



Luyi Jin

Ação de Flavonoides na Doença Inflamatória Intestinal

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor João Laranjinha e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Luyi Jin

Ação de Flavonoides na Doença Inflamatória Intestinal

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor João Laranjinha e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Luyi Jin, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2010148896, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Setembro de 2015

O Tutor

(Professor Doutor João Laranjinha)

A Aluna

(Luyi Jin)

Agradecimentos

Encontrando-se perto o fim desta longa jornada, é com muita satisfação, orgulho e contentamento que presto a minha homenagem a todos os que de uma forma ou de outra tornaram possível esta aventura:

Aos meus pais e irmão, pela confiança e apoio que sempre manifestaram ao longo de todo o percurso académico.

Aos meus tios, Paula e António, pelo incentivo, acompanhamento e disponibilidade que demonstraram em todos os momentos.

A todos os meus amigos que, desde início, cooperaram e complementaram o meu trajeto académico e foram parte do meu engrandecimento enquanto pessoa.

A todos os professores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pela sua atenção e dedicação na transmissão de conhecimentos nas mais diversas áreas.

Ao meu Tutor, em particular, ao Dr. Professor João Laranjinha, pela excelente orientação, pela liberdade que me deu na escolha da área de mais interesse para esta monografia, sempre se mostrou disponível para me ajudar e aconselhar.

Ao Dr. Jaime Ramos, médico de especialidade gastroenterologia do hospital dos Capuchos, por me ter recebido, por ter disponibilizado o seu tempo com as minhas dúvidas, pela sua orientação na pesquisa e na bibliografia do trabalho.

À assistente técnica Fernanda, que tornou possível o encontro com o Dr. Jaime Ramos.

Abreviaturas

AP – Fosfatase Alcalina

ASA – Aminossalicilato

AVC – Acidente Vascular Cerebral

AZA – Azatioprina

CMDI – Índice de lesão da mucosa do colón

CU – Colite Ulcerativa

COX-2 – Cicloxigenase-2

DAI – Índice da atividade da doença

DC – Doença de Crohn

DII – Doença Inflamatória Intestinal

DSS – *Dextran Sulfate Sodium*

EGCG – Epigallocatequina-3-galato

GSH – Glutathione

GSH-Px – Glutathione Peroxidase

IFN – Interferão

I κ B – Inibidor κ B

IKK α/β – Cinase inibidora do fator nuclear alfa/beta

IL – Interleucina

iNOS – Óxido nítrico-sintase induzida

JAM-A – *Junctional Adhesion Molecule-A*

JNK – c-Jun N-terminal cinase

LTB₄ – Leucotrieno B₄

MDA – Malondialdeído

MPO – Mieloperoxidase

NCB-02 – Extrato de curcumina

NF-kB – Fator Nuclear kB

NO – Óxido Nítrico

PGE2 – Prostaglandina E2

PPAR- γ – *peroxisoma proliferator-activated receptor gama*

SOD – Superóxido Dismutase

SZ – Sulfasalazina

TNBS – *Trinitrobenzene Sulphonic Acid*

TNF – Fatores de Necrose Tumoral

TJP – Proteínas de junções ocludentes

Índice

Abreviaturas	1
Resumo	4
Abstract	4
Introdução	5
Doença Inflamatória Intestinal (DII)	6
Doença de Crohn (DC)	6
Colite Ulcerosa (CU).....	7
Epidemiologia	8
Etiopatologia da DII	9
Citocinas & DII.....	10
O objetivo do tratamento	11
Tratamento alternativo	13
Fitoquímicos & DII	13
Flavonoides	16
Flavonoides & DII.....	18
Estudos pré-clínicos	19
Estudos Clínicos	22
Conclusão	23
Referência Bibliográfica	24

Resumo

A Doença Inflamatória Intestinal (DII), que inclui a Doença de Crohn (DC) e Colite Ulcerosa (CU), representa um grupo de doença inflamatória crônica do trato gastrointestinal. A etiologia exata da DII continua desconhecida, mas os desequilíbrios em citocinas pró-inflamatórias são principais fatores que desempenham na mediação e modulação da inflamação. Ao longo do tempo, a epidemiologia da DII tem sofrido alterações a nível geográfico, pensa-se que os fatores ambientais desempenham um papel crítico na modificação de expressão da doença. Nos últimos anos, em Portugal verificou-se um aumento de incidência da DII, afetando atualmente cerca de 7000 a 15000 portugueses.

O tratamento farmacológico recorrente na DII assenta principalmente em aminossalicilatos, corticosteroides e imunossupressores. No entanto, o uso prolongado destas têm consequências graves. A insatisfação do tratamento convencional levou a um aumento na procura de terapêuticas alternativas, tais como: terpenoides, polifenóis, fitosteróis, etc. Este trabalho sumariza a importância dos flavonoides como agente terapêutico na DII.

Abstract

The Inflammatory Bowel Disease (IBD) including Crohn's disease (CD) and Ulcerative Colitis (UC) is a chronic inflammatory disease that affects the gastrointestinal tract. The exact etiology of IBD remains unknown, but the imbalances in proinflammatory cytokines are the main factors that play a critical role in mediating and modulating inflammation. Over time, the epidemiology of IBD has been changed geographically, it is believed that environmental factors play a critical role in the expression of this disease. In recent years, in Portugal there was an increase of the incidence of IBD, currently affecting about 7000 to 15000 of the population.

The standard therapy in IBD is based mainly on aminosalicylates, corticosteroids and immunosuppressants. However, after long-term use of these drugs serious consequences happen. The consequences of the standard treatment led to an increasing demand for an alternative therapy such as terpenoids, polyphenols, phytosterols, etc. This article summarizes the importance of flavonoids as a therapeutic agent in IBD.

Introdução

A Doença Inflamatória Intestinal (DII), grupo de condições que reúne a Doença de Crohn (DC) e Colite Ulcerosa (CU), apresenta incidências variáveis em função da região geográfica e dos diferentes grupos populacionais. A prevalência mais alta da DII foi relatada no Canadá e na Europa. Os dados epidemiológicos obtidos nos últimos anos coletaram um aumento de incidência da DII em países em via de desenvolvimento, sugere-se que a evolução epidemiológica poderá estar relacionada com a ocidentalização do estilo de vida e da industrialização^[1].

O tratamento farmacológico da DII tem como objetivo melhorar a qualidade de vida do doente, prevenir e tratar as complicações associadas com a desordem, evitar a cirurgia, diminuir a hospitalização e o custo global^[2]. A terapêutica *standard* recorrente na DII, inclui: Aminossalicilatos, corticosteroides e imunossupressores; estes mostraram diversos efeitos colaterais e consequências graves. Nos últimos anos houve uma extensa investigação e pesquisa nas alternativas no tratamento da DII.

Em particular, os flavonoides são um importante alternativo terapêutico de origem natural para a DII. Os diferentes flavonoides são encontrados em frutas, flores e vegetais, a sua atividade antioxidante e anti-inflamatória tem merecido destaque tanto em condições experimentais como em seres humanos. Atualmente calcula-se que mais de 4000 variedades de flavonoides foram identificados^[2].

Com base na pesquisa efetuada ao longo da elaboração deste trabalho, tentou-se perceber algo mais sobre a DII e os principais fatores que desempenham na modulação da inflamação. No decorrer do trabalho, foram abordados vários tópicos relacionados com a importância dos flavonoides na DII, nomeadamente CU e DC, desde a sua classificação, aos seus mecanismos de ação, aos estudos pré-clínicos e clínicos. Por conseguinte, o objetivo do presente trabalho é fornecer uma visão global do papel dos flavonoides no tratamento da DII.

Doença Inflamatória Intestinal

Doença inflamatória intestinal (DII) é uma doença inflamatória crônica do trato gastrointestinal de origem idiopática, provocando muitas vezes cólicas abdominais recorrentes e diarreias^[2]. As duas principais sub entidades de DII incluem a colite ulcerosa (CU) e a doença de Crohn (DC), que têm muitas semelhanças, sendo por vezes difícil distinguir uma da outra. A doença de Crohn é caracterizada por uma inflamação granulomatosa que pode ser transmural com tendência para formar fístulas e estenoses, pode afetar todo o trato gastrointestinal de um modo descontínuo. Na Colite Ulcerosa, a inflamação está confinada ao colón e geralmente afeta as camadas superficiais da parede intestinal^[3].

