma vez que promove a recuperação e a manutenção do estado nutricional do doente, levando uma melhoria na qualidade de vida.

## **11. Conclusões finais**

É muito importante que se continue a apostar na fitoterapia como uma alternativa ou um complemento à terapêutica farmacológica convencional, utilizada nas DII. Os estudos clínicos efetuados até à data mostraram resultados com eficácia promissora e um perfil de segurança aceitável. Contudo, grande parte dos estudos *in vivo* efetuados permanecem ainda um pouco limitados e heterogéneos <sup>6</sup>.

De acordo com o referido ao longo da monografia, grande parte dos estudos *in vitro*, os compostos químicos isolados de cada planta podem apresentar ação anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana, antiespasmódica, entre outras. *In vivo*, o conteúdo polissacárido de cada planta poderá indicar que ela consiga atuar como prebiótico. Assim sendo, torna-se difícil em fazer uma extrapolação de acordo com a composição química de cada planta e a sua atividade *in vitro*, com a sua possível eficácia (ou segurança) *in vivo*. Isto tudo depende de um conjunto de fatores, incluindo as quantidades individuais de constituintes no extrato de cada planta (que poderá variar na sua origem geográfica ou no método de preparação do extrato - contaminação), interações entre cada constituinte e a sua farmacocinética, da qual ainda se conhece muito pouco <sup>135</sup>.

Cerca de 50% dos doentes com DII já tentaram alguma forma de medicina alternativa. Apesar de vários tipos de terapias estarem disponíveis para estes doentes, grande parte dos resultados acerca da sua eficácia e segurança é, ainda, pouco claro <sup>75</sup>.

Posto isto, é necessário conhecer muito bem os diferentes componentes da planta que se está a estudar, assim como os seus compostos ativos, de modo a classificar adequadamente as suas propriedades, os seus efeitos secundários e a sua toxicidade.

Apesar da grande variedade nas estruturas químicas dos compostos naturais utilizados em fitoterapia para estas doenças, a maioria deles afeta a atividade do NF-κB, diretamente ou através da indução ou inibição de outros compostos relacionados com a sua atividade.

De um modo geral, a utilização isolada de cada planta não será eficaz numa fase aguda da doença, no entanto poderá ser utilizada em associação com outras plantas, em estádios médios a moderados. Até à data são poucos os compostos submetidos a estudos *in vivo*, contudo, a *Curcuma longa* (curcumina) pode associar-se ao *Ananas comosus* (bromelaína) atuando em sinergia como anti-inflamatórios, mantendo a remissão da

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

doença. A grande maioria dos estudos *in vitro* mostra que ocorre uma diminuição da perda de peso corporal, diminui a atividade da MPO, diminui o CDAI e atividade do NF- $\kappa$ B, logo a sua ação *in vivo* deveria ser mais aprofundada.

A *Cannabis sativa*, bastante utilizada na América como analgésico, também mostrou resultados bastante promissores em estudos realizados na população, diminuindo bastante o CDAI.

O *Hypericum perforatum* e a *Echinacea spp.* são plantas com um papel muito importante no sistema imunitário e, como tal, devem ser submetidas a mais estudos pois são bastante comercializadas mundialmente e de fácil acesso por parte da população.

Desta forma, a ação do farmacêutico enquanto promotor de saúde tem um papel fundamental neste tipo de patologia. Pode, em contexto comunitário, explicar a importância da terapêutica, não só convencional, como ainda referir a relevância da fitoterapia em casos de exacerbação da doença ou manutenção do estado de remissão. Pode também adotar medidas não farmacológicas, informando acerca das características da doença e referir alguns cuidados a ter com a dieta.

O farmacêutico, pela sua formação técnico-científica, pode, ainda, ter um papel importante na descoberta de moléculas de interesse nesta área, assim como o seu mecanismo de ação. Apesar da fitoterapia, no âmbito destas duas doenças, ter evoluído muito ao longo dos últimos anos, muito trabalho ainda é necessário para associar a fitoterapia à terapêutica convencional de forma a ser um complemento à mesma.

