

EFEITOS DO ALFA-BISABOLOL SOBRE A MORFOLOGIA INTESTINAL E HEPÁTICA DE RATOS COM COLITE INDUZIDA POR TNBS.

Mariana Tofalini Silva (PIBIC/CNPq), Francielle Veiga Ramalho (CAPES),
Jurandir Fernando Comar (Orientador), e-mail: jfcomar@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá /Centro de Ciências Biológicas/ Maringá,
PR.

Área e subárea do CNPq/CAPES: Ciências Biológicas/Bioquímica

Palavras-chave: inflamação intestinal, alfa-bisabolol, morfometria intestinal.

Resumo

A colite ulcerativa e a doença de Crohn são os dois tipos principais de doenças inflamatórias intestinais. Ambas afetam o cólon, causando diarreia sanguinolenta e manifestações extraintestinais. O alfa-bisabolol é um composto com propriedades antioxidante, antinociceptiva, antialérgica e anti-inflamatória. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do alfa-bisabolol em ratos Wistar com colite induzida pelo ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico (TNBS), por enema, modelo experimental que mimetiza a doença de Crohn. O alfa-bisabolol foi administrado oralmente nas doses de 50 e 200 mg/kg por 7 dias após a indução da colite. A atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) foi determinada no plasma, fígado e cólon por espectrofotometria. A histologia do cólon e fígado foi realizada por coloração HE (hematoxilina-eosina). A atividade da MPO aumentou nos animais colíticos e o alfa-bisabolol na dose de 50 mg/kg diminuiu este parâmetro nos três tecidos. Animais colíticos tiveram área de hepatócitos reduzida, sem alteração deste parâmetro com o tratamento. No intestino, notou-se aumento da parede total dos grupos controle tratados e colíticos com ou sem tratamento, da túnica mucosa e da profundidade de cripta destes dois últimos e da camada muscular dos colíticos (comparados ao controle). Conclui-se que a dose de 50mg/Kg do composto diminuiu a inflamação intestinal e sistêmica em animais com colite induzida por TNBS, sem reversão nas alterações morfométricas do intestino mesmo na dose maior. Pelo contrário, o tratamento parece causar modificações na morfometria intestinal de animais saudáveis.

Introdução

As doenças inflamatórias intestinais (DII) afetam cerca de 0,5% da população mundial e a colite ulcerativa e a doença de Crohn são os dois tipos principais de DII. A primeira afeta primariamente a mucosa do cólon, enquanto a segunda afeta a parede intestinal inteira e pode atingir todo o trato intestinal. Além de alterações gastrointestinais, os pacientes com doenças inflamatórias intestinais também são afetados por manifestações extraintestinais, como as complicações hepatobiliares (ORDÁS et al., 2012).

O alfa-bisabolol, um álcool sesquiterpênico monocíclico, é o principal constituinte do óleo essencial de camomila-vulgar (*Matricaria chamomilla*). Este composto possui atividades anti-inflamatória, antiespasmódica, antialérgica, antioxidante e antibiótica (KAMATOU et al, 2010). Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do alfa-bisabolol oralmente administrado sobre a inflamação e a morfologia do fígado e do cólon distal de ratos saudáveis e com colite induzida pelo TNBS.

Materiais e métodos

Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (nº 4439150318).

Ratos machos da linhagem Wistar com 90 dias de idade (340-360g) foram subdivididos em: controle (C); controles tratados com alfa-bisabolol 50 mg/kg (CB50) e 200 mg/kg (CB200); colíticos (Col); colíticos tratados com alfa-bisabolol 50 mg/kg (ColB50) e 200 mg/kg (ColB200). A indução da colite foi realizada sob anestesia (Quetamina 100 mg/kg e Xilazina 20 mg/kg), via enema, com 15 mg de TNBS em etanol 30%. Os animais foram oralmente tratados por 7 dias (tratamento subcrônico). Após este período, os ratos foram submetidos a overdose de anestésico (tiopental sódico 100 mg/Kg). O sangue foi coletado a partir da veia cava e o fígado e intestino removidos e processados. A atividade da MPO foi determinada no plasma e no sobrenadante do homogenato de fígado e cólon por espectrofotometria com o-dianisidina. Para a histologia, o cólon e o fígado foram corados com hematoxilina-eosina (HE) a fim de determinar a morfometria e quantificação dos hepatócitos e morfometria das camadas intestinais. Para as análises morfométricas e quantitativas utilizou-se o programa Image-Pro Plus® 4.5. Os dados foram expressos como médias \pm EPM e a significância estatística foi analisada usando o GraphPad Prism Software (versão 5.0) por meio de ANOVA ONE-WAY seguido de teste de Tukey ($p < 0.05$).