Doença de Crohn

A Doença de Crohn é uma inflamação crônica da parede intestinal, que afeta toda a espessura da parede intestinal. Durante a progressão da DC, o processo inflamatório pode envolver qualquer parte do trato digestivo, desde a boca até ao ânus, inclusivamente na pele à volta deste, que conduz a um espectro de manifestações clínicas mais variável do que o da CU, no entanto, afeta principalmente a porção mais baixa do intestino delgado (íleo) e o Colón. Esta patologia apresenta um pico de incidência entre 20-30 anos.

A área do intestino afetada pela doença varia de indivíduo para indivíduo, deixando por vezes áreas normais intercaladas com as zonas afetadas. Em 30 a 40% dos pacientes com DC a inflamação limita-se ao intestino delgado, em 40 a 50% além do intestino delgado acomete ainda o intestino grosso e em 15 a 25% a doença está limitada ao colon. Geralmente, o íleo terminal é considerado o epicentro da doença, enquanto que o reto é poupado e o duodeno raramente está envolvido.

A DC normalmente reativa-se em intervalos regulares ao longo de toda a vida, responsável pelos períodos de agudização e remissão. Não se sabe o que é que desencadeia novas crises e sintomas. A inflamação tem tendência para recorrer na mesma área intestinal anteriormente afetada, mas, se esta tiver extirpada cirurgicamente, pode estender-se a outras áreas. A probabilidade de complicações da DC aumenta ao longo do tempo.

Na fase aguda de DC, a mucosa ou revestimento interno e as camadas mais profundas da parede intestinal ficam inflamadas, com irritação, aumento de espessura ou erosão em algumas áreas. Este processo leva ao aparecimento de úlceras, fístulas e estenoses. A

progressão da lesão tecidual varia de semanas a décadas, mas pode ser interrompida, reverter espontaneamente ou pelo tratamento.

Os sintomas mais característicos da DC consistem em diarreia crónica, perda de peso (perda de superfície de digestão e de absorção) e dor abdominal. Nas crianças, os sintomas gastrointestinais tais como a dor abdominal e a diarreia podem nunca se manifestar. Os sintomas principais podem ser inflamações articulares, febre, anemia ou atraso no crescimento.

As complicações frequentes na DC incluem a obstrução intestinal, canais de comunicação anormais (fístulas) e abscessos (bolsas de infeção cheias de pus). As fístulas podem desenvolver-se entre duas porções diferentes do intestino, podem também ligar o intestino e a bexiga ou o intestino e a superfície da pele, sobretudo à volta do ânus. A perfuração do intestino delgado é uma complicação rara, em relação ao intestino grosso este é afetado pela hemorragia rectal. Ao fim de muitos anos, o risco de cancro do cólon aumenta. Cerca de um terço dos que desenvolvem a doença de Crohn têm problemas à volta do ânus, especialmente fístulas e gretas (fissuras) no seu revestimento mucoso.

A DC está associada a perturbações que afetam outras partes do corpo, cálculos biliares, inflamação das articulações/artralgia, episclerite, estomatites aftosa, eritema nodoso, pioderma gangrenoso, espondilite ancilosante, sacroileíte, uveíte e colangite esclerosante primária.

Colite ulcerosa

A Colite ulcerosa (CU) é uma doença inflamatória crónica do intestino grosso, ao contrário da DC, a CU normalmente não afeta a espessura completa da parede intestinal. Em geral, a doença inicia-se no reto ou no colón sigmoide, estende-se de forma parcial ou total pelo restante intestino grosso, a inflamação ocasiona úlceras da camada interna do cólon quando afeta apenas a parte mais distal do intestino grosso/ reto e tem o nome de proctite ulcerosa. A CU pode começar em qualquer idade, mas normalmente o seu pico de incidência é entre os 30-40 e 60-70 anos, a prevalência da CU é realmente semelhante entre homens e mulheres.

Estudos mostram que cerca de 10% das pessoas que parecem ser afetadas por CU sofrem um único ataque. Um ataque pode ser súbito e intenso, provocando diarreia violenta, febre alta, dor abdominal e peritonite. Durante o ataque, o doente fica profundamente debilitado.

Em geral, o mais frequente é que os ataques comecem gradualmente e que a pessoa sinta uma necessidade de evacuar, cólicas ligeiras, sangue e muco visíveis nas fezes.

A CU é uma patologia crónica, caracterizada por períodos de agudização alternando com períodos de remissão. A rectorragia é normalmente, o sintoma mais vulgar na CU, as rectorragias podem surgir de forma descontínua e isolada como acontece, por vezes, na proctite. Nas situações mais grave ocorre, frequentemente, diarreia com muco, pus e sangue, vontade evacuar e dor abdominal. Na fase aguda da doença pode, também, verificar-se o aparecimento de febre, anemia, emagrecimento e dores articulares, uma vez que se trata de uma doença sistémica, podem também ocorrer outras manifestações no organismo^[2].

Epidemiologia

A doença inflamatória intestinal apresenta incidências variáveis em função da região geográfica e dos diferentes grupos populacionais. Ao longo do tempo, a epidemiologia da DII tem sofrido alterações a nível geográfico, pensa-se que os fatores ambientais desempenham um papel fulcral na modificação de expressão da doença.

Os estudos iniciais sobre a incidência da DII apontavam para valores três vezes superiores nos países do hemisfério norte quando comparados com os do hemisfério sul^[4]. No entanto, houve um aumento de incidência da DII em países em via de desenvolvimento, nos últimos anos, sugere-se a evolução epidemiológica que poderá estar relacionada com a ocidentalização do estilo de vida e da industrialização. Os estudos recentes apontam que o tabagismo e a apendicectomia podem ser dois fatores fortemente influenciados, no entanto, não se pode concluir por si só a variação de incidência de DII a nível global.

Urbanização das sociedades, alteração na dieta, uso de antibióticos, estado de higiene, exposições microbianas e poluição têm sido implicados como potenciais fatores de risco ambientais para DII. A alteração socioeconómica pode ocorrer de forma diferente em diferentes áreas geográficas e populacionais e, conseqüentemente, é importante considerar a heterogeneidade de fatores de risco aplicáveis a cada doente. Fatores de risco ambientais em cada indivíduo, familiar, comunidade, país e região podem contribuir para a patogénese da DII. A variabilidade geográfica na DII fornece pistas para os investigadores, estabelecendo a relação entre os possíveis fatores ambientais e a sua etiologia^[1].

Hoje, a prevalência da DC é mais ou menos equivalente à de CU, tanto na América do Norte como na Europa. Um dos maiores estudos norte-americanos, com base em dados de seguros de saúde, a partir dos 9 milhões de indivíduos, calcularam que a prevalência da DC é

de 201 e a prevalência da CU é de 238, estima-se que existam mais de 1,3 milhões de adultos com DII nos Estados Unidos. Em geral, as mulheres têm um risco de 20 – 30% maior em desenvolver a DC, embora essa diferença de gênero é também observado para a CU. Em Portugal verificou-se um aumento da incidência da DII nos últimos anos, afetando atualmente cerca de 7000 a 15000 portugueses^[5].

