

EFICÁCIA DA *CURCUMA LONGA* NO TRATAMENTO DA COLITE DE DESUSO EM RATOS

Efficacy of Curcuma longa in the treatment of diversion colitis in rats

Arthur Medeiros **LIMA**¹, Carlos Eduardo Costa **NASCIMENTO**¹, Carlos Henrique Marques dos **SANTOS**², Doroty Mesquita **DOURADO**², Gabriel Elias Cardoso **SIQUEIRA**², Giovana Maria **RIGO**¹, Lauren Umpierre **BERNARDI**¹, Paulo Otávio Souza **LEONEL**¹, Rosemary **MATIAS**², Vitor Caldas **FERREIRA**¹, Vitor Cruz Rosa Pires de **SOUZA**²

Como citar este artigo: Lima AM, Nascimento CEC, Santos CHM, Dourado DM, Siqueira GEC, Rigo GM, Bernardi LU, Leonel POS, Matias R, Ferreira VC, Souza VCRP. Eficácia da *Curcuma longa* no tratamento da colite de desuso em ratos. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2019;32(3):e1456. DOI: /10.1590/0102-672020190001e1456

Trabalho realizado na ¹Universidade Anhanguera - Uniderp e ²Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil

DESCRIPTORIOS - *Curcuma*, *zingiberaceae*. Colite. Anti-inflamatórios. Ratos. Colostomia.

RESUMO - Racional: A colite de exclusão é ainda muito frequente em nosso meio, uma vez que a confecção de estomas é prática comum especialmente em situações de trauma. Em consequência, há necessidade de tratamento para a colite de desuso. **Objetivo:** Avaliar o efeito terapêutico da infusão retal de *Curcuma longa* (açafraão-da-terra) no segmento intestinal excluído de ratos. **Método:** Utilizou-se 18 ratos Wistar submetidos à colostomia distribuídos em dois grupos: grupo controle, recebendo infusão intrarretal de solução salina (n=8) e grupo CL, recebendo infusão intrarretal de extrato de *Curcuma longa* (n=10). Após 21 dias de tratamento foram submetidos a eutanásia; o segmento intestinal excluído de trânsito intestinal foi ressecado e submetido a estudo histopatológico classificando-se os graus de inflamação e de congestão vascular. **Resultados:** Verificou-se média de inflamação 2,7 no grupo controle vs. 2,6 no grupo CL (p=0,3125), enquanto as médias de congestão vascular foram 2,3 e 2,1, respectivamente, nos grupos controle e CL (p=0,1642). **Conclusão:** A infusão intrarretal do extrato de *Curcuma longa* não foi capaz de minimizar o processo inflamatório ou a congestão vascular na colite de exclusão de ratos submetidos a colostomia.

Correspondência:

Carlos Henrique Marques dos Santos
E-mail: chenriquems@yahoo.com.br

Fonte de financiamento: não há

Conflito de interesse: não há

Recebido para publicação: 20/02/2019

Aceito para publicação: 03/06/2019

HEADINGS - *Curcuma*, *zingiberaceae*. Colitis. Anti-inflammatory. Rats. Colostomy.

ABSTRACT - Background: Diversion colitis is still very common in our country, since the stoma creation is a common practice especially in situations of trauma, needing treatment for this condition. **Aim:** To evaluate the therapeutic effect of rectal infusion of *Curcuma longa* (turmeric) in the excluded intestinal segment of rats. **Method:** Eighteen Wistar rats were used and submitted to colostomy: control group (n=8) under rectal saline infusion and group CL, receiving intra-rectal infusion of *Curcuma longa* extract (n=10). After 21 days of treatment they were submitted to euthanasia; the intestinal segment excluded from intestinal transit was resected and sent to histopathological evaluation, classifying the degree of inflammation and of vascular congestion. **Results:** The average of inflammation was 2.7 in the control group vs. 2.6 in the CL group (p=0.3125), while the mean vascular congestion was 2.3 and 2.1, respectively, in the control and CL groups (p=0.1642). **Conclusion:** Intra-rectal infusion of *Curcuma longa* extract was not able to minimize the inflammatory process or vascular congestion in the diversion colitis of rats subjected to colostomy.