## **12. Referências Bibliográficas**

1. Mulder, D. J., Noble, A. J., Justinich, C. J. & Duffin, J. M. A tale of two diseases: The history of inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis* **8**, 341–348 (2014).
2. Kornbluth, A. & Sachar, D. B. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update): American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *American Journal of Gastroenterology* **99**, 1371–1385 (2004).
3. Lichtenstein, G. R., Hanauer, S. B. & Sandborn, W. J. Management of Crohn's Disease in Adults. *The American Journal of Gastroenterology* **104**, 465–483 (2009).
4. Kaplan, G. G. & Jess, T. The Changing Landscape of Inflammatory Bowel Disease: East Meets West. *Gastroenterology* **150**, 24–26 (2015).
5. Azevedo, L. F., Magro, F., Portela, F., Lago, P., Deus, J., Cotter, J., Cremers, I., Vieira, A., Peixe, P., Caldeira, P., Lopes, H., Goncalves, R., Reis, J., Cravo, M., Barros, L., Ministro, P., Lurdes, M., Duarte, A., Campos, M., Carvalho, L. & Costa-Pereira, A. Estimating the prevalence of inflammatory bowel disease in Portugal using a pharmaco-epidemiological approach. *Pharmacoepidemiol Drug Safety* **19**, 499–510 (2010).
6. Ng, S. C., Lam, Y. T., Tsoi, K. K. F., Chan, F. K. L., Sung, J. J. Y. & Wu, J. C. Y. Systematic review: The efficacy of herbal therapy in inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* **38**, 854–863 (2013).
7. Silveira, P. F. da, Bandeira, M. A. M. & Arrais, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: Uma realidade. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* **18**, 618–626 (2008).
8. Alexandre, R. F., Bagatini, F. & Simões, C. M. O. Interações entre fármacos e medicamentos fitoterápicos à base de ginkgo ou ginseng. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* **18**, 117–126 (2008).
9. Rahimi, R., Mozaffari, A. S. & Abdollahi, A. M. On the Use of Herbal Medicines in Management of Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review of Animal and Human Studies. *Digestive diseases and sciences* **54**, 471–480 (2009).
10. Bamias, G., Pizarro, T. T. & Cominelli, F. Pathway-based approaches to the treatment of inflammatory bowel disease. *Translational Research* **167**, 104–115 (2015).
11. Sartor, R. B. Mechanisms of Disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nature Clinical Practice Gastroenterology; Hepatology* **3**, 390–407 (2006).
12. Fiocchi, C. Inflammatory bowel disease: Etiology and pathogenesis. *Gastroenterology* **115**, 182–205 (1998).
13. de Oliveira, C. M. B., Sakata, R. K., Issy, A. M., Gerola, L. R. & Salomão, R. Citocinas e Dor. *Revista Brasileira de Anestesiologia* **61**, 255–265 (2011).
14. Rogler, G. Where are we heading to in pharmacological IBD therapy?

- Pharmacological Research* **100**, 220–227 (2015).
15. Atreya, I., Atreya, R. & Neurath, M. F. NF- $\kappa$ B in inflammatory bowel disease. *Journal of Internal Medicine* **263**, 591–596 (2008).
  16. Head, K. a, Jurenka, J. S. & Ascp, M. T. Inflammatory Bowel Disease Part I: Ulcerative Colitis – Pathophysiology and Conventional and Alternative Treatment Options. *Alternative Medicine Review* **8**, 247–283 (2003).
  17. Schneider, M. J., Abdel-Aziz, H. & Efferth, T. Phytochemicals for the treatment of inflammatory bowel diseases. *Phytochemistry Reviews* **13**, 1–14 (2013).
  18. Moura, F. A., de Andrade, K. Q., dos Santos, J. C. F., Araújo, O. R. P. & Goulart, M. O. F. Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work? *Redox Biology* **6**, 617–639 (2015).
  19. Alzoghaibi, M. A. Concepts of oxidative stress and antioxidant defense in Crohn's disease. *World Journal of Gastroenterology* **19**, 6540–6547 (2013).
  20. Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. a, Nabi, G. & Sharma, S. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical reviews in biotechnology* **30**, 161–175 (2010).
  21. Balmus, I. M., Ciobica, A., Trifan, A. & Stanciu, C. The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in Inflammatory Bowel Disease: Clinical aspects and animal models. *Saudi journal of gastroenterology : official journal of the Saudi Gastroenterology Association* **22**, 3–17 (2016).
  22. Chan, J. The pharmacologic management of Crohn ' s disease. *Formulary Journal* **15**, 1–14 (2014).
  23. Ananthakrishnan, A. N. Epidemiology and risk factors for IBD. *Nature Publishing Group* **12**, 205–217 (2015).
  24. Pereira, H., Barreira, L., Figueiredo, F., Custódio, L., Vizetto-Duarte, C., Polo, C., Rezek, E., Aschwin, E. & Varela, J. Polyunsaturated fatty acids of marine macroalgae: Potential for nutritional and pharmaceutical applications. *Marine Drugs* **10**, 1920–1935 (2012).
  25. Abraham, C. & Cho, J. H. Inflammatory Bowel Disease. *New England Journal of Medicine* **361**, 2066–2078 (2009).
  26. Hampe, J., Cuthbert, a, Croucher, P. J., Mirza, M. M., Mascheretti, S., Fisher, S., Frenzel, H., King, K., Hasselmeyer, a, MacPherson, a J., Bridger, S., van Deventer, S., Forbes, a, Nikolaus, S., Lennard-Jones, J. E., Foelsch, U. R., Krawczak, M., Lewis, C., Schreiber, S. & Mathew, C. G. Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations. *Lancet* **357**, 1925–8 (2001).
  27. Hugot, J. P., Chamaillard, M., Zouali, H., Lesage, S., Cézard, J. P., Belaiche, J., Almer, S., Tysk, C., O'Morain, C. a, Gassull, M., Binder, V., Finkel, Y., Cortot, a, Modigliani, R., Laurent-Puig, P., Gower-Rousseau, C., Macry, J., Colombel, J. F., Sahbatou, M. & Thomas, G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* **411**, 599–603 (2001).
  28. Török, H. P., Glas, J., Tonenchi, L., Mussack, T. & Folwaczny, C. Polymorphisms of the lipopolysaccharide-signaling complex in inflammatory