Resultados e Discussão

A área dos hepatócitos foi 19% menor nos animais colíticos (comparados aos controles, C), mas o tratamento não modificou este parâmetro. O número de hepatócitos não foi diferente entre controles e colíticos, mas o tratamento com alfa-bisabolol na dose de 50 mg/kg reduziu este número por aproximadamente 10% (Gráfico 1). Resultados semelhantes foram encontrados por KIM et al., 2020, no qual não foi possível observar diferença na morfologia hepática de ratos colíticos, especificamente necrose hepatocelular.

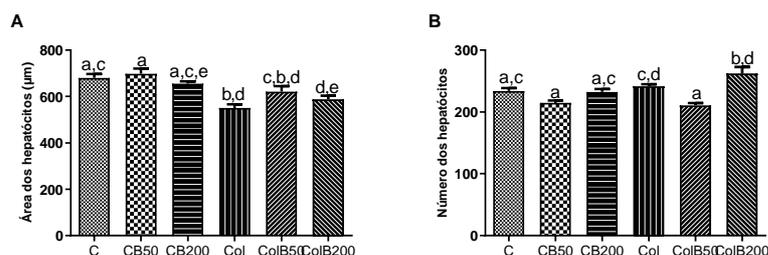


Gráfico 1: Área (A) e Número (B) dos hepatócitos de ratos controle e colícticos, e seus respectivos tratados com alfa-bisabolol nas doses de 50 e 200 mg/kg. Letras distintas no mesmo gráfico diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Na morfometria do cólon distal (Tabela 1), a parede total dos grupos CB50, CB200, Col, ColB50 e ColB200 aumentaram 45%, 41%, 39%, 44% e 58%, respectivamente, em relação aos controles (C). A túnica mucosa dos Col, ColB50 e ColB200 apresentaram aumento de 29%, 39% e 46%, respectivamente. A camada muscular dos animais colícticos aumentou 62% em relação aos controles, assim como aumentou em todos os grupos tratados. A profundidade de cripta aumentou nos grupos Col, ColB50 e ColB200, 32%, 46% e 56% respectivamente, quando comparados ao controle. Resultados semelhantes com ratos colícticos induzidos por TNBS, demonstraram aumento na parede total e na camada muscular do cólon distal. Além disso, destacaram-se edema e infiltrado inflamatório no cólon destes ratos colícticos, ao qual foi atribuído consequência da doença inflamatória intestinal (VICENTINI et al., 2018).

A atividade da MPO no fígado, no cólon distal e no plasma (Gráfico 2) foi aumentada no grupo colíctico e o tratamento com alfa-bisabolol foi capaz de reduzir este parâmetro em 40% no fígado, 62% no cólon e 39% no plasma. VICENTINI et al., 2018 também demonstraram aumento da atividade da MPO no plasma de ratos colícticos induzidos por TNBS. Quanto ao efeito do alfa-bisabolol, ROCHA et al., 2011, observou redução da atividade tecidual da MPO em animais tratados, demonstrando sua eficácia no combate a inflamação.

Tabela 1: Morfometria do cólon distal de ratos: parede total (PT), mucosa (Mu), muscular (Mus), profundidade de criptas (Cr) de ratos controle e colícticos, e seus respectivos tratamentos com alfa-bisabolol nas doses de 50 e 200 mg/kg. Resultados expressos como média \pm EPM (n=5-6).