INTRODUÇÃO

Ainda é comum a realização de estomas intestinais em todo o mundo, especialmente em procedimentos de emergência, como traumas, obstruções intestinais, perfurações e doenças inflamatórias. Esses desvios de trânsito são feitos principalmente em caráter temporário; no entanto, podem se tornar definitivos devido às condições clínicas dos pacientes. Quando temporários, uma média de três meses é estimada para a reconstrução intestinal; no entanto, este período pode ser prolongado por anos devido a múltiplos fatores^{4,17}.

O procedimento de Hartmann, quando o colo sigmoide é exteriorizado e o reto excluído do trânsito intestinal, corresponde à metade dos desvios de trânsito intestinal, tornando este tipo de estoma também aquele que apresenta maior número de complicações, principalmente em longo prazo. Assim, nos casos em que o desvio permanece por mais de seis meses, aumenta o número de complicações, dentre elas, a colite de exclusão^{11,13}.

A colite de exclusão pode causar dor retal, além de secreção mucopurulenta,

causando desconforto aos pacientes e pode causar dificuldades na anastomose no momento da reconstrução intestinal, quando isso for possível. A melhor terapia para essa situação é a infusão de enemas de ácidos graxos de cadeia curta, uma vez que haveria nutrição direta das células intestinais através do lúmen¹. No entanto, o maior obstáculo a essa terapia é o custo, que é bastante alto e inviável quando o tratamento deve ser prolongado por longos períodos²⁻⁵.

Assim, o número de pesquisas que buscam uma opção terapêutica tão eficaz quanto os ácidos graxos de cadeia curta e que apresentem um custo menor sem efeitos adversos é crescente, o que, teoricamente, seria alcançado com fitoterápicos, pois muitos demonstraram efeito anti-inflamatório em outras situações^{14,18}.

A cúrcuma na medicina tem sido utilizada pelo seu efeito anti-inflamatório e cicatrizante. Sua bioatividade deve-se aos curcuminóides, especialmente a curcumina, que têm vários efeitos comprovados cientificamente, como a redução da inflamação em casos de artrite, prevenção de arteriosclerose, distúrbios respiratórios e gastrointestinais, efeitos hepatoprotetores, afecções da pele como psoríase e eczema, prevenção de câncer e capacidade antioxidante. A capacidade anti-inflamatória, em parte, é devida à inibição da síntese de prostaglandinas inflamatórias⁹.

Foi evidenciado que a aplicação de enemas contendo extrato oleoso de *Curcuma longa*, foi efetiva em prevenir alguns sinais inflamatórios como perda epitelial e, também, a preservação da regularidade do epitélio do lúmen colônico⁸.

Assim, havendo evidências do efeito anti-inflamatório da *Curcuma longa* e devido à necessidade de se encontrar medicação de grande disponibilidade e baixo custo que tenha eficácia na colite de desuso justifica-se a presente pesquisa, que tem por objetivo avaliar o efeito anti-inflamatório da *Curcuma longa* no segmento intestinal excluído de ratos submetidos a colostomia terminal.

MÉTODO

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e o estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Uso de Animais da Universidade Anhanguera-Uniderp.

Animais

Utilizou-se 18 ratos Wistar machos com peso variando entre 250-300 g, que foram obtidos do Biotério da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Os animais foram distribuídos em dois grupos: 1) grupo controle, n=8, submetido à infusão de solução salina durante 21 dias; 2) grupo *Curcuma longa*, n=10, submetido à colostomia e, após sete dias, à infusão intrarretal de enemas de *Curcuma longa* durante 21 dias.

Procedimento cirúrgico

Os animais foram mantidos em jejum nas 12 h que antecederam o procedimento e então anestesiados por injeção intraperitoneal de solução 2:1 de cloridrato de cetamina 50 mg/kg e cloridrato de xilazina 20 mg/ml, respectivamente, na dose de 0,1 ml da solução para cada 100 g de peso.

Após confirmada a anestesia, os animais foram fixados à mesa operatória com os quatro membros em abdução, realizada tricotomia abdominal, antisepsia com clorexidina 2%, colocação de campos estéreis e laparotomia mediana de aproximadamente 4 cm. Uma sonda 6F previamente introduzida no reto demarcou o ponto exato de secção para que fosse realizada de modo semelhante em todos os animais. Realizou-se a secção 6 cm proximalmente ao ânus com bisturi de lâmina fria, seguida de fechamento do coto distal com sutura contínua seromuscular com fio poligalactina 910 5-0. O coto proximal foi exteriorizado pela parede abdominal à esquerda

e fixado à pele por quatro pontos com fio poligalactina 910 5-0. A parede abdominal foi fechada por sutura contínua com poligalactina 910 5-0 e a pele com pontos separados com mononylon 4-0.