- bowel disease: Association of a mutation in the Toll-like receptor 4 gene with ulcerative colitis. *Clinical Immunology* **112**, 85–91 (2004).
29. Lange, K. M. De & Barrett, J. C. Understanding in inflammatory bowel disease via immunogenetics. *Journal of Autoimmunity* **64**, (2015).
  30. Langan, R. C., Gotsch, P. B., Krafczyk, M. A. & Skillinge, D. D. Ulcerative colitis: Diagnosis and treatment. *American Family Physician* **76**, 1323–1331 (2007).
  31. Molodecky, N. A., Soon, I. S., Rabi, D. M., Ghali, W. A., Ferris, M., Chernoff, G., Benchimol, E. I., Panaccione, R., Ghosh, S., Barkema, H. W. & Kaplan, G. G. Increasing Incidence and Prevalence of the Inflammatory Bowel Diseases With Time, Based on Systematic Review. *Gastroenterology* **142**, 46–54.e42 (2012).
  32. Burisch, J. & Munkholm, P. Inflammatory bowel disease epidemiology. *Current Opinion in Gastroenterology* **29**, 357–362 (2013).
  33. Burisch, J., Pedersen, N., Cukovi-Cavka, S., Brinar, M., Kaimakliotis, I., Duricova, D., Shonova, O., Vind, I., Avnstrom, S., Thorsgaard, N., Andersen, V., Krabbe, S., Dahlerup, J. F., Salupere, R., Nielsen, K. R., Olsen, J., Manninen, P., Collin, P., Tsianos, E. V., Katsanos, K. H., Ladefoged, K., Lakatos, L., Bjornsson, E., Ragnarsson, G., Bailey, Y., Odes, S., Schwartz, D., Martinato, M., Lupinacci, G., Milla, M., De Padova, A., D’Inca, R., Beltrami, M., Kupcinkas, L., Kiudelis, G., Turcan, S., Tighineanu, O., Mihu, I., Magro, F., Barros, L. F., Goldis, A., Lazar, D., Belousova, E., Nikulina, I., Hernandez, V., Martinez-Ares, D., Almer, S., Zhulina, Y., Halfvarson, J., Arebi, N., Sebastian, S., Lakatos, P. L., Langholz, E. & Munkholm, P. East-West gradient in the incidence of inflammatory bowel disease in Europe: the ECCO-EpiCom inception cohort. *Gut* **63**, 588–597 (2014).
  34. Shivananda, S., Lennard-Jones, J., Logan, R., Fear, N., Price, a, Carpenter, L. & van Blankenstein, M. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut* **39**, 690–697 (1996).
  35. Azevedo, L. F., Magro, F., Portela, F., Lago, P., Deus, J., Cotter, J., Cremers, I., Vieira, A., Peixe, P., Caldeira, P., Lopes, H., Goncalves, R., Reis, J., Cravo, M., Barros, L., Ministro, P., Lurdes, M., Duarte, A., Campos, M., Carvalho, L. & Costa-Pereira, A. Estimating the prevalence of inflammatory bowel disease in Portugal using a pharmaco-epidemiological approach. *Pharmacoepidemiol Drug Safety* **19**, 499–510 (2010).
  36. Loftus, E. V. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* **126**, 1504–1517 (2004).
  37. Satsangi, J. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut* **55**, 749–753 (2006).
  38. Pitari, G. M. Pharmacology and clinical potential of guanylyl cyclase C agonists in the treatment of ulcerative colitis. *Drug design, development and therapy* **7**,

