

O PAPEL ANTIOXIDANTE DA MESALAZINA NO MODELO EXPERIMENTAL DE COLITE INDUZIDA POR ÁCIDO ACÉTICO EM RATOS

Daiana Silva¹
Rosa Maria B L Moura²
Renata Minuzzo Hartmann³
Henrique Sarubbi Fillmann⁴
Norma Possa Marroni⁵

RESUMO

A retocolite ulcerativa indeterminada é uma doença inflamatória intestinal que envolve o cólon e o reto. Foi avaliada a ação da mesalazina sobre marcadores de estresse oxidativo e a atividade das enzimas antioxidantes. Foram utilizados 20 ratos wistar divididos em 4 grupos: controle; controle+mesalazina, colite e colite+mesalazina. Os animais foram submetidos à administração de ácido acético a 4% e o tratamento com mesalazina na dose oral de 20 mg/kg 48h após a indução da colite. A mesalazina reduziu as lesões teciduais e lipoperoxidação, aumentou a pressão esfinteriana e normalizou a atividade das enzimas avaliadas. Sugere-se que a mesalazina tenha papel antioxidante na colite induzida por ácido acético.

Palavras-chave: colite, enema, mesalazina

ABSTRACT

The indeterminate ulcerative rectocolitis is an inflammatory bowel disease that involves the colon and the rectum. We evaluated the action of mesalazine on oxidative stress measurements and antioxidant enzyme activity. Were used 20 wistar rats were divided into 4 groups: control; control+mesalazine, colitis and colitis+mesalazine. The animals were submitted to 4% acetic acid administration and treatment with mesalazine at the oral dose of 20 mg/kg 48 hours, after the induction of colitis. The mesalazine reduced tissue damage and lipoperoxidation, increased sphincter pressure and normalized the activity of the evaluated enzymes. It is suggested that mesalazine have antioxidant role in acetic acid induced colitis.

Keywords: colitis, enema, mesalazine

INTRODUÇÃO

As doenças inflamatórias intestinais compreendem duas formas principais de apresentação: a retocolite ulcerativa indeterminada (RCUI) e doença de Crohn (DC)

¹ Aluna do curso de Odontologia – Bolsista de PIBIC/CNPq - ULBRA

² Aluna de Mestrado do Programa de Pós Graduação em Genética e Toxicologia Aplicada/ULBRA

³ Aluna de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas/UFRGS

⁴ Professor do Curso de Medicina/PUCRS

⁵ Professora de Fisiologia no Curso de Odontologia e Orientadora no Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde/ULBRA e do PPG em Genética e Toxicologia Aplicada/ULBRA

(CARDOZO; WALTER, 2015; CURY; MOSS, 2015). A RCUI é uma doença crônica que acomete principalmente o cólon, caracterizando-se por inflamação e ulceração das camadas mais superficiais, afetando apenas a mucosa e submucosa, exceto nos casos mais graves (COTRAN, 2005; CHUONG; CHRISTENSEN; AYRES, 2008; GUYTON; HALL, 2011; REID; CAREY, 2011; COTRAN, 2012).

A inflamação tem um papel importante na patogênese da RCUI, pois as substâncias oxidantes causam lesões e destruição dos tecidos desencadeando um desequilíbrio entre agressão e defesa caracterizando estresse oxidativo. (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; CAROCHO; FERREIRA, 2013). Por outro lado, o estresse oxidativo tem seus danos minimizados por sistemas de defesa antioxidantes endógenas e/ou exógenas (RAHAL, 2014).

Tendo em vista que é bem demonstrada a implicação do estresse oxidativo na patogênese da RCUI, observou-se a estudar a possibilidade do uso de substância antioxidante no tratamento desta doença. Recentemente, foi comprovada a inibição do NF-kB na mucosa de pacientes com RCUI ativa com o uso de mesalazina (HAM; MOSS, 2012).