Preparação do extrato de *Curcuma longa*

As folhas foram coletadas em suas áreas de vegetação nativa de Campo Grande no Mato Grosso do Sul, Brasil. Após secagem, trituração e tamização foram, separadamente, submetidas à extração com etanol, que ocorreu em banho de ultrassom (UNIDQUE,1450) durante 60 min e submetido em sequência à extração por maceração até o esgotamento da droga. Os solventes foram evaporados (rota evaporador rotativo a 45° C) e o extrato bruto aquoso ficou em dessecador sob pressão reduzida por 6 h, que foi incorporado à solução de cloreto de sódio 0,9%. A concentração estabelecida foi de 200 mg/ml. Para manipulação do medicamento foram seguidas as normas de boas práticas de manipulações de fórmulas, com assepsia completa da bancada e vidrarias com álcool 70%. Para isto, portanto, foi necessário a utilização de toda a paramentação para realizar o procedimento evitando possíveis contaminações ao produto.

Tratamento

Após sete dias da confecção do estoma iniciou-se a infusão dos enemas retais, com frequência diária, sempre no mesmo horário, durante 21 dias, com seringa conectada a sonda uretral 6F, de acordo com o grupo, ou seja, grupo controle submetido à injeção intrarretal de solução salina e grupo *Curcuma longa* à injeção intrarretal de extrato de *Curcuma longa*.

Eutanásia e retirada dos espécimes

A eutanásia foi realizada após 21 dias de tratamento em todos os animais por meio de injeção intraperitoneal de dose dobrada dos anestésicos já descritos. Em seguida realizou-se nova laparotomia mediana e ressecção de 2 cm do reto proximal, seguido de abertura do espécime, lavagem em solução salina e colocação em frascos separados e identificados contendo formaldeído a 10% para posterior análise histológica.

Estudo histopatológico

Os espécimes foram processados, embebidos em parafina e seccionados em micrótomo a cada 5µm; as lâminas foram coradas com H&E e avaliadas por pesquisador experiente sem que ele tivesse conhecimento do grupo. Todas as lâminas foram analisadas avaliando-se o grau do processo inflamatório e a congestão vascular de acordo com escore variando de 0 a 3. O inflamatório foi feito com base dos focos por campo (Figura 1) sendo que eles eram caracterizados pela presença de macrófagos, células dendríticas, linfócitos B e T observados nos folículos linfóides exibindo mucosa atrofiada.): 0=ausência; 1=leve – um foco; 2=moderado – dois focos; 3=intensa – três focos. Cada foco inflamatório era caracterizado por presença de infiltrado de células mononucleares incluindo macrófagos, linfócitos e células plasmáticas, resultando em recrutamento contínuo da circulação sanguínea e proliferação local.

Classificação da congestão vascular (Figura 2): 0=ausente; 1=leve; 2=moderada; 3=intensa, onde cada grau era avaliado como sendo a representação da estase. Os critérios para determinação da intensidade da congestão vascular foram a dilatação pronunciada e o ingurgitamento das arteríolas e dos capilares, com leucócitos em posição periférica no fluxo laminar.

Análise estatística

As médias dos graus de inflamação e congestão vascular foram submetidos a tratamento estatístico pelo programa BioEstat 5.3, com análise de variância (ANOVA), testes Kruskal-Wallis e Mann-Whitney seguidos pelo teste de Tukey com nível de significância de p<0,05.