- 351–60 (2013).
39. Ha, F. & Khalil, H. Crohn's disease: a clinical update. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* **8**, 352–359 (2015).
  40. Magro, F., Portela, F., Lago, P., Ramos de Deus, J., Vieira, A., Peixe, P., Cremers, I., Cotter, J., Cravo, M., Tavares, L., Reis, J., Gonçalves, R., Lopes, H., Caldeira, P., Ministro, P., Carvalho, L., Azevedo, L. & da Costa-Pereira, A. Crohn's disease in a southern European country: Montreal classification and clinical activity. *Inflammatory bowel diseases* **15**, 1343–1350 (2009).
  41. Stange, E. F., Travis, S. P. L., Vermeire, S., Reinisch, W., Geboes, K., Barakauskiene, A., Feakins, R., Fléjou, J. F., Herfarth, H., Hommes, D. W., Kupcinkas, L., Lakatos, P. L., Mantzaris, G. J., Schreiber, S., Villanacci, V. & Warren, B. F. European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: Definitions and diagnosis. *Journal of Crohn's and Colitis* **2**, 1–23 (2008).
  42. D'Haens, G., Sandborn, W. J., Feagan, B. G., Geboes, K., Hanauer, S. B., Irvine, E. J., Lémann, M., Marteau, P., Rutgeerts, P., Schölmerich, J. & Sutherland, L. R. A Review of Activity Indices and Efficacy End Points for Clinical Trials of Medical Therapy in Adults With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology* **132**, 763–786 (2007).
  43. Liu, X., Wu, Y., Li, F. & Zhang, D. ScienceDirect Dietary fiber intake reduces risk of inflammatory bowel disease: result from a meta-analysis. *Nutrition Research* **35**, 753–758 (2015).
  44. Van Assche, G., Dignass, A., Panes, J., Beaugerie, L., Karagiannis, J., Allez, M., Ochsenkühn, T., Orchard, T., Rogler, G., Louis, E., Kupcinkas, L., Mantzaris, G., Travis, S. & Stange, E. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis. *Journal of Crohn's and Colitis* **4**, 7–27 (2010).
  45. Portela, F. Cancro Colo-rectal e Doença Inflamatória do Intestino. *Associação Portuguesa da doença inflamatória do intestino, Lisboa*
  46. Thia, K., Faubion, W. A., Loftus, E. V., Persson, T., Persson, A. & Sandborn, W. J. Short CDAI: Development and validation of a shortened and simplified Crohn's disease activity index. *Inflammatory Bowel Diseases* **17**, 105–111 (2011).
  47. Chan, Y. K., Estaki, M. & Gibson, D. L. Clinical consequences of diet-induced dysbiosis. *Annals of Nutrition and Metabolism* **63**, 28–40 (2013).
  48. Dasgupta, S. & Kasper, D. L. Relevance of commensal microbiota in the treatment and prevention of inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases* **19**, 2478–89 (2013).
  49. Sales-Campos, H., Basso, P. J., Alves, V. B. F., Fonseca, M. T. C., Bonfá, G., Nardini, V. & Cardoso, C. R. B. Classical and recent advances in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **48**, 96–107 (2015).
  50. Bruno Peixe, Estela Monteiro, Fernando Magro, Francisco Portela, Isabelle Cremers, João Ramos de Deus, José Cotter, Lourdes Tavares, Marília Cravo,

- Paula Lago, Paula Ministro, Paula Moura dos Santos, P. C. *Terapêutica Farmacológica na Doença Inflamatória Intestinal*. (2007).
51. Lichtenstein, G. R., Hanauer, S. B. & Sandborn, W. J. Emerging Treatment Options in Mild to Moderate Ulcerative Colitis. *Gastroenterology & hepatology* **11**, 1–16 (2015).
  52. Dassopoulos, T., Cohen, R. D., Scherl, E. J., Schwartz, R. M., Kosinski, L. & Regueiro, M. D. Ulcerative Colitis Care Pathway. *Gastroenterology* **149**, 238–245 (2015).
  53. Tominaga, K., Nakano, M., Hoshino, M., Kanke, K. & Hiraishi, H. Efficacy, safety and cost analyses in ulcerative colitis patients undergoing granulocyte and monocyte adsorption or receiving prednisolone. *BMC gastroenterology* **13**, 41 (2013).
  54. Pham, C. Q. D., Efros, C. B. & Berardi, R. R. Cyclosporine for severe ulcerative colitis. *The Annals of pharmacotherapy* **40**, 96–101 (2006).
  55. Rutgeerts, P., Vermeire, S. & Van Assche, G. Biological Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* **136**, 1182–1197 (2009).
  56. Zhang, Z. M., Li, W. & Jiang, X. L. Efficacy and Safety of Adalimumab in Moderately to Severely Active Cases of Ulcerative Colitis : A Meta-Analysis of Published Placebo-Controlled Trials. **10**, 262–274 (2016).
  57. Benítez, J. M., Pérez, R. F., Carnerero, E. L. & Martínez, Á. H. Initial experience with golimumab in clinical practice for ulcerative colitis. *Rev Esp Enferm Dig* **2016** (2016).
  58. Kuhn, F. & Klar, E. Surgical Principles in the Treatment of Ulcerative Colitis. *Viszeralmedizin* **31**, 246–250 (2015).
  59. Sousa, T., Yadav, V., Zann, V., Borde, A., Abrahamsson, B. & Basit, A. W. On the Colonic Bacterial Metabolism of Azo-Bonded Prodrugsof 5-Aminosalicylic Acid. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **103**, 3171–3175 (2014).
  60. Ransford, R. a J. & Langman, M. J. S. Sulphasalazine and mesalazine: serious adverse reactions re-evaluated on the basis of suspected adverse reaction reports to the Committee on Safety of Medicines. *Gut* **51**, 536–539 (2002).
  61. Steinhart, a H., Forbes, A., Mills, E. C., Rodgers-Gray, B. S. & Travis, S. P. L. Systematic review: the potential influence of mesalazine formulation on maintenance of remission in Crohn’s disease. *Alimentary pharmacology & therapeutics* **25**, 1389–1399 (2007).
  62. Pandey, K. R., Naik, S. R. & Vakil, B. V. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal of Food Science and Technology* **52**, 7577–7587 (2015).
  63. Hiroyuki Tamaki, Minoru Matsuura, Satoko Inoue, Sakar Mikami, Satoru Ueno, Norimitsu Uza, Hiroshi Kitamura, Katsuhiko Kasahara, T. C. The effect of tacrolimus ( FK-506 ) on Japanese patients with refractory Crohn ’ s disease. *Journal of Gastroenterology* **43**, 774–779 (2008).
  64. Felley, C. & Juillerat, P. Fistulizing Crohn ’ s Disease. *Digestion* **2007** **76**, 109–112 (2008).