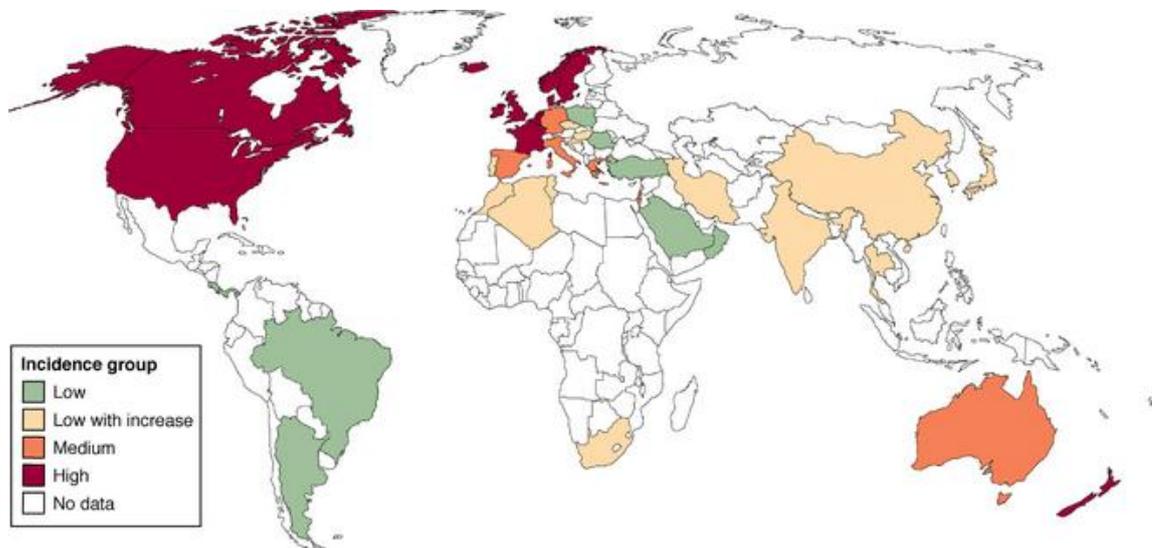


Figura 1: O mapa global sobre a incidência da DII; o vermelho refere-se à incidência anual superior a $10/10^5$; o laranja à incidência de $5-10/10^5$; o verde à incidência inferior a $4/10^5$; o amarelo é de baixa incidência, no entanto, existe um crescimento contínuo; o branco indica ausência de dados^[1].

Etiopatologia da DII

A etiologia exata da DII é desconhecida, mas pode ser um resultado da combinação de variações genéticas, influências ambientais, alteração da flora intestinal e fatores imunológicos^[6].

Nos últimos anos, houve um aumento de incidência da DII, que pode estar relacionada com vários fatores, como: ausência de parasitas, exposição a novos antígenos, condições de habitação, tudo isto condiciona a um aumento de suscetibilidade do hospedeiro à DII; porém, o uso de água e alimentos estéreis, higiene e saneamento potável e nutrição seletiva condiciona a uma diminuição de estimulação do sistema imunológico.

As principais causas de DII não são bem compreendidas, mas os desequilíbrios em citocinas pró-inflamatórias, tais como: Fatores de Necrose Tumoral α (TNF- α); Interferão- γ (IFN- γ); Interleucina (IL): IL-1, IL-6, e IL-12 e citocinas anti-inflamatórias, incluem: IL-4, IL-10 e IL-11; são os principais agentes que desempenham um papel central na mediação e modulação da inflamação^[7].

Citocinas & DII

As citocinas desempenham um papel importante na DII porque são moléculas chave na sinalização do sistema imune intestinal. As citocinas são pequenas proteínas produzidas principalmente pelas células do sistema imune que facilitam na comunicação intercelular, estimulam a proliferação de células efectoras e funcionam como mediador de inflamação local e sistêmica através de vias autócrina, parácrina ou endócrina^[8].

TNF- α é uma das citocinas pró-inflamatórias mais importantes, libertada principalmente por macrófagos durante a resposta inflamatória precoce e tem uma ação direta sobre o tecido epitelial intestinal. A secreção de TNF- α resulta do rompimento da barreira epitelial, leva à indução de apoptose de células epiteliais, e à indução da secreção de quimiocinas pelas células de epitélio intestinal^[9].

A interleucina-1 β e IL-6 são os principais mediadores na progressão da DII. Um recetor antagonista de IL-1 foi mostrado na supressão de infiltração de células inflamatórias para o intestino grosso. A Interleucina-6 estimula a quimiotaxia dos neutrófilos, que está associada com a necrose no cólon, o que, por sua vez, leva à destruição dos tecidos.

A Interleucina-10 é uma outra citocina com atividade imuno-reguladora bem estabelecida, e foi confirmada em vários modelos de animais, *in vitro* e *in vivo*. Os estudos clínicos relatam que uma injeção intravenosa de IL-10 em voluntários saudáveis foi bem tolerada e produz efeitos inibitórios sobre as células T na supressão de produção de citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-1 β ^[10].

A enzima Mieloperoxidase (MPO) presente em leucócitos da linhagem granulocítica e monocítica, tem participação em diversos processos fisiológicos, desempenha um papel fundamental na produção de espécies reativas de oxigénio. Nas células de áreas de edema, provoca a necrose do intestino grosso em animais com colite experimental aguda^[7].

NF- κ B é um complexo proteico, representa uma importante via de sinalização, com um papel fulcral na regulação de inúmeros genes envolvidos, tanto na resposta inflamatória

como na sobrevivência das células, incluindo: a citocina pró-inflamatória, a morte celular, as proteínas de sobrevivência; as moléculas de adesão intercelular; COX-2 e iNOS^[7].

Segundo Zhang et al^[11], o NF-kB desempenha um papel fundamental na regulação do gene de transcrição de citocinas pró-inflamatórias, tais como: IL-1 β , IL-6, o TNF- α , a COX-2, iNOS, e moléculas de adesão durante o processo inflamatório da CU^[11]. Um estudo recente mostrou que os inibidores de NF-kB levam a uma diminuição da inflamação na DII, num modelo animal. Deste modo, ao inibir a atividade de NF-kB pode ajudar a atenuar a severidade da DII. Pensa-se que ao atenuar a via NF-kB (ou seu alvo) durante a cascata de inflamação, leva à supressão de expressão de múltiplos genes pró-inflamatórios, que sejam mais eficazes do que bloquear fatores pró-inflamatórios individuais, tais como TNF- α , IL-1 β , ou IL-6 no tratamento de CU^[7].

O PPAR- γ tem sido reconhecido como um alvo potencial no controlo da inflamação intestinal. Por exemplo, o reforço na atividade de PPAR- γ tem uma ação anti-inflamatória, que poderá estar relacionada com a sua capacidade de interferir na ativação de NF-kB e pode ser um potencial agente no controle da DII^[7].

Citocinas Pró-inflamatórias e anti-inflamatórias; e proteínas de expressão inflamatórias, tais como: COX-2 e de iNOS, que são expressas durante a resposta precoce aos mediadores pró-inflamatórios e estímulos mitogénicos, desempenham um papel importante na fisiopatologia da DII. Os estudos recentes mostram uma forte evidência da proteína cinase, tal como c-Jun N-terminal cinase (JNK) e o seu papel na inflamação intestinal em doentes com DII. JNK regula a maturação e a atividade de células T, e a síntese de cinases pró-inflamatória, incluindo IL-2, IL-6 e TNF- α . Assim, a proteína cinase JNK é um alvo relevante na terapia de doenças inflamatórias^[7].

O objetivo do tratamento

Na última década, houve um avanço significativo na compreensão da etiologia e patogénese da doença inflamatória intestinal (DII). As duas principais entidades da DII, nomeadamente, Doença de Crohn (DC) e Colite ulcerosa (CU) são caracterizadas como uma doença crónica, recidiva, acompanhada por episódios críticos de inflamação no trato gastrointestinal^[12].

O tratamento da DII baseia-se em função da gravidade e extensão da doença, o objetivo da terapêutica primária na DII inclui melhorar a qualidade de vida do doente, induzir e manter a remissão clínica, prevenir e tratar as complicações associadas com a desordem, encerrar as fístulas, cicatrizar a mucosa intestinal, restaurar o défice nutricional, minimizar a doença e as

complicações relacionadas com a terapêutica, evitar a cirurgia, diminuir a hospitalização e o custo global^{[2][12]}. A medida de tratamento conservador, como a cirurgia só é requisitada quando há uma falência do tratamento convencional.

O tratamento farmacológico da DII baseia-se em cinco categorias, nomeadamente anti-inflamatórios, imunossuppressores, anticorpos monoclonais, antibióticos e fármacos com ação no alívio sintomático.