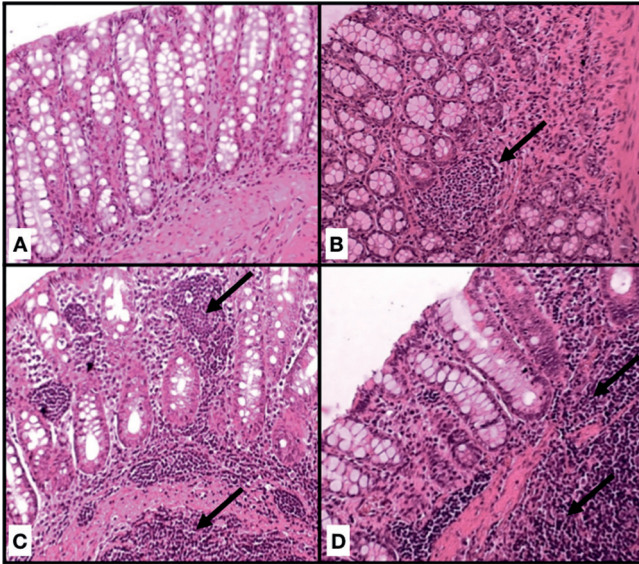


FIGURA 1 - Classificação do infiltrado inflamatório por foco inflamatório por campo: A) epitélio normal, ausência de inflamação; B) um foco; C) dois focos; D) mais de dois focos (H&E 200x)

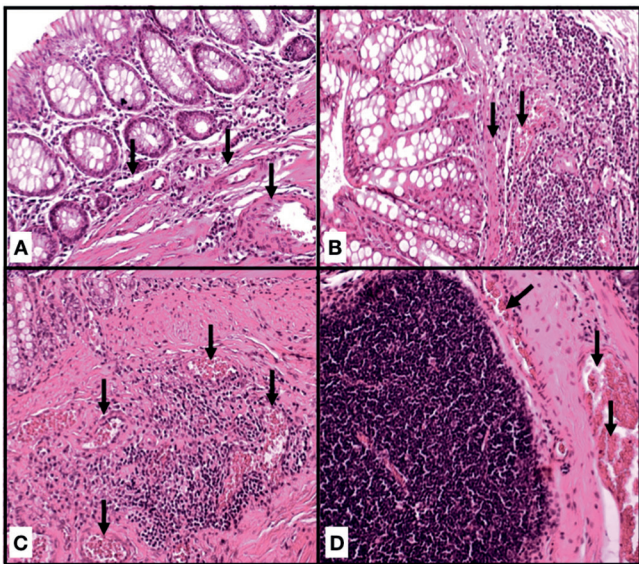


FIGURA 2 - Classificação da congestão vascular: A) ausência de congestão vascular; B) congestão vascular leve (setas); C) congestão vascular moderada; D) congestão vascular intensa (H&E, 200x)

RESULTADOS

Na avaliação do processo inflamatório observou-se média 2,7 no grupo controle, enquanto que no grupo extrato de *Curcuma longa* a média foi 2,6 (p=0,3125, Tabela 1).

Em relação à avaliação do grau de congestão vascular não houve diferença entre os grupos, uma vez que no grupo controle a média observada foi 2,3 enquanto que no da *Curcuma longa* foi 2,1 (p=0,1642, Tabela 2).

TABELA 1 – Avaliação do processo Inflamatório no segmento intestinal excluído

Ratos	Grupos	
	Controle	Curcuma longa
1	3	0
2	3	3
3	2	2
4	3	3
5	3	3
6	3	3
7	3	3
8	2	3
9	-	3
10	-	3
Média	2,7	2,6

TABELA 2 – Avaliação do grau de congestão vascular no segmento intestinal excluído

Ratos	Grupos	
	Controle	Curcuma longa
1	0	1
2	1	2
3	3	2
4	3	2
5	3	2
6	2	2
7	3	2
8	3	3
9	-	3
10	-	2
Média	2,3	2,1

DISCUSSÃO

No presente estudo, observou-se que a exclusão do trânsito fecal no segmento colônico em ratos durante 21 dias promoveu de fato um processo inflamatório, considerando a média de 2,7 graus observada, em uma escala que varia de 0 a 3, caracterizada por inflamação moderada a grave. O mesmo já foi observado por outros autores, e este é o ponto de partida para a avaliação da eficácia terapêutica da *Curcuma longa*^{1,2,3,4,5}. O método de avaliação histológica também foi o mesmo, o que facilita a comparação, pois ela é bem caracterizada pela infiltração com células mononucleares, que incluem macrófagos, linfócitos e plasmócitos; destruição tecidual por células inflamatórias e tentativas de cicatrização pela substituição de tecido lesado por tecido conjuntivo por pequena proliferação de vasos (angiogênese) e fibrose^{7,8,13,14,15,16}.