65. Colombel, J. F., Sandborn, W. J., Reinisch, W., Mantzaris, G. J., Kornbluth, A., Rachmilewitz, D., Lichtiger, S., D'haens, G., Diamond, R. H., Broussard, D. L., Tang, K. L., Janneke Van Der Woude, C. & Rutgeerts, P. Infliximab, Azathioprine, or Combination Therapy for Crohn's Disease. *Mayo Clinic Vienna (WR); Evangelismos Hospital, Athens (GJM Jerusalem DR 15*, (2010).
66. Deepak, P. & Bruining, D. H. Update on the Medical Management of Crohn's Disease. *Current Gastroenterology Reports 17*, (2015).
67. Seifarth, C., Kreis, M. E. & Grone, J. Indications and Specific Surgical Techniques in Crohn's Disease. *Viszeralmedizin: Gastrointestinal Medicine and Surgery 31*, 273–279 (2015).
68. Antunes, O., Filippi, J., Hébuterne, X. & Peyrin-Biroulet, L. Treatment algorithms in Crohn's - Up, down or something else? *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology 28*, 473–483 (2014).
69. Chen, Q. Q., Yan, L. & Wan, J. Select a suitable treatment strategy for Crohn's Disease: Step-up or top-down. *EXCLI Journal 13*, 111–122 (2014).
70. Cunha, A. P., Silva A. P. & Roque O. R. *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia*. (2012).
71. República, D. L. 176/2006-D. Da. *Decreto-Lei 176/2006. DL 176/200- Diário Da República* (2006).
72. Fernández, A., Barreiro-de Acosta, M., Vallejo, N., Iglesias, M., Carmona, A., González-Portela, C., Lorenzo, A. & Domínguez-Muñoz, J. E. Complementary and alternative medicine in inflammatory bowel disease patients: frequency and risk factors. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver 44*, 904–8 (2012).
73. Somani, S. J., Modi, K. P., Majumdar, A. S. & Sadarani, B. N. Phytochemicals and Their Potential Usefulness in Inflammatory Bowel Disease. **350**, 339–350 (2015).
74. Low, D., Nguyen, D. D. & Mizoguchi, E. Animal models of ulcerative colitis and their application in drug research. *Drug Design, Development and Therapy 7*, 1341–1356 (2013).
75. Singh, U. P., Singh, N. P., Busbee, B., Guan, H., Singh, B., Price, R. L., Taub, D. D. & Mishra, M. K. Alternative Medicines as Emerging Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. **31**, 66–84 (2012).
76. Jiminez, J. A., Uwiera, T. C., Douglas Inglis, G. & Uwiera, R. R. E. Animal models to study acute and chronic intestinal inflammation in mammals. *Gut Pathogens 7*, 29 (2015).
77. Rahal, K., Schmiedlin-Ren, P., Adler, J., Dhanani, M., Sultani, V., Rittershaus, A. C., Reingold, L., Zhu, J., McKenna, B. J., Christman, G. M. & Zimmermann, E. M. Resveratrol has antiinflammatory and antifibrotic effects in the peptidoglycan-polysaccharide rat model of Crohn's disease. *Inflammatory Bowel Diseases 18*, 613–623 (2012).
78. Randhawa, P. K., Singh, K., Singh, N. & Jaggi, A. S. A review on chemical-