A mesalazina tem ação anti-inflamatória, analgésica e antioxidante e o seu metabólito ativo é conhecido como ácido 5-aminosalicílico (5-ASA) constituindo a terapia padrão de primeira linha para a manutenção e remissão da doença, inibindo a cascata do ácido araquidônico, produção de espécies ativas de oxigênio (EAO), inibindo a função dos linfócitos e monócitos assim como a produção de imunoglobulinas (GENNARO, 2004; HAYASHI et al., 2009; HAM; MOSS, 2012). Portanto, a ação da mesalazina ocorre diretamente sobre a mucosa inflamada bloqueando também as vias da cicloxigenase e lipoxigenase, diminui os níveis teciduais de hipoclorito prevenindo a oxidação da enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase nas células do epitélio cólico (TOKUI et al., 2002; BLONSKI; BUCHNER, 2008).

O interesse em investigar a etiopatogenia da RCUI está relacionada ao desconhecimento dos mecanismos celulares e imunológicos e, por afetar indivíduos nos anos mais saudáveis e produtivos da vida, resultando em custos á longo prazo para o paciente, para o sistema de cuidado de saúde e para a sociedade. Sendo assim, ocorre a necessidade de buscar por novos tratamentos que possam controlar ou minimizar a doença. Neste estudo, avaliamos as alterações histológicas, as alterações na pressão anal esfinteriana, os níveis de lipoperoxidação e a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx) no intestino dos animais com colite induzida por ácido acético e tratados com mesalazina.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento da pesquisa

Este estudo tem caráter experimental quantitativo realizada a indução de colite em ratos machos wistar, cujos resultados foram comparados aos dos animais controle

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

Grupos Experimentais

Os animais foram divididos em quatro grupos:

1. Grupo controle (CO) n= 5: submetido ao enema com solução fisiológica;
2. Grupo controle + mesalazina (CO + M) n= 5: administração na dose de 20 mg/Kg;
3. Grupo colite (CL) n= 5: submetido à indução da colite, por enema de ácido acético;
4. Grupo colite + mesalazina (CL + M) n= 5: indução da colite, por enema de ácido acético e administração da mesalazina na dose de 20 mg/Kg.

Modelo Experimental

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais que foram avaliados no período 48 horas de tratamento. O modelo escolhido para a indução da colite foi uma adaptação do trabalho descrito por Yamada et al. (1992) e Tannahill et al. (1995). Os animais foram anestesiados e submetidos à administração intracolônica, por enema a partir de um cateter de 0,08 mm de diâmetro com solução de ácido acético diluído a 4% e com volume de 4 mL.

Administração da mesalazina

Foram administradas nos animais doses de mesalazina por via oral a partir de uma sonda de gavagem, na dose de 20 mg/Kg diluídos em 1 mL de NaCl, uma vez ao dia, durante 48 horas após a indução da colite (adaptado de HIROTANI et al., 2008).

Analises Bioquímicas

Homogeneizado

O tecido do intestino foi homogeneizado em Ultra Turrax (IKA-WERK) por 1 minuto à temperatura de 0 - 2 °C. Este homogeneizado foi centrifugado em centrífuga refrigerada por 10 min a 3000 rpm. O precipitado foi desprezado e o sobrenadante utilizado para as análises.

Proteínas

A concentração de proteínas no homogeneizado foi determinada, utilizando como padrão uma solução de albumina bovina 1mg/mL. Para a curva de concentração utilizada no cálculo, foram utilizados volumes de 50, 100 e 150 µL. Colocou-se uma alíquota do homogeneizado (20 µL) em 780 µL de água destilada e 2,0 mL de reativo C que foi preparado com 50 mL de NaHCO₃ (reativo A), adicionado com 0,5 mL do reativo B1

(CuSO₄·5H₂O 1%) e 0,5 mL do reativo B2 (tártaro de sódio e potássio 2%). Após a adição do reativo C, foi aguardado 10 minutos e colocado 0,2 mL de reativo de Folin-Ciocalteu diluído na proporção de 1:3 em água destilada. Após 30 minutos de reação foi realizada a medida no espectrofotômetro a 625nm, o resultado é expresso em mg/ml (LOWRY et al., 1951).