Kadri et al.⁸ observaram eficácia do extrato de *Curcuma longa* em modelo experimental de colite de exclusão em ratos, de modo oposto ao aqui observado. Esta discrepância nos resultados pode dever-se ao veículo utilizado, já que na presente pesquisa utilizou-se extrato aquoso, enquanto os autores referidos utilizaram extrato oleoso, o que em tese poderia oferecer maior aderência do produto à mucosa retal. Pareceu-nos conflitante, entretanto, que aqueles autores não tenham observado diferença entre 50 mg/kg/dia e 200 mg/kg/dia, ou seja, mesmo com uma concentração quatro vezes menor do que a aqui utilizada também obtiveram redução do processo inflamatório no segmento excluído. Kadri et al.⁸ também se utilizaram da análise histológica como aqui aplicado, mas analisaram também a concentração tecidual de mieloperoxidase. Uma outra importante diferença observada no método foi que na presente pesquisa optou-se por aguardar sete dias para dar início ao tratamento, uma vez que na prática clínica, a colite

de exclusão só é tratada uma vez que esteja instalada. Já Kadri et al.⁸ optaram por iniciar a terapêutica imediatamente após a confecção do estoma, o que permitiria um menor grau de inflamação em comparação com nossa pesquisa.

Fernandez et al.⁴ avaliaram o sucralfato no tratamento da colite de exclusão em ratos e também iniciaram a terapêutica imediatamente após a confecção do estoma, o que dá respaldo ao método de Kadri et al.⁸, mas que a nosso ver não seria o ideal, porque não se sabe a real eficácia do fármaco frente a um processo inflamatório mais intenso e já instalado. Entendemos que a pesquisa experimental deve simular situações clínicas para que haja aplicabilidade.

Apesar de muito estudada como agente anti-inflamatório, especificamente na colite de exclusão há apenas a publicação de Kadri et al.⁸ utilizando *Curcuma longa*. Assim, cabe-nos comparar os resultados aqui obtidos com outras situações de inflamação intestinal. Cunha Neto et al.³ observaram em artigo de revisão sobre os efeitos da *Curcuma longa* no processo inflamatório intestinal em doenças como retocolite ulcerativa e doença de Crohn; esta planta poderia agir como coadjuvante, já que comprovadamente reduz o estresse oxidativo e inibe a migração de leucócitos. Pode também prevenir apoptose das células intestinais e induzir a recuperação mucosa. Embora tais efeitos descritos sejam os mesmos desejados na colite de exclusão para comprovar a redução do processo inflamatório, há que se considerar que a revisão analisou artigos com métodos muito diversos e, nenhum deles, em colite de exclusão experimental.

Simadibrata et al.¹⁶ revisaram também o efeito da *Curcuma longa* em manter a retocolite ulcerativa em remissão. Encontraram 49 publicações sobre o tema, todos em pacientes com a doença tratada por agentes tradicionais e, embora o resultado promissor, os próprios autores ressaltam a importância de pesquisas desenhadas especificamente para a análise pura da *Curcuma longa* e de maior número de pacientes, já que as publicações estudadas tinham todas número reduzido de pacientes. Esta publicação mostra de forma clara o interesse crescente do uso de fitoterápicos, incluindo-se a *Curcuma longa* no tratamento de colite.

A congestão vascular é um achado comum no processo inflamatório intestinal independente da origem. É também um dos mais precoces, ocorrendo mesmo na inflamação leve^{1,6,10,12}. Sendo assim, o fato de não haver diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados quanto à congestão vascular era de fato esperado, uma vez que também não se observou diferença em relação à inflamação.

Os resultados aqui obtidos, embora divergentes da maior parte das publicações relacionadas a *Curcuma longa* na prevenção ou redução do processo inflamatório intestinal, não devem ser entendidos como uma avaliação negativa deste fitoterápico, uma vez que o método aqui empregado é diferente das publicações utilizadas para comparação. Demonstram apenas que quando a inflamação já está instalada após uma semana de confecção do estoma, portanto, com processo inflamatório moderado a intenso, o extrato de *Curcuma longa* não foi eficaz em diminuir a intensidade da inflamação com o tratamento realizado por três semanas. Caberia a realização do tratamento a partir do momento da confecção do estoma para se obter uma comparação direta, ou, o que seria ideal a nosso ver, prolongar-se o tratamento por mais uma a duas semanas, o que deve ser objeto de novas pesquisas.

CONCLUSÃO

O extrato de *Curcuma longa* não foi capaz de minimizar o processo inflamatório do segmento intestinal excluído de ratos submetidos à colostomia terminal.