- induced inflammatory bowel disease models in rodents. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology* **18**, 279–288 (2014).
79. Maeshima, N. & Fernandez, R. C. Recognition of lipid A variants by the TLR4-MD-2 receptor complex. *Frontiers in cellular and infection microbiology* **3**, 3 (2013).
80. Iqbal, M., Verpoorte, R., Korthout, H. A. A. J. & Mustafa, N. R. Phytochemicals as a potential source for TNF- $\alpha$  inhibitors. *Phytochemistry Reviews* **12**, 65–93 (2013).
81. Lange, S., Delbro, D. S., Jennische, E. & Mattsby-Baltzer, I. The role of the Lps gene in experimental ulcerative colitis in mice. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica* **104**, 823–33 (1996).
82. Facchini, P. J. : Biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **52**, 29–66 (2001).
83. Li, Y.-H., Zhang, M., Xiao, H.-T., Fu, H.-B., Ho, A., Lin, C.-Y., Huang, Y., Lin, G. & Bian, Z.-X. Addition of Berberine to 5-Aminosalicylic Acid for Treatment of Dextran Sulfate Sodium-Induced Chronic Colitis in C57BL/6 Mice. *PloS one* **10**, 144–201 (2015).
84. Ma, T., Deng, Z. & Liu, T. Microbial production strategies and applications of lycopene and other terpenoids. *World journal of microbiology & biotechnology* **32**, 15 (2016).
85. de las Heras, B., Navarro, a, Díaz-Guerra, M. J., Bermejo, P., Castrillo, a, Boscá, L. & Villar, a. Inhibition of NOS-2 expression in macrophages through the inactivation of NF- $\kappa$ B by andalusol. *British journal of pharmacology* **128**, 605–612 (1999).
86. Ojo-Amaize, E. a, Kapahi, P., Kakkanaiah, V. N., Takahashi, T., Shalom-Barak, T., Cottam, H. B., Adesomoju, a a, Nchekwube, E. J., Oyemade, O. a, Karin, M. & Okogun, J. I. Hypoestoxide, a novel anti-inflammatory natural diterpene, inhibits the activity of IkappaB kinase. *Cellular immunology* **209**, 149–57 (2001).
87. Esposito, G., Filippis, D. De, Cirillo, C., Iuvone, T., Capoccia, E., Scuderi, C., Steardo, A., Cuomo, R. & Steardo, L. Cannabidiol in Inflammatory Bowel Diseases: A Brief Overview. *Phytotherapy Research* **636**, 633–636 (2013).
88. Kumar, S. & Pandey, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal* **2013**, (2013).
89. Camuesco, D., Comalada, M., Rodríguez-Cabezas, M. E., Nieto, A., Lorente, M. D., Concha, A., Zarzuelo, A. & Gálvez, J. The intestinal anti-inflammatory effect of quercitrin is associated with an inhibition in iNOS expression. *British journal of pharmacology* **143**, 908–18 (2004).
90. Nishitani, Y., Yamamoto, K., Yoshida, M., Azuma, T., Kanazawa, K., Hashimoto, T. & Mizuno, M. Intestinal anti-inflammatory activity of luteolin: Role of the aglycone in NF- $\kappa$ B inactivation in macrophages co-cultured with intestinal epithelial cells. *BioFactors* **39**, 522–533 (2013).
91. Bousenna, A., Cholet, J., Goncalves-Mendes, N., Joubert-Zakeyh, J., Fraisse,

- D., Vasson, M. P., Texier, O. & Felgines, C. Polyphenol-rich grape pomace extracts protect against dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **96**, (2015).
92. Mouradov, A. & Spangenberg, G. Flavonoids: a metabolic network mediating plants adaptation to their real estate. *Frontiers in plant science* **5**, 620 (2014).
93. Aloísio Fernandes Costa. *Farmacognosia*. (1994).
94. Ju, L., Ke, F. & Yadav, P. Herbal medicine in the treatment of ulcerative colitis. *Saudi Journal of Gastroenterology* **18**, 3 (2012).
95. Samsami-kor, M., Daryani, N. E., Asl, P. R. & Hekmatdoost, A. Anti-Inflammatory Effects of Resveratrol in Patients with Ulcerative Colitis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-controlled Pilot Study. *Archives of Medical Research* **46**, 280–285 (2015).
96. Yao, J., Wang, J. Y., Liu, L., Li, Y. X., Xun, A. Y., Zeng, W. Sen, Jia, C. H., Wei, X. X., Feng, J. L., Zhao, L. & Wang, L. S. Anti-oxidant Effects of Resveratrol on Mice with DSS-induced Ulcerative Colitis. *Archives of Medical Research* **41**, 288–294 (2010).
97. Luchini, A. C., Rodrigues-Orsi, P., Cestari, S. H., Seito, L. N., Witaicenis, A., Pellizzon, C. H. & Di Stasi, L. C. Intestinal anti-inflammatory activity of coumarin and 4-hydroxycoumarin in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Biological & pharmaceutical bulletin* **31**, 1343–1350 (2008).
98. Witaicenis, A., Seito, L. N., Da Silveira Chagas, A., De Almeida, L. D., Luchini, A. C., Rodrigues-Orsi, P., Cestari, S. H. & Di Stasi, L. C. Antioxidant and intestinal anti-inflammatory effects of plant-derived coumarin derivatives. *Phytomedicine* **21**, 240–246 (2014).
99. Mu, H.-X., Lin, C.-Y., Huang, L.-F., Yang, D.-J., Lu, A.-P., Han, Q.-B. & Bian, Z.-X. A novel coumarin, (+)-3'-angeloxyloxy-4'-keto-3',4'-dihydroseselin, isolated from *Bupleurum malconense* (Chaihu) inhibited NF- $\kappa$ B activity. *Chinese Medicine* **11**, 5 (2016).
100. Reifen, R., Karlinsky, A., Stark, A. H., Berkovich, Z. & Nyska, A. alpha-Linolenic acid (ALA) is an anti-inflammatory agent in inflammatory bowel disease. *J Nutr Biochem* **26**, 1632–1640 (2015).
101. Maria, S., Alvares, R. De, Quesada, K. & Dib, M. Inflammatory bowel disease : can omega-3 fatty acids really help ? **29**, 37–43 (2016).
102. Wangchuk, P., Navarro, S., Shepherd, C., Keller, P. a., Pyne, S. G. & Loukas, A. Diterpenoid alkaloids of *Aconitum laciniatum* and mitigation of inflammation by 14-O-acetylneoline in a murine model of ulcerative colitis. *Scientific Reports* **5**, 12845 (2015).
103. Sparg, S. G., Light, M. E. & Van Staden, J. Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology* **94**, 219–243 (2004).
104. Mannasaheb, B. ., Kulkarni, P., Sangreskopp, M., Savant, C. & Mohan, A. Protective effect of *Agave americana* Linn. leaf extract in acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda)* **36**, 101 (2015).