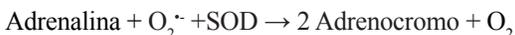
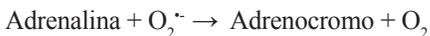
Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)

A técnica de TBARS consiste no aquecimento do homogeneizado com ácido tiobarbitúrico e na conseqüente formação de um produto corado. O aparecimento da coloração ocorre devido à presença do malondialdeído e outras substâncias provenientes da peroxidação lipídica no material biológico. As amostras de tecido foram colocadas em tubos de ensaio com uma mistura de ácido tricloroacético (TCA) 10% e ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,67%. Posteriormente foram aquecidas em banho durante 15 minutos e resfriadas em gelo por aproximadamente 5 minutos. O TBA reage com produtos da lipoperoxidação formando uma base de Schiff, o TCA é utilizado para desnaturar as proteínas presentes, além de acidificar o meio da reação. Após o resfriamento das amostras será acrescentado 1,5 mL de álcool n-butílico para extrair o pigmento formado. Foram colocados em agitador por 45 segundos e centrifugados por 10 minutos a 3000 rpm. A concentração de TBARS obtida foi expressa em nmol por miligrama de proteína com um comprimento de onda de 535 nm (BUEGE; AUST, 1978).

Atividade da Enzima Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) é definida por sua capacidade de inibir um sistema de detecção que reage com o O₂^{•-}. A técnica de medida da SOD é baseada na inibição dessa reação (MISRA; FRIDOVICH, 1972).

Antes de realizar a determinação com o homogeneizado, foi realizada a medida do meio de reação (glicina - NaOH 50 Mm, pH 10) e da adrenalina (1 mM, pH 1,0), esta corresponde a 100% da reação. Na cubeta, será colocado tampão glicina 50 mM com pH 11, uma alíquota de homogeneizado e a adrenalina. Após foi realizada agitação e a leitura a 480 nm. Os dados foram expressos em Unidades de SOD por miligrama de proteína (USOD/ mg prot.). A catálise da adrenalina é demonstrada na **(reação 1)** logo abaixo.



Atividade da Enzima Glutationa Peroxidase (GPx)

Esta enzima cataliza a reação dos hidroperóxidos com a glutatona reduzida (GSH) para formar glutatona oxidada (GSSG) e o produto da redução do hidroperóxido. A técnica consiste em determinar a atividade da enzima espectrofotometricamente, medindo-se a velocidade de oxidação de NADPH em uma mistura de reação. Em uma cubeta, foram

colocados solução reguladora de fosfatos de potássio (100 mM, pH 7,0), H₂O bidestilada, azida sódica 20 mM, com GSH 40 mM, GR e NADPH. Essa mistura foi encubada dur). ante 3 minutos e, logo após, foi adicionada a amostra diluída e H₂O₂. Por fim, a atividade da GPx foi medida em espectrofotômetro a 340 nm e sua atividade expressa em nmoles por minuto por miligrama de proteína (nmol/min/mg prot) (FLOHÉ; GUNZLER,1984).