As medidas convencionais permanecem na base do tratamento para a maioria dos doentes com DII, apenas uma pequena minoria requer uma terapia biológica, tal como os anticorpos monoclonais, uma vez que estes apresentam um elevado custo para as entidades competentes. Nos últimos anos a terapia convencional tem sido especialmente otimizada a nível de eficácia e segurança. A seguinte tabela menciona as categorias de fármacos atualmente utilizados no tratamento de doentes com DII.

Grupo de fármacos	Fármacos
Anti-inflamatório	<ul style="list-style-type: none">• Mesalazina.• Corticosteroides (Prednisolona, Metilprednisolona, Budesonida).
Imunossupressor	<ul style="list-style-type: none">• Azatioprina, 6-mercaptopurina, Metotrexato, Ciclosporina, Tacrolimus.
Antibióticos	<ul style="list-style-type: none">• Metronidazol, Ornidazol, Claritromicina, rifaximina, ciprofloxacina, Antituberculosos.
Anticorpos Monoclonais	<ul style="list-style-type: none">• Influximab, golimumab, adalimumab, vedolizumab.

Tabela I: Grupo de fármacos utilizados no tratamento da Doença Inflamatória Intestinal.

Acredita-se que a DII é o resultado da combinação de 4 fatores, que são: influências ambientais, variações genéticas, alterações da flora intestinal e perturbações na resposta de imunidade inata e adaptativa. A combinação de todos estes fatores é uma das razões que provavelmente leva à manifestação clínica da doença. No entanto, cada doente apresenta o seu próprio quadro clínico e diferentes respostas terapêuticas, facto que leva a que se

questione as combinações de fatores que varia de doente para doente, daí o tratamento da DII ser adaptado a cada caso^[12].

Tratamento alternativo

Atualmente, existem vários fármacos que têm sido aprovados no tratamento da DII, a terapêutica *standard* recorrente na DII, inclui: Aminossalicilatos (ASA) ex: Sulfasalazina e Mesalazina; Glucocorticosteroides ex: Prednisolona e Budesonida; Imunossupressor ex: Azatioprina (AZA), 6-mercaptopurina e Metotrexato; E anticorpos monoclonais ex: Infiximab, Adalimumab, Golimumab e Vedolizumab^[12]. No entanto, o uso a longo prazo provoca uma série de efeitos adversos e complicações. Para superar as limitações da terapêutica convencional da DII, houve necessidade clínica de procurar alternativas que fossem eficazes e, simultaneamente seguras. Neste momento, existem vários fitoquímicos de origem natural, que englobam uma vasta entidade química, tais como: polifenóis, terpenoides, flavonoides e alcaloides.

Os fitoquímicos foram encontrados para induzir um largo espectro de atividades, tais como a redução no *stress* oxidativo, a supressão da inflamação e proliferação celular, modulação de numerosos sinais de tradução e indução de apoptose. Muitos desses fitoquímicos têm servido como moléculas de base a serem exploradas pelas empresas no *design* molecular e no seu desenvolvimento^[2].

Fitoquímicos & DII

O termo “*fito*” deriva da palavra grega “*phyto*” que tem o significado de planta, deste modo o nome fitoquímico é atribuído a químicos provenientes de plantas. Desta forma, estes são definidos como bioativos, compostos não nutrientes das plantas, que incluem: frutas, legumes, grãos e outros alimentos vegetais, com atividade terapêutica em certas doenças. O grupo dos fitoquímicos engloba uma série de sub classificações, que são: terpenoides, polifenóis, Compostos Organossulfurados, fitosteróis e alcaloides^[2].

Terpenoides constituem um dos maiores grupos de produtos naturais e formam uma diversificada classe que inclui mais de 40 000 compostos. Estes são frequentemente encontrados em óleos essenciais das plantas e contêm quintessência, a fragrância das plantas. Os terpenoides são classificados: Monoterpenos (ex: limoneno, carvona e piretrinas);

Diterpenos (ex: retinol e ácido retinóico); Triterpenos (ex: ácido ursólico e ácido betalinico); tetraterpenos (ex: α -caroteno, luteína e licopeno)^[13].

O mais conhecido dos terpenoides é o D-limoneno, que é um monoterpene monocíclico com fragrância citrina, sendo um dos principais constituintes de vários óleos de citrinos (ex: laranja, limão, lima e toranja). D-limoneno apresenta efeitos anti-inflamatórios *in vitro* com capacidade de inibir TNF- α induzida por NF-kB. É um potente protetor da membrana epitelial e reduz a produção de citocinas no local da inflamação, conclui-se que o D-limoneno comporta um suplemento alimentar com potencial na redução de colites em humano^[14].

Os compostos organossulfurados são abundantes em vegetais *Allium* como no caso do alho, cebola e cebolinha. São compostos que contêm elevados teores de substâncias bioativas, tais como: sulfureto de alilo e alicina. Os estudos revelam que o extrato de alho tem ação sobre a inflamação associada com DII através da inibição de várias citocinas como IL-12, TNF- α , IL-1 α , IL-6, IL-8, IFN- γ , e IL-2, e aumenta a regulação na produção de IL-10^[15].

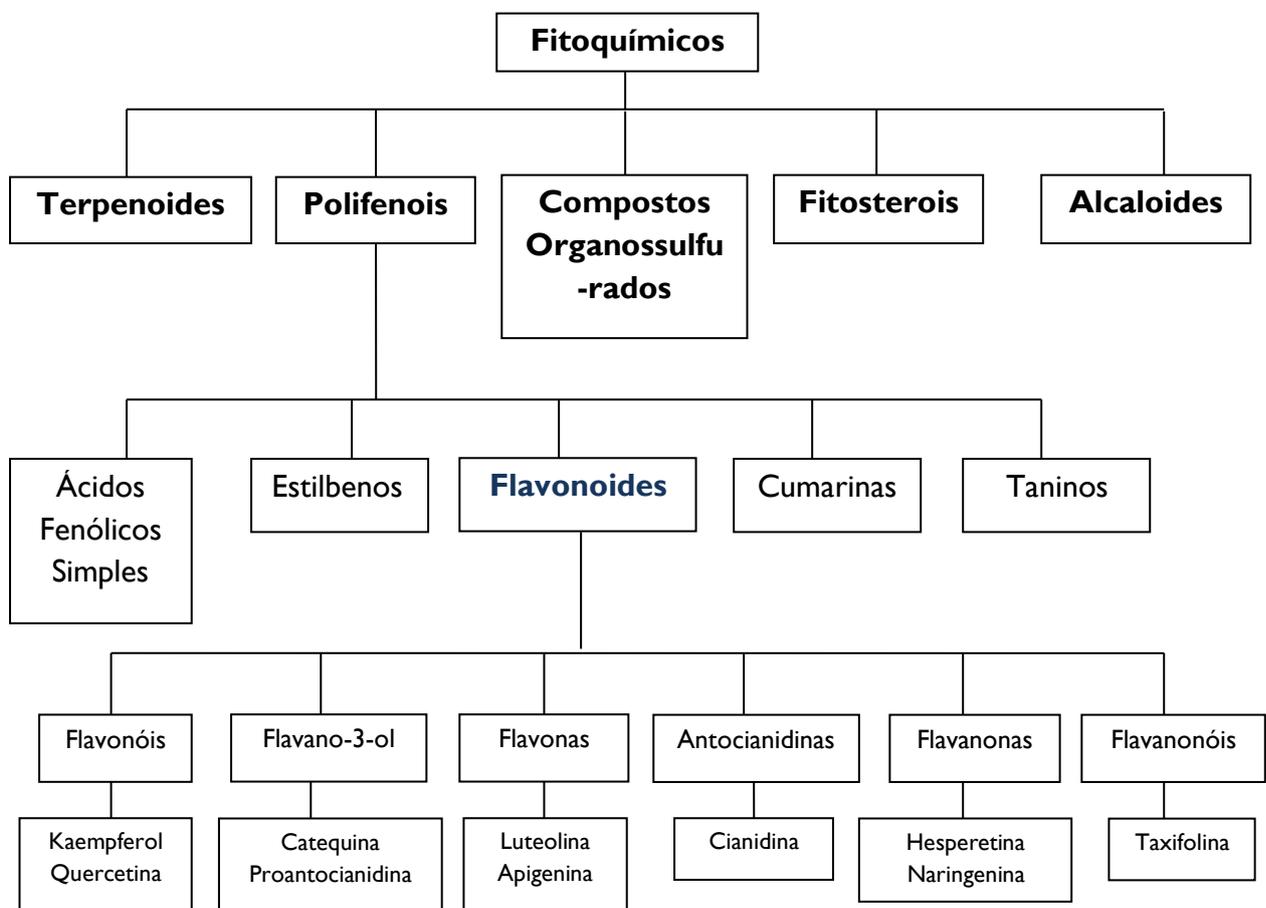
Os fitosteróis são substâncias alcoólicas, que pertencem ao grupo de esteroides lipofílicos. Estes encontram-se nas plantas com uma estrutura química semelhante ao colesterol, mas diferem em cadeias laterais e na saturação do anel. As fontes alimentares ricas em fitosteróis são: nozes, cereais, leguminosas como amendoins e óleos vegetais. β -Sitosterol é um esterol de planta, comum em espécies como *Esenbeckia leiocarpa*, que apresenta ação anti-inflamatória sobre modelo de colite induzido por TNBS, este inibe encurtamento do cólon, reduz a atividade da mieloperoxidase. Porém, este também exerce uma ação inibitória na expressão de citocinas pró-inflamatórias, tais como: TNF- α , IL-1 β , IL-6 e COX-2. Melhorando assim a colite por atenuar a via NF-kB^[16].