105. Borrelli, F., Capasso, R., Severino, B., Fiorino, F., Aviello, G., de Rosa, G., Mazzella, M., Romano, B., Capasso, F., Fasolino, I. & Izzo, A. A. Inhibitory effects of bromelain, a cysteine protease derived from pineapple stem (*Ananas comosus*), on intestinal motility in mice. *Neurogastroenterology and Motility* **23**, (2011).
106. Sahbaz, A., Aynioglu, O., Isik, H., Ozmen, U. & Cengil, O. Bromelain : A natural proteolytic for intra-abdominal adhesion. *International Journal of Surgery* **14**, 7–11 (2015).
107. Shen, Q., Li, L., Jiang, Y. & Wang, Q. Functional characterization of ent-copalyl diphosphate synthase from *Andrographis paniculata* with putative involvement in andrographolides biosynthesis. *Biotechnology Letters* **38**, 131–137 (2016).
108. Tang, T., Targan, S. R., Li, Z., Xu, C., Byers, V. S. & Sandborn, W. J. Alimentary Pharmacology and Therapeutics Randomised clinical trial : herbal extract HMPL-004 in active ulcerative colitis – a double-blind comparison with sustained release mesalazine. **33**, 194–202 (2010).
109. Sandborn, W. J., Targan, S. R., Byers, V. S., Rutty, D. A. & Mu, H. *Andrographis paniculata* Extract ( HMPL-004 ) for Active Ulcerative Colitis. **108**, 90–99 (2013).
110. Krebs, S., Omer, T. N. & Omer, B. Wormwood ( *Artemisia absinthium* ) suppresses tumour necrosis factor alpha and accelerates healing in patients with Crohn ’ s disease – A controlled clinical trial. *Phytomedicine* **17**, 305–309 (2010).
111. Hatziieremia, S., Gray, a I., Ferro, V. a, Paul, a & Plevin, R. The effects of cardamonin on lipopolysaccharide-induced inflammatory protein production and MAP kinase and NFKappaB signalling pathways in monocytes/macrophages. *British journal of pharmacology* **149**, 188–198 (2006).
112. Omer, B., Krebs, S., Omer, H. & Noor, T. O. Steroid-sparing effect of wormwood (*Artemisia absinthium*) in Crohn’s disease: A double-blind placebo-controlled study. *Phytomedicine* **14**, 87–95 (2007).
113. Lee, H. G., Kim, H., Oh, W. K., Yu, K. A., Choe, Y. K., Ahn, J. S., Kim, D. S., Kim, S. H., Dinarello, C. A., Kim, K. & Yoon, D. Y. Tetramethoxy hydroxyflavone p7F downregulates inflammatory mediators via the inhibition of nuclear factor  $\kappa$ B. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1030**, 555–568 (2004).
114. Esposito, G., Filippis, D. De, Cirillo, C., Iuvone, T., Capoccia, E., Scuderi, C., Steardo, A., Cuomo, R. & Steardo, L. Cannabidiol in In fl ammatory Bowel Diseases : A Brief Overview THE URGENT NEED OF NEW DRUGS FOR. **636**, 633–636 (2013).
115. Schicho, R. & Storr, M. Cannabis finds its way into treatment of Crohn’s disease. *Pharmacology* **93**, 1–3 (2014).
116. Naftali, T., Bar-Lev Schleider, L., Dotan, I., Lansky, E. P., Sklerovsky Benjaminov, F. & Konikoff, F. M. Cannabis induces a clinical response in patients with crohn’s disease: A prospective placebo-controlled study. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* **11**, 1276–1280 (2013).