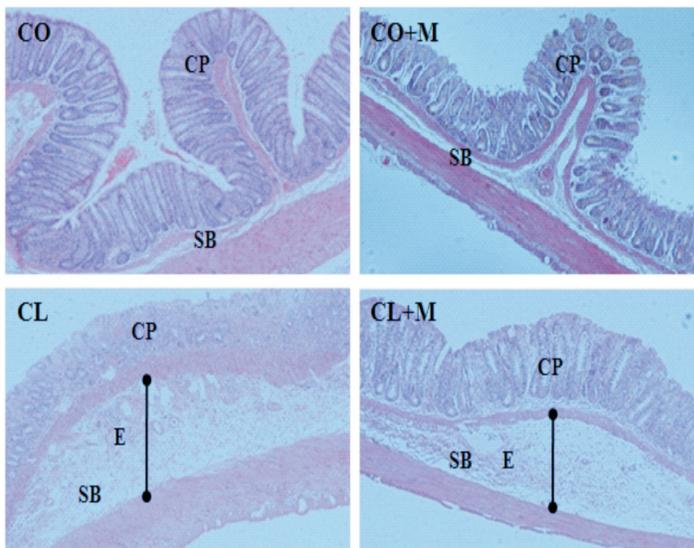
Análise Estatística

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

RESULTADOS

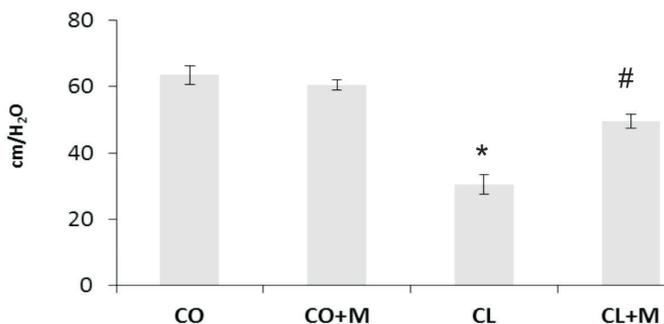
Na figura 1 a fotomicrografia dos grupos CO e CO+M observou-se a arquitetura normal do cólon, onde identifica-se a luz intestinal, criptas (CP) e a submucosa (SB). No grupo CL verificou-se alteração mais severa na arquitetura colônica com destruição das CP e um edema de SB caracterizado por infiltrado inflamatório. No grupo CL+M observou-se a preservação das criptas da mucosa e um menor edema de submucosa.

Figura 1 - Fotomicrografia do intestino de animais do grupo CO; CO+M; CL e CL+M com aumento de 200x.



Na figura 2, a pressão anal esfinteriana demonstrou uma diminuição significativa em animais com colite, quando comparados aos grupos controles. O grupo tratado com mesalazina demonstrou um aumento significativo quando comparados ao grupo colite sendo $p < 0,05$.

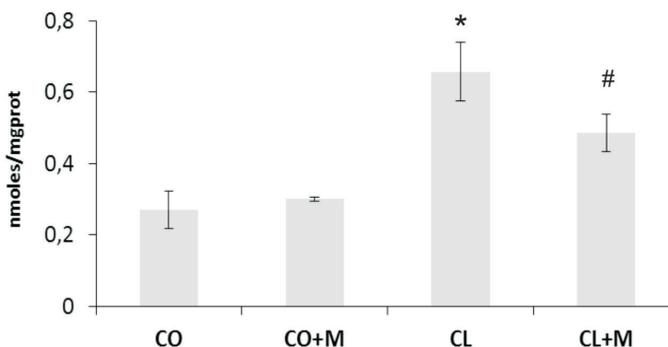
Figura 2 - Valores médios das pressões anais esfinterianas. Os resultados correspondem a média \pm erro padrão (EP) para 5 animais de cada grupo.



* diferença significativa entre o grupo CL e CO / CO+M; # diferença significativa entre o grupo CL+M e CL.

Na figura 3, o estresse oxidativo foi avaliado pela técnica de TBARS. Observaram-se um aumento significativo entre o grupo CL em relação aos controles. A administração de 20mg/kg de mesalazina no grupo tratado, diminuiu a LPO em relação ao grupo colite sendo $p < 0,05$.

Figura 3 - Valores médios dos níveis de lipoperoxidação. Os resultados correspondem a média \pm erro padrão (EP) para 5 animais de cada grupo.

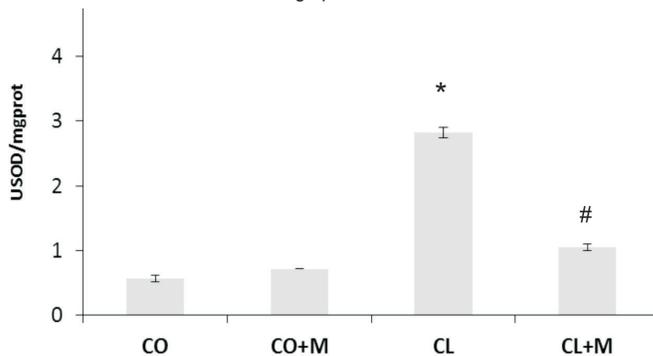


* diferença significativa entre o grupo CL e CO / CO+M; # diferença significativa entre o grupo CL+M e CL.

Na figura 4, podemos observar os valores referidos à atividade da enzima superóxido dismutase nos grupos avaliados. Houve aumento na atividade enzimática nos animais

do grupo CL quando comparados aos grupos CO e CO+M e diminuição nos animais do grupo CL+M em relação ao grupo CL sendo $p < 0,001$.