Alcaloides são compostos orgânicos heterocíclicos de baixo peso molecular, possuem um ou mais nitrogénios na sua estrutura química. Estes são comuns em plantas de famílias como: *Papaveraceae*, *Papilionaceae*, *Ranunculaceae* e *Solanaceae*, porém também podem ser encontrados em organismos marinhos, microrganismos, insetos e animais. Os alcaloides foram classificados em Indólicos (ex: Vinblastina e Quinina); Benzilisoquinolínicos (ex: Morfina e Colchicina); Tropanos e Nicotina (ex: Atropina e Escopolamina); E Purina (ex: cafeína e teobromina). Berberina é um alcaloide isoquinolínico presente em várias plantas, tais como: *Hydrastis canadensis*, *Berberis aquifolium*, e *Berberis vulgaris*. Estudos experimentais demonstraram efeitos benéficos de berberina em modelos de colite induzida por DSS, neste verificou-se uma melhoria na perda de peso corporal e no comprimento do cólon, também se detetou uma redução significativa de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IFN- γ e

IL-17. Estudos mais recentes mostram que estes previnem a disrupção da integridade intestinal preservando a membrana intestinal e impedir a apoptose^[17].

Os polifenóis são compostos naturais, caracterizados por possuírem uma estrutura fenólica. Estes representam um grande grupo de fitoquímicos com mais de 8000 compostos identificados. Os polifenóis eram conhecidos como potentes antioxidantes na defesa contra o stress oxidativo devido ao excesso de espécies reativas de oxigénio^[18]. No entanto, é hoje sabido que o seu efeito benéfico na saúde não exercido através de atividade antioxidante, que não podem exibir *in vivo* pois a estrutura é modificada durante a absorção e no fígado, bloqueando os grupos responsáveis pela atividade antioxidante observada *in vitro*. Provavelmente, o único compartimento onde poderão exercer atividade antioxidante é exatamente antes da absorção no estômago e intestino.

Os polifenóis foram classificados em vários grupos, tais como: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, taninos e cumarinas. Numerosos estudos revelam a sua eficácia em doentes com DII^[19].



Esquema 1: Classificação dos fitoquímicos^[2].

Flavonoides

Em 1930, uma nova substância química foi isolada a partir de laranjas pelo cientista húngaro Albert Szent – Gyorgyi. Inicialmente classificou-a de vitamina P, acredita-se que seja um membro de uma nova classe de vitaminas. Mais tarde tendo-se verificado que de facto se tratava de um flavonoide, a Rutina. Atualmente calcula-se que mais de 4000 variedades de flavonoides foram identificados^[20].

Os flavonoides são compostos bioativos que constituem um grande grupo de polifenóis, metabolitos secundários de plantas, tendo uma estrutura benzo-y-pirona, são ubiqüamente presente em folhas, flores, raízes e frutos das plantas. O mesmo composto pode ainda apresentar diferentes concentrações dos órgãos vegetais em que se encontram. Estas concentrações podem ser influenciadas por diversos fatores naturais como: radiação solar, raios UV, estações do ano e ainda outros fatores como poluentes que podem alterar o metabolismo da planta. Em muitos países, estes são consumidos regularmente numa dieta equilibrada^[2].

Dentre os flavonoides atualmente estudados, têm merecido destaque em virtude da sua ação anti-inflamatória e antioxidante tanto em condições experimentais como em seres humanos, pelas seguintes razões:

- a) Atuam como moduladores de resposta imune, inibem as enzimas responsáveis na expressão e atividade de processos inflamatórios. Em particular são ativadores do sistema Keap1/Nrf2, levando à expressão de genes de fase II e ao aumento da resistência celular a danos posteriores. Pensa-se que este tipo de resposta hormética é o principal mecanismo pelo qual os flavonoides exercem os seus efeitos benéficos *in vivo*.
- b) Estudos *in vitro* demonstram a sua capacidade de reduzir a atividade de inúmeras células do sistema imune.
- c) A capacidade de proteger os danos no intestino causados pelo lipoperoxidativo.

Na atualidade, os flavonoides são descritos em 6 classes, nomeadamente: flavonóis (ex: kaempferol e quercetina); flavano-3-ol (ex: catequina e proantocianidina); flavonas (ex: luteolina e Apigenina); antocianinas (ex: cianidina); flavanonas (ex: hesperetina e naringenina); flavanonóis (ex: taxifolina)^[21].

Destacam-se os flavonóis que são os flavonoides mais abundantes e amplamente distribuídos na natureza. As fontes mais ricas de flavonóis incluem as cebolas, maçãs, cidra, uvas, vinho,

brócolos e chá. Os flavonóis mais comuns no reino das plantas são: quercetina, kaempferol, miricetina, tamarixetina e morina.

Kaempferol pertence ao grupo dos flavonóis, este é caracterizado pela sua ampla atividade farmacológica, tal como: ação antioxidante, anticancerígena, cardioprotetor, neuroprotetor, antialérgico e antidiabético. Foi detetado a sua ação anti-inflamatória em situações de colite, com capacidade na supressão dos níveis de NO, PGE₂, LTB₄ e MPO^[22].

Quercetina é um flavonol presente em maçãs, cebolas, frutas cítricas, frutas vermelhas, uvas, brócolos e chá. A atividade antioxidante de quercetina pode ser atribuída à presença de grupos hidroxilos na sua estrutura química. Os estudos demonstram que a quercetina possui atividade antiviral, antibacteriana, antioxidante, anti-inflamatória, anti-cancerígena, antidiabético, e também apresenta propriedades de relaxamento muscular. A quercetina previne a perturbação da barreira intestinal através do aumento de expressão de TJPs, tal como: TJP-2, claudina-4 e ocludina, o que demonstra a sua importância na DII. Há evidências de que uma dieta rica em quercetina e rutina melhora a colite induzida pelo TNBS em ratos, por inibição de TNF- α ^[23].