117. Ali, T., Shakir, F. & Morton, J. Curcumin and Inflammatory Bowel Disease: Biological Mechanisms and Clinical Implication. *Digestion* **85**, 249–255 (2012).
118. Holt, P. R., Katz, S. & Kirshoff, R. Curcumin therapy in inflammatory bowel disease: A pilot study. *Digestive Diseases and Sciences* **50**, 2191–2193 (2005).
119. Schmid, G., Kobayashi, C., Sandell, L. & Ornitz, D. Fibroblast Growth Factor expression during skeletal fracture healing in mice. *Dev Dyn* **238**, 766–74 (2009).
120. Dogan, Z., Ergul, B., Sarikaya, M., Filik, L., Gonulta, M. A., Hucumenoglu, S. & Can, M. The protective effect of Echinacea spp. (Echinacea angustifolia and Echinacea purpurea) in a rat colitis model induced by acetic acid. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* **27**, 1827–1835 (2014).
121. Aleisa, A. M., Al-Rejaie, S. S., Abuohashish, H. M., Ola, M. S., Parmar, M. Y. & Ahmed, M. M. Pretreatment of *Gymnema sylvestre* revealed the protection against acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. *BMC complementary and alternative medicine* **14**, 49 (2014).
122. Ku, S.-K., Zhou, W., Lee, W., Han, M.-S., Na, M. & Bae, J.-S. Anti-Inflammatory Effects of Hyperoside in Human Endothelial Cells and in Mice. *Inflammation* **38**, 784–799 (2014).
123. Dost, T., Ozkayran, H., Gokalp, F., Yenisey, C. & Birincioglu, M. The effect of hypericum perforatum (St. John's Wort) on experimental colitis in rat. *Digestive Diseases and Sciences* **54**, 1214–1221 (2009).
124. Algieri, F., Zorrilla, P., Rodriguez-Nogales, A., Garrido-Mesa, N., Ba??uelos, ??scar, Gonz??lez-Tejero, M. R., Casares-Porcel, M., Molero-Mesa, J., Zarzuelo, A., Utrilla, M. P., Rodriguez-Cabezas, M. E. & Galvez, J. Intestinal anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Phlomis purpurea* L. and *Phlomis lychnitis* L. in the trinitrobenzenesulphonic acid model of rat colitis. *Journal of Ethnopharmacology* **146**, 750–759 (2013).
125. Impellizzeri, D., Bruschetta, G., Di Paola, R., Ahmad, A., Campolo, M., Cuzzocrea, S., Esposito, E. & Navarra, M. The anti-inflammatory and antioxidant effects of bergamot juice extract (BJe) in an experimental model of inflammatory bowel disease. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* **34**, 1–9 (2014).
126. Mika, D. & Guruvayoorappan, C. Experimental study on anti-tumor and anti-inflammatory effect of *Thespesia populnea* phytochemical extract in mice models. *Immunopharmacology and immunotoxicology* **35**, 157–63 (2013).
127. Nirmal, S. A., Dhikale, R. S., Girme, A. S., Pal, S. C. & Mandal, S. C. Potential of the plant *Thespesia populnea* in the treatment of ulcerative colitis. *Pharmaceutical Biology* **53**, 1379–1385 (2015).
128. Sangiovanni, E., Lorenzo, C. Di, Colombo, E., Colombo, F., Fumagalli, M., Frigerio, G., Restani, P. & Dell'Agli, M. The effect of in vitro gastrointestinal digestion on the anti-inflammatory activity of *Vitis vinifera* L. leaves. *Food & Function* **6**, 2453–2463 (2015).
129. Li, X., Yang, X., Cai, Y., Qin, H., Wang, L., Wang, Y., Huang, Y., Wang, X., Yan, S., Wang, L., Zhao, X., Li, W., Li, S., Chen, J. & Wu, Y. Proanthocyanidins from grape seeds modulate the NF- $\kappa$ B signal transduction pathways in rats with tns-induced ulcerative colitis. *Molecules* **16**, 6721–6731 (2011).

*Aplicação de fitoterapia como terapêutica coadjuvante e preventiva das doenças inflamatórias intestinais: Colite Ulcerosa e Doença de Crohn*

130. Flora, A. & Dichi, I. Aspectos atuais na terapia nutricional da doença inflamatória intestinal. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica* 131–137 (2006).
131. Moorthy, D., Cappellano, K. L. & Rosenberg, I. H. Nutrition and Crohn's disease: An update of print and Web-based guidance. *Nutrition Reviews* **66**, 387–397 (2008).
132. Kortman, G. A. M., Mulder, M. L. M., Richters, T. J. W., Timmerman, H. M., Roelofs, R., Wiegerinck, E. T., Cherayil, B. J. & Tjalsma, H. Low dietary iron intake restrains the intestinal inflammatory response and pathology of enteric infection by food-borne bacterial pathogens. **45**, 2553–2567 (2015).
133. Campos, F. G., Waitzberg, D. L., Teixeira, M. G., Mucerino, D. R., Kiss, D. R. & Habr-Gama, A. Pharmacological nutrition in Inflammatory Bowel Diseases. *Nutricion Hospitalaria* **18**, 57–64 (2003).
134. Campos, F. G., Waitzberg, D. L., Teixeira, M. G., Mucerino, D. R., Habr-Gama, A. & Kiss, D. R. Inflammatory bowel diseases: principles of nutritional therapy. *Revista do Hospital das Clínicas* **57**, 187–198 (2002).
135. Langmead, L. & Rampton, D. S. Review article: Complementary and alternative therapies for inflammatory bowel disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* **23**, 341–349 (2006).