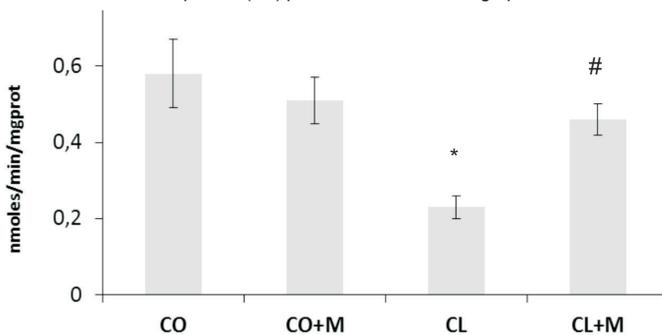
Figura 4 - Atividade da enzima superóxido dismutase. Os resultados correspondem a média \pm erro padrão (EP) para 5 animais de cada grupo. entre o grupo CL+M e CL.



* diferença significativa entre o grupo CL e CO / CO+M; # diferença significativa

Na figura 5, a atividade da enzima glutatona peroxidase foi observada nos diferentes grupos avaliados. Houve diminuição significativa nos animais do grupo CL, quando comparados aos do grupo CO e CO+M e aumento nos grupos CL+M, quando comparados aos do grupo CL.

Figura 5 - Atividade da enzima glutatona peroxidase. Os resultados correspondem a média \pm erro padrão (EP) para 5 animais de cada grupo.



* diferença significativa entre o grupo CL e CO / CO+M; # diferença significativa entre o grupo CL+M e CL.

DISCUSSÃO

No presente estudo foi avaliado o efeito da mesalazina sobre marcadores de estresse oxidativo. Os resultados da análise histopatológica demonstraram o efeito trófico da mesalazina no cólon, melhorando a estrutura colônica, diminuindo o tamanho e a intensidade da lesão. Juntamente com a ação trófica, observou-se a melhora na permeabilidade intestinal com a reconstrução colônica e a melhora na arquitetura da mucosa. Estudos anteriores demonstraram que a administração concomitante de butirato e mesalazina em modelo de colite experimental induzida por dextran sulfato de sódio (DSS) melhorou a lesão colônica e normalizou o infiltrado de neutrófilo, destacando o uso potencial do butirato como adjuvante no tratamento da RCUI (DIANZANI et al., 2006; GASSULL, 2006; SONG; XIA; LI, 2006; HAMER et al., 2008; VIEIRA et al., 2011). Em ensaios experimentais, a mesalazina foi administrada em combinação com o antioxidante n-acetilcisteína (NAC) em ratos com colite induzida por ácido 2,4,6-trinitrobenzeno sulfônico (TNBS) e verificou-se que o tratamento combinado promoveu o reparo da mucosa inflamada (SIDDIQUI et al., 2006).

Neste estudo, verificamos as medidas de pressão anal esfinteriana (PAE) através de manometria anorretal, no qual observamos uma diminuição no grupo de animais com indução da colite. Por outro lado, os animais tratados com mesalazina apresentaram um aumento significativo da pressão anal esfinteriana assemelhando-se ao grupo controle. Esses resultados corroboram com os estudos de Kretzmann et al. (2008) e Hartmann et al. (2014) que demonstraram um aumento nos níveis de pressão anal esfinteriana quando administrado doses de dois antioxidantes: glutamina e *Boswellia serrata* (KRETMANN et al., 2008; HARTMANN et al., 2014).

Os níveis de lipoperoxidação (LPO) foram avaliados pela técnica de TBARS, na qual observamos um aumento significativo nos níveis de LPO no grupo colite. No entanto, o grupo tratado com mesalazina demonstrou uma redução significativa desses níveis, sugerindo o seu efeito antioxidante. Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Fillmann et al. (2007) que utilizaram a glutamina como pré-tratamento na colite induzida por TNBS e também observaram uma redução dos níveis de LPO nos animais tratados. Tahan et al. (2011) e Ghatule et al. (2014) observaram que a administração de melatonina e de extrato de marmelo nos animais com colite reduziu os níveis de lipoperoxidação nos grupos tratados com essas substâncias com efeito antioxidante (FILLMANN et al., 2007; TAHAN et al., 2011; GHATULE et al., 2014).