	PT (μm)	Mu (μm)	Mus (μm)	Cr (μm)
C	760,6 \pm 50,77 ^a	587,8 \pm 28,20 ^a	164,5 \pm 22,37 ^a	459,2 \pm 25,90 ^a
CB50	1105 \pm 27,91 ^b	720,2 \pm 24,16 ^{a,b}	373,6 \pm 25,09 ^b	572,3 \pm 30,89 ^{a,b}
CB200	1075 \pm 66,27 ^b	736,5 \pm 18,67 ^{a,b}	308,1 \pm 14,16 ^{b,c}	545,3 \pm 30,60 ^{a,b}
Col	1059 \pm 35,44 ^b	755,9 \pm 17,18 ^b	266,4 \pm 9,712 ^c	606,4 \pm 18,43 ^{b,c}
ColB50	1096 \pm 29,24 ^b	817,3 \pm 37,28 ^b	325,8 \pm 21,43 ^{b,c}	670,5 \pm 30,74 ^{b,c}
ColB200	1200 \pm 42,63 ^b	858,6 \pm 34,61 ^b	351,5 \pm 16,49 ^b	718,5 \pm 30,28 ^c

Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem estatisticamente ($p < 0,05$). Análise de variância One-Way ANOVA, pós-teste de Tukey.

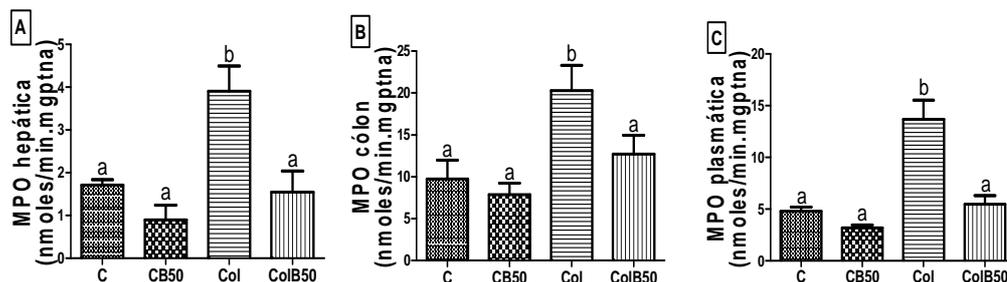


Gráfico 2: Atividade da mieloperoxidase (MPO) no fígado [A], cólon distal [B] e plasma [C] em ratos controle e colícticos, e tratados com alfa-bisabolol 50mg/kg. Letras distintas no mesmo gráfico diferem estatisticamente ($p < 0,05$).

Conclusões

O cólon distal de animais colícticos apresentou alterações morfométricas de suas camadas, mas o fígado não foi afetado morfologicamente, exceto por uma pequena redução na área dos hepatócitos. Da mesma forma a inflamação foi notada pelo aumento da atividade da MPO no plasma, fígado e intestino dos animais colícticos. O alfa-bisabolol na dose de 50 mg/kg foi capaz de diminuir a inflamação intestinal e sistêmica nos animais colícticos, mas não reverteu as alterações morfométricas do intestino mesmo na dose de 200 mg/kg. Pelo contrário, o alfa-bisabolol parece causar modificações na morfometria intestinal de animais saudáveis, um fenômeno que deve ser cuidadosamente avaliado antes de recomendar o seu uso na terapia das doenças inflamatórias intestinais.

Agradecimentos

CNPq e Fundação Araucária de Apoio à Pesquisa do Estado do Paraná.

Referências

- KAMATOU G. P. P, VILJOEN A. M. A review of the application and pharmacological properties of α -bisabolol and α -bisabolol-rich oils. **J Am Oil Chem Soc.** V.87, p.1-7, 2010.
- KIM, S. H. et al. Metabolomic Analysis of the Liver of a Dextran Sodium Sulfate-Induced Acute Colitis Mouse Model: Implications of the Gut–Liver Connection. **Cells**, v.9, n.2, p.341, 2020.
- ORDÁS, I., et al., Ulcerative colitis. **The Lancet**, v.380, n.9853, p.1606–1619, 2012.
- ROCHA, N. F. M. et al. (–)- α -Bisabolol-induced gastroprotection is associated with reduction in lipid peroxidation, superoxide dismutase activity and neutrophil migration. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 4, p. 455-461, 2011.
- VICENTINI, F. et al. Treatment with *Trichilia catigua* ethyl-acetate fraction improves healing and reduces oxidative stress in TNBS-induced colitis in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 107, p. 194-202, 2018.

29º Encontro Anual de Iniciação Científica
9º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



29 a 31 de outubro de 2020