Flavano-3-ol pode ser classificado como monómeros (catequinas) e polímeros (proantocianidinas). Epigallocatequina-3-galato (EGCG) é a substância natural da classe das catequinas de maior abundância no chá verde, *Camellia sinensis*, chegando a representar cerca de 50% do total das catequinas encontradas no chá. Nestas foram demonstradas o efeito benéfico em estudos de diabetes, doença de Parkinson, Acidente Vascular Cerebral (AVC), Alzheimer, obesidade e cancro. EGCG exerce um efeito antioxidante sobre o organismo, esta suprime a quantidade de NO e malondialdeído (MDA), aumenta a enzima superóxido dismutase (SOD) – uma importante defesa antioxidante na maioria das células expostas ao oxigénio) e melhora a inflamação da mucosa intestinal através de inibição da produção de TNF- α , IFN- γ , e NF-kB. EGCG reduz a lesão do colón no modelo experimental inibindo a quimiotaxia de macrófagos suprimindo assim os mastócitos e a atividade de macrófagos^[24]. Proantocianidinas obtidas da semente da uva possuem uma forte atividade anti-inflamatória. Estas exercem efeitos protetores na colite recorrente, reduzindo a expressão de TNF- α e IKK α / β , e translocação de NF-kB. Tem um papel crucial no reparo de tecidos danificados melhorando o stress oxidativo do colón, aumentando a atividade de glutatona (GSH), SOD e GSH-Px^[25].

A percentagem de flavonas nas frutas e legumes é relativamente mais baixa que flavonóis. Flavonas naturais consistem em glicosídeos de luteolina e apigenina. Luteolina (3',4',5,7-tetrahidroxiflavona) é uma flavona glicosídica que se encontra em plantas medicinais e

vegetais, tais como: salsa, alcachofra, aipo e pimentão verde. A luteolina apresenta atividade anti-inflamatória atuando na redução de exposição de TNF- α e IL-8 nas células epiteliais intestinais bloqueando a degradação de I κ B e impedir a ativação de NF- κ B^[26].

As antocianinas são pigmentos que pertencem ao grupo dos flavonoides responsáveis por uma grande variedade de cores de frutas, flores e folhas. Estas são vacúolos com diferentes estruturas químicas, solúveis em água. As principais fontes alimentares de antocianinas incluem frutas vermelhas, uvas, vinho, cereais, milho e legumes como couve. A estimativa do consumo diário recomendado de antocianina está entre 3 e 215 mg/Kg.

O extrato de antocianina de mirtilo apresenta propriedades antioxidantes e antibacterianas, que têm ação protetora sobre colite induzida por TNBS, previne a perda de peso, melhora a fase aguda da diarreia, reduz os níveis de NO, MPO, IL-12, TNF- α e INF- γ e restaura os níveis de IL-10^[27].

Flavanonas são encontradas em algumas plantas de famílias como: *Libiatae*, *Annonaceae*, *Acanthaceae*, *Compositae*, *Leguminosae*, e *Rutaceae*. A estrutura química básica flavanonas envolve dois anéis de benzeno, ligadas por um anel heterocíclico. Estas possuem várias propriedades farmacológicas, tais como: antioxidante, anti-inflamatória, anti-viral, anti-hipertensor, neuroprotetor e anticancerígena. Naringenina (4,5,7-tri-hidroxi flavonona) pertence ao grupo das flavanonas, amplamente distribuídas em frutas cítricas, tomates, cerejas e cacau. Alguns estudos revelam que a naringenina melhora a colite induzida por DSS, restaurando os níveis de proteínas de junções ocludentes, tais como: Ocludina, JAM-A e Claudina-3^[28].

Flavonoides & DII

Os flavonoides apresentam uma gama de atividades farmacológicas com ação anti-inflamatória intestinal na DII, foram propostas vários mecanismos, tais como:

- a) Propriedade Antioxidante: nos estudos realizados foram observados que todos os flavonoides melhoram o *stress* oxidativo associado aos processos inflamatórios intestinais induzidos experimentalmente, uma vez que estes impedem a depleção de glutathiona ou reduzem a concentração de Malondialdeído (MDA) no colón. Ambos os processos são marcadores bioquímicos que indicam o nível da peroxidação lipídica em tecidos intestinais.
- b) O efeito de Óxido Nítrico (NO) sobre o metabolismo: Nas últimas décadas houve um interesse acrescido em relação à patogênese de NO na DII. Estudos demonstram

que sob condições fisiológicas, a pequena quantidade de NO tem um efeito protetor durante as fases iniciais do processo inflamatório intestinal. A síntese de NO aumenta nas situações de inflamação crônica. A produção excessiva de NO tem consequências na interação com superóxido de anião gerando espécies reativas, tais como peroxinitrito, que resulta em *stress* oxidativo e danos tecidulares. Existe uma possibilidade de os flavonoides estarem relacionados com o metabolismo do NO, prevê-se que estes podem preservar as suas funções benéficas, funcionam como agentes com capacidade de potenciar a redução de nitritos em NO^[29], e simultaneamente a participação na captura dos superóxidos de anião e radicais poderosos, ex: peroxinitrito, impedindo danos na membrana intestinal.

- c) Redução na produção de leucotrieno B₄ (LTB₄): diferentes estudos consideram que o LTB₄ desempenha um papel fulcral na medição da inflamação. De facto, a maioria dos flavonoides tem um efeito redutor na produção de LTB₄ no colón, que resulta num efeito benéfico em colite induzida.
- d) Inibição na produção de citocinas pró-inflamatórias: os resultados obtidos a partir de ensaios *in vitro* propõem a possibilidade de diferentes flavonoides presentes em frutos citrinos com capacidade para inibir a expressão de citocinas TNF- α em monócitos humanos.

Estudos Pré-Clínicos

Nos últimos anos, vários estudos pré-clínicos têm revelado a importância dos flavonoides na DII. A sua atividade anti-inflamatória e antioxidante foram extensamente estudados nessa área, especialmente na CU e DC.

Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne

Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne, pertence à família *Fabaceae*, foi selecionada como a planta medicinal com potente atividade no tratamento de doenças gastrointestinais, incluindo úlceras, diarreia e dores de estômago. O estudo realizado no Brasil demonstra que o extrato de metanol da casca do caule e polpa do fruto de *Hymenaea stigonocarpa* apresenta efeitos antidiarreicos, gastroprotetor e cicatrizantes na lesão gástrica experimental e úlceras duodenais. O efeito protetor observado pode estar relacionado com a presença de taninos condensados e flavonoides na casca e no fruto de *Hymenaea stigonocarpa*. Neste estudo, o extrato de metanol da casca do caule (100, 200 e 400mg/Kg) e polpa do fruto (10% e 5% na

dieta) foi medido contra o processo inflamatório intestinal induzido por TNBS em ratos. Os efeitos protetores foram avaliados pelos seguintes critérios: avaliação do dano intestinal (gravidade da lesão, extensão da lesão, relação entre peso/comprimento do colón); a incidência da diarreia e a adesão aos órgãos adjacentes; a concentração de glutathione no colón (GSH) e Malondialdeído (MDA); a atividade de Mieloperoxidase (MPO) e Fosfatase Alcalina (AP). De acordo com o protocolo de análise, os ratos de colite induzido por TNBS tratados com extrato da casca produz uma redução significativa na extensão da lesão, a diarreia é atenuada após o tratamento de 100mg/Kg, enquanto a redução de adesão aos órgãos adjacentes só é possível nas doses de 200mg/Kg. Todas as doses de extrato conseguem atenuar a depleção de GSH e a atividade de AP quando comparadas com o grupo de controlo. A capacidade de inibir a atividade de MPO só foi detetada na dose 400mg/Kg. Em relação aos ratos tratados com 10% da polpa do fruto também foi evidenciada o impedimento na depleção de GSH do colón e redução da atividade do MPO. No tratamento simultâneo de 200mg/Kg do extrato e 10% da polpa reduzem significativamente a concentração de MDA no colón. Conclui-se que o extrato de metanol da casca do caule e polpa do fruto de *Hymenaea stigonocarpa* tem ação preventiva na colite induzida por TNSB nos ratos. Esta atividade observada está relacionada com a sua propriedade antioxidante que melhora o stress oxidativo intestinal. O efeito antioxidante e anti-inflamatório observado pode estar associado com a presença de flavonoides e taninos^[30].

Ficus bengalensis Linn.