O estresse oxidativo tem seus danos minimizados por sistemas de defesa antioxidante não enzimático como as vitaminas A, C e E e enzimático como as enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPx) (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Neste estudo, avaliamos a atividade da enzima SOD e observamos um aumento significativo da atividade no grupo colite, possivelmente pela ativação do mecanismo de compensação ao dano agudo causado pela ação do ácido acético no intestino dos animais. Entretanto, no grupo que foi administrada a mesalazina os valores da enzima SOD mantiveram-se próximos aos do grupo controle. Resultados semelhantes foram observados no estudo de Hartmann et al. (2012) que administrou doses do extrato de

Boswellia serrata nos animais com colite induzida por ácido acético, observando o mesmo parâmetro dessa enzima com valores próximos ao do grupo controle após o tratamento (HARTMANN et al., 2012).

A atividade da enzima GPx demonstrou uma redução no grupo colite e um aumento no grupo que recebeu o tratamento com mesalazina. Os resultados apontam que a mesalazina restaurou a atividade enzimática nos grupos tratados confirmando a sua ação sobre o estresse oxidativo. Nossos resultados corroboram com o estudo de Maheshwari et al. (2015) que utilizou sinvastatina e rosuvastatina no tratamento da colite induzida por TNBS, observaram um aumento da atividade da GPx, possivelmente pelo efeito antioxidante dessas substâncias utilizadas como tratamento (MAHESHWARI et al., 2015). Visto que o tratamento utilizado neste trabalho é bem tolerável e de fácil acesso, a possibilidade de utilização deste medicamento na clínica, como coadjuvante no tratamento da colite, é plausível.

CONCLUSÃO

Como a fisiopatologia da RCUI ainda não foi completamente elucidada, ainda existe um grande espaço para futuros tratamentos nessa área. Avaliamos neste trabalho os danos causados pela colite induzida por ácido acético, onde observamos um aumento da lipoperoxidação, alterações na pressão anal esfinteriana e das enzimas antioxidantes, bem como das lesões teciduais. Sendo assim, a administração da mesalazina foi eficaz na melhora dos danos oxidativos, restaurando a atividade das enzimas antioxidantes e demonstrou um efeito protetor contra as lesões teciduais, possivelmente pelo seu efeito antioxidante.

REFERÊNCIAS

- BLONSKI, W.; BUCHNER, A. M. Treatment of ulcerative colitis. **Current opinion in gastroenterology**, v. 30, n. 1, p. 84-96, 2008.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v. 52, p. 302-309, 1978.
- CARDOZO, W. S.; WALTER, C. **Doença inflamatória intestinal**. 2. ed. São Paulo: Saraiva, 2015.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, p. 15-23, 2013.
- CHUONG, M. C.; CHRISTENSEN, J. M.; AYRES, J. W. New dissolution method for mesalamine tablets and capsules. **Dissolution Technologies**, v. 15, n. 3, p. 7-14, 2008.
- COTRAN, R. S. **Patologia - Bases Patológicas das Doenças**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.
- COTRAN R S. **Fundamentos de Patologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

CURY, D. B.; MOSS, A. C. **Doenças inflamatórias intestinais: retocolite ulcerativa e doença de crohn**. 2. ed. São Paulo: Saraiva, 2015.

DIANZANI, C. et al. Cholesteryl butyrate solid lipid nanoparticles inhibit adhesion of human neutrophils to endothelial cells. **British journal of pharmacology**, v. 148, n. 5, p. 648-656, 2006.

FILLMANN, H. et al. Glutamine inhibits over-expression of pro-inflammatory genes and down-regulates the nuclear factor kappaB pathway in an experimental model of colitis in the rat. **Toxicology**, v. 236, p. 217-226, 2007.

FLOHÉ, L.; GUNZLER, W. A. Assays of glutathione peroxidase. **Methods in enzymology**, v. 105, p.114-121, 1984.

GASSULL, M. A. Review article: the intestinal lumen as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 24, n. 3, p. 90-95, 2006.

GENNARO, A. R. **A ciência e a prática da farmácia**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

GHATULE, R. R. Protective effects of Aegle marmelos fruit pulp on 2,4,6 trinitrobenzene sulfonic acid-induced experimental colitis. **Pharmacognosy magazine**, v. 10, n. 1, p. S147-52, 2014.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 12. ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2011.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4. ed. New York: Oxford University Press, 2007.

HAM, M.; MOSS, A. C. Mesalamine in the treatment and maintenance of remission of ulcerative colitis. **Expert review of clinical pharmacology**, v. 5, n. 2, p. 113-123, 2012.

HAMER, H. M. et al. Review article: the role of butyrate on colonic function. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 27, n. 2, p. 104-119, 2008.

HARTMANN, R. M. Effect of *Boswellia serrata* on Antioxidant Status in an Experimental Model of Colitis Rats Induced by Acetic Acid. **Digestive diseases and sciences**, v. 57, n. 8, p. 2038-2044, 2012.

HARTMANN, R. M. et al. *Boswellia serrata* has beneficial anti-inflammatory and antioxidant properties in a model of experimental colitis. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 9, p. 1392-1398, 2014.

HAYASHI, Y. et al. Oral administration of mesalazine protect against mucosa injury and permeation in dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. **Scandinavian journal of gastroenterology**, v. 44, n. 11, p. 1323-1331, 2009.

HIROTANI, Y. et al. Changes of the peptide levels in the intestinal tissue of rats with experimental colitis following oral administration of mesalazine and prednisolone. *Yakugaku zasshi* : Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, v. 128, n. 9, p. 1347-1353, 2008.

KRETZMANN, N. A. et al. Effects of glutamine on proinflammatory gene expression and activation of nuclear factor kappa B and signal transducers and activators of transcription in TNBS-induced colitis. *Inflammatory bowel diseases*, v. 14, n. 11, p. 1504-1513, 2008.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. **The Journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MAHESHWARI, R. A. et al. Protective effect of simvastatin and rosuvastatin on trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in rats. **Indian journal of pharmacology**, v. 47, n. 1, p. 17-21, 2015.

MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **The Journal of biological chemistry**, v. 247, n. 10, p. 3170-3175, 1972.

RAHAL, A. et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. **BioMed Research International**, p. 761264, 2014.

REID, G.; CAREY, F. A. Pathology of idiopathic inflammatory bowel disease. **Surgery**, v. 29, p. 362-365, 2011.

SIDDIQUI, A. et al. Antioxidant therapy with N-Acetylcysteine plus mesalamine accelerates mucosal healing in a rodent model of colitis. **Digestive diseases and sciences**, v. 51, n. 4, p. 698-705, 2006.

SONG, M.; XIA, B.; LI, J. Effects of topical treatment of sodium butyrate and 5-aminosalicylic acid on expression of trefoil factor 3, interleukin 1beta, and nuclear factor kappaB in trinitrobenzenesulphonic acid induced colitis in rats. **Postgraduate medical journal**, v. 82, n. 964, p. 130-135.

TAHAN, G. et al. Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats. **Digestive diseases and sciences**, v. 56, n. 3, p. 715-20, 2011.

TANNAHILL, C. L. et al. Induction and immunolocalization of manganese superoxide dismutase in acute acetic acid-induced colitis in the rat. **Gastroenterology**, v. 109, n. 3, p. 800-811, 1995.

TOKUI, K. et al. Comparative Absorption of 5-aminosalicylic acid (5-ASA) after administration of a 5-ASA enema and salazosulfapyridine (SASP) after an SASP suppository in Japanese volunteers. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 25, n. 2, p. 264-267, 2002.

VIEIRA, E. L. et al. Oral administration of sodium butyrate attenuates inflammation and mucosal lesion in experimental acute ulcerative colitis. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 23, n. 5, p. 430-436, 2011.

YAMADA, Y. et al. A comparative analysis of two models of colitis in rats. **Gastroenterology**, v. 102, n. 5, p. 1524-1534, 1992.