Ficus bengalensis Linn. (Família: *Moraceae*) é uma espécie de figueira endémica do *Bangladesh*, Índia e Sri Lanka. Toda a parte da planta exerce efeito adstringente, anti-inflamatório e antidiarreico. O latex leitoso proveniente do tronco, sementes e frutos pode ser aplicado externamente em reumatismo e internamente em situações de diarreia e disenteria. O efeito de *Ficus bengalensis* Linn. foi estudado nos ratos com DII induzida por TNSB. A co-administração de prednisolona (2 mg/Kg) e o extrato etanólico de *Ficus bengalensis* (250, 500 mg/Kg), durante 21 dias, foram avaliados por vários parâmetros histopatológicos, tais como: Índice de lesão da mucosa do colón (CMDI) e Índice da atividade da doença (DAI); os níveis de Malondialdeído (MDA), Mieloperoxidase (MPO), Superóxido dismutase (SOD), Óxido Nítrico (NO) e a percentagem de mastócitos também foram avaliados. Neste estudo, as diferenças significativas de atividades de CMDI, DAI e MPO foram encontradas, quando comparadas com o grupo de controlo. Em que o grupo tratado com prednisolona e extrato de *Ficus bengalensis* mostrou uma descida acentuada na atividade de CMDI, DAI e MPO.

Porém o *stress* oxidativo induzido por administração intrarectal de TNBS mostrou uma elevação significativa dos níveis de MDA e NO, simultaneamente, uma diminuição acentuada de atividade de SOD. Após a submissão do tratamento com prednisolona e extrato de *Ficus bengalensis* verificou-se uma diminuição significativa dos níveis de MDA e NO e um acréscimo na atividade de SOD em comparação com o grupo de controlo. Durante o ensaio também se verificou um aumento significativo na desgranulação de mastócitos em comparação com o grupo de controlo, após o tratamento foram observados uma diminuição de desgranulação de mastócitos.

Admite-se que os efeitos protetores representados no *Ficus bengalensis* Linn. sobre a DII pode estar relacionado com os efeitos antioxidantes presentes nos flavonoides, terpenos e compostos fenólicos^[31].

Kaempferol

Kaempferol é um flavonol natural que pode ser encontrado numa diversa gama de frutas, vegetais e plantas, acredita-se que a sua atividade anti-inflamatória e imunomodulador permita que esta se torne um bom candidato na prevenção da CU.

Relaciona-se que as condições inflamatórias na colite induzida pela DSS são caracterizadas pela ativação de transcrição do Fator Nuclear kB (NF-kB) e genes reguladores de inflamação, tais como: Óxido nítrico-sintase induzido (iNOS) e Cicloxigenase-2 (COX-2). De facto muitos estudos relacionam a sobre expressão destes marcadores inflamatórios com os modelos de colite induzida por DSS e doentes portadores da colite. Um estudo realizado nos camundongos com o objetivo de determinar a capacidade de Kaempferol na modulação de mediadores inflamatórios e na melhoria de sintomas relacionados com colite induzida pelo DSS. Nesta experiência, os camundongos fêmea foram randomizados em 6 grupos (n = 10 em cada grupo), sendo, 2 grupos (grupo de controlo com colite e não colite) foram alimentados por uma dieta sem Kaempferol, 2 grupos eram pós-alimentados com Kaempferol (0,1% e 0,3% de Kaempferol) e os restantes 2 grupos foram pré-alimentados com Kaempferol (0,1% e 0,3% de Kaempferol). Em duas semanas foram autorizadas o livre acesso de água potável contendo 2% de DSS por 4 dias, enquanto o grupo controlo foi disponibilizado o acesso de água potável sem DSS. No final da experiência, foram avaliados os marcadores clínicos e bioquímicos, sendo que os níveis plasmáticos de NO e PGE2 sofreram uma descida significante nos grupos pré e pós alimentados com 0,3% de Kaempferol; Em todos os camundongos alimentados com kaempferol detetou-se uma descida dos níveis LTB4. A atividade de MPO na mucosa do colón também foi suprimida na

dose 0,3% Kaempferol. Estes resultados indicam que o Kaempferol é um potente protetor da mucosa do colón, na CU induzida por DSS. Durante o estudo foram detetadas uma dieta rica de Kaempferol antes de indução da colite que permite uma supressão mais eficaz dos marcadores inflamatórios associados à colite^[32].

Estudos Clínicos

Atualmente, existem vários estudos pré-clínicos realizados em modelos animais, principalmente roedores, no entanto, as investigações sobre a segurança e efeitos benéficos de fitoquímicos em seres humanos ainda são muito escassos.

Camellia sinensis

O chá verde, *Camellia sinensis*, e o seu principal componente polifenólico, (-)-epigallocatequina-3-galato (EGCG), foram demonstrados os efeitos anti-inflamatórios sobre DII, o ensaio realizado em linha celular, células retiradas de tecidos animais e humanos, demonstram a má absorção de EGCG por via oral devido a sua baixa biodisponibilidade sistémica, no entanto, este fator contribui para uma elevada exposição desta na mucosa do colón. Num estudo piloto de fase 2, duplamente oculto e controlado com placebo, foram randomizados 20 doentes, com CU leve a moderada, para 400mg ou 800mg de polifenol E (EGCG) de doses diárias por via oral, ou placebo. A resposta foi medida pelo índice de atividade da CU e questionário da DII no dia 56.

Após 56 dias de tratamento, a taxa de resposta foi de 66,7% no grupo polifenol E e taxa de remissão 53,3% , comparando com 0 % do grupo de placebo. Conclui-se que a administração de Polifenol E resulta como uma terapia alternativa em doentes refratários a 5-aminossalicilato e/ou azatioprina, diminuindo os efeitos colaterais^[33].

Conclusão

A doença inflamatória intestinal (DII), inclui a Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerosa (CU), emerge como uma preocupação social, a elevada incidência na população jovem afeta diretamente a produtividade socioeconômica do país, resultando em custos a longo prazo ao doente, sistema de saúde e sociedade.

Nos últimos anos, muitos dos flavonoides têm sido explorados, devido ao seu largo espectro de atividades, tais como: redução no *stress* oxidativo no intestino, supressão da inflamação e proliferação celular, modulação de numerosos sinais de tradução e indução de apoptose. A sua atividade na modulação das citocinas pró-inflamatórias desempenha um papel importante na terapêutica da DII.

Nos últimos anos, vários estudos realizados em modelos animais revelaram os efeitos benéficos dos flavonoides na DII. Os estudos pré-clínicos realizados nas plantas medicinais tropicais, tais como: *Hymenaea stigonocarpa* Mart. e *Ficus bengalensis* Linn. evidenciaram as suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias observadas na DII que pode estar associada com a presença dos flavonoides.

Atualmente, existem inúmeros estudos pré-clínicos, no entanto, as investigações sobre a segurança e efeitos benéficos dos flavonoides em seres humanos ainda são muito escassos. Um estudo realizado com *Camellia sinensis* e o seu principal componente polifenólico (EGCG) em que também foram demonstrados os efeitos anti-inflamatórios, o que poderá constituir uma terapia alternativa em doentes refratários a aminossalicilato e/ou azatioprina.

Referência Bibliográfica

- [1] NG, S., BERNSTEIN, C., VATN, M., LAKATOS, P., JR, E., TYSK, C., O'MORAIN, C., MOUM, B., COLOMBEL, J. – **Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease.** Gut. Vol.62 (2013), p. 630–649.
- [2] SOMANI, S., MODI, K., MAJUMDAR, A., SADARANI, B. – **Phytochemicals and Their Potential Usefulness in inflammatory Bowel Disease.** Phytotherapy Research. Vol. 9, nº 3 (2015), p. 339–350.
- [3] ROSENSTIEL, P., SINA, C., FRANKE, A., SCHREIBER, S. – **Towards a molecular risk map—Recent advances on the etiology of inflammatory bowel disease.** Seminars Immunology. Vol.21, nº3 (2009), p. 334–345.
- [4] LAKATUS, P., SZAMOSI, T., LAKATOS, L. – **Smoking in inflammatory bowel diseases: Good, bad or ugly?** World journal of Gastroenterology. Vol.13, nº46 (2007), p. 6134–6139.
- [5] MAGRO, F., PORTELA, F., LAGO, P., DEUS, J., VIEIRA, P., CREMERS, I., COTTER, J., CARVAO, M., TAVARES, L., REIS, J., CALDEIRA, P., LOPES, H., MINISTRO, P., CARVALHP, L. – **Avaliação Nacional dos doentes com Doença de Crohn.** GEDII, Jorna Português de Gastroenterologia; 2007
- [6] BIANCHI, M., L., – **Inflammatory bowel diseases, celiac disease, and bone.** Arch Biochem Biophys. Vol.503, nº1 (2010), p. 54–65.
- [7] HUR, S., KANG, S., JUNG, H., KIM, S., JEON, H., KIM, I., LEE, J. – **Review of natural products actions on cytokines in inflammatory bowel disease.** SciVerse ScienceDirect. Vol. 32, nº11 (2012), p. 801–818.
- [8] SANCHEZ-MUÑOZ, F., DOMINGUEZ-LOPEZ, A., YAMAMOTO-FURUSHO, J. – **Role of cytokines in inflammatory bowel disease.** World J Gastroenterol. Vol.14, nº27 (2008), p. 4280–4288.
- [9] CHO, E.-J., SHIN J.-S., NOH, Y.-S., CHO, Y.-W., CHO, Y.-W., HONG, S.-J., PARK, J.-H., LEE, J.-Y., LEE, J.-Y., LEE, K.-T. – **Anti-inflammatory effects of methanol extract of *Patrinia scabiosaefolia* in mice with ulcerative colitis.** Journal of Ethnopharmacology. Vol.136, nº 3 (2011), p. 428–435.
- [10] DROUAULT-HOLOWACZ, S., FOLIGNÉ, B., DENNIN, V., GOUDERCOURT, D., TERPEND, K., BURCKEL, A., POT, B. – **Anti-inflammatory potential of the probiotic dietary supplement Lactibiane Tolérance: in vitro and in vivo considerations.** Clinical Nutrition. Vol.25, nº6 (2006), p. 994–1003.

- [11] ZHANG, D., CHENG, L., HUANG, X., SHI, W., XIANG, J., GAN, H. – **Tetrandrine ameliorates dextran-sulfate-sodium-induced colitis in mice through inhibition of nuclear factor- κ B activation.** *Int J Colorectal Dis.* Vol.24, n°1 (2009), p. 5–12.
- [12] TRIANTAFILLIDIS, J., MERIKAS, E., GEORGOPOULOS, F. – **Current and emerging drugs for the treatment of inflammatory bowel disease.** *Drug Des Devel Ther.* Vol.5 (2011), p. 185–210.
- [13] WANG, G., TANG, W., BIDIGARE, R. – **Terpenoids as therapeutic drugs and pharmaceutical agents.** *Nat Prod.* Vol.3 (2015), p. 197–227.
- [14] D’ALESSIO, A., OSTAN, R., BISSON, J.-F., SCHULZKE, D., URSINI, V., BÉNÉ, C. – **Oral administration of D-limonene controls inflammation in rat colitis and displays anti-inflammatory properties as diet supplementation in humans.** *Life Sci* Vol.92 (2013), p. 1151–1156.
- [15] HODGE, G., HODGE, S., HAN, P. – **Allium sativum (garlic) suppresses leukocyte inflammatory cytokine production in vitro: potential therapeutic use in the treatment of inflammatory bowel disease.** *Cytometry.* Vol. 48 (2002), p. 209–215.
- [16] LEE, A., KIM, J., KIM, H. 2012. – **Inhibitory effect of betasitosterol on TNBS-induced colitis in mice.** *Planta Med.* Vol.78 (2012), p. 896–898.
- [17] YAN, F., WANG, L., SHI, Y., CAO, H., LIU, L., WASHINGTON, K., CHATURVEDI, R., ISREAL, A., CAO, H., WANG, B., PEEK, JR., WILSON, T., POLK, B. – **Berberine promotes recovery of colitis and inhibits inflammatory responses in colonic macrophages and epithelial cells in DSS-treated mice.** *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* Vol.302 (2012), p. 504–514.
- [18] EBRAHIMI, A., SCHLUESENER, H. – **Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: potentials and pitfalls.** *Ageing Res Rev.* Vol.11 (2012). P. 329–345.
- [19] QUIDEAU, S., DEFFIEUX, D., DOUAT-CASASSUS, C., POUYSEGU, L. – **Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis.** *Angew Chem Int Ed Engl.* Vol. 50 (2011), p. 586–621.
- [20] ELLIOTT MIDDLETON JR. – **Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function.** *Advances in Experimental Medicine and Biology.* Vol.439 (1998) p. 175–182.

- [21] LU, M.-F., XIAO, Z.-T., ZHANG, H.-Y. – **Where do health benefits of flavonoids come from? Insights from flavonoid targets and their evolutionary history.** *Biochem Bioph Res Co* Vol.434 (2013). p.701–704.
- [22] PARK, M.-Y., JI, G.-E., SUNG, M.-K. – **Dietary kaempferol suppresses inflammation of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice.** *Dig Dis Sci.* Vol.57 (2012). p. 355–363.
- [23] SUZUKI, T., HARA, H. – **Quercetin enhances intestinal barrier function through the assembly of zonula occludens-2, occludin, and claudin-1 and the expression of claudin-4 in caco-2 cells.** *J Nutr.* Vol.139 (2009). p. 965–974.
- [24] MOCHIZUKI, M., HASEGAWA, N. – **(-)-Epigallocatechin-3-gallate reduces experimental colon injury in rats by regulating macrophage and mast cell.** *Phytother Res.* Vol.24 (2010). P. S120–S122.
- [25] WANG, Y.-H., GE, B., YANG, X.-L., ZHAI, L.-N., YANG, L.-N., WANG, X.-X., LIU, X., SHI, J.-C., WU, Y.-J. – **Proanthocyanidins from grape seeds modulates the nuclear factor-kappa B signal transduction pathways in rats with TNBS-induced recurrent ulcerative colitis.** *Int Immunopharmacol.* Vol.11, n°10 (2011), p. 1620–1627.
- [26] KARRASCH, T., KIM, J.-S., JANG, B.-I., JOBIN, C. – **The flavonoid luteolin worsens chemical-induced colitis in NF- κ B GFP transgenic mice through blockade of NF- κ B-dependent protective molecules.** *PLoS One.* Vol.2 (2007), p. 596–610.
- [27] WU, L.-H., XU, Z.-L., DONG, D., HE, S.-A., YU, H. – **Protective effect of anthocyanins extract from blueberry on TNBS-induced IBD model of mice.** *Evid Based Complement Alternat Med.* (2011) p. 1–8.
- [28] AZUMA, T., SHIGESHIRO, M., KODAMA, M., TANABE, S., SUZUKI, T. – **Supplemental naringenin prevents intestinal barrier defects and inflammation in colitic mice.** *J Nutr.* Vol.143 (2013), p. 827–834.
- [29] ROCHA, B., GAGO, B., BARBOSA, R., LARANJINHA, J. – **Diffusion of nitric oxide through the gastric wall upon reduction of nitrite by red wine: Physiological impact.** *Nitric Oxide.* Vol.22 (2010), p. 235–241
- [30] ORSI, P., SEITO, L., STASI, L. – ***Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A tropical medicinal plant with intestinal anti-inflammatory activity in TNBS model of intestinal inflammation in rats.** *J Ethnopharmacol.* Vol.151 (2013) p. 380–385.
- [31] PATEL, M., PATEL, P., PATE, M. – **Effects of ethanol extract of *Ficus bengalensis* (bark) on inflammatory bowel disease.** *Indian J Pharmacol.* Vol.42 (2010) p. 214–218.

[32] PARK, M.-Y., JI, G., SUNG, M.-K. – Dietary Kaempferol Suppresses Inflammation of Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis in Mice. Digestive Diseases and Sciences. Vol.57, n° 2 (2012) p. 355–363.

[33] DRYDEN, W., LAM, A., BEATTY, K., QAZZAZ, H., MCCLAIN, J. – A pilot study to evaluate the safety and efficacy of an oral dose of (–)-epigallocatechin-3-gallate-rich polyphenon E in patients with mild to moderate ulcerative colitis. Inflamm Bowel Dis. Vol.19 (2013) p. 1904–1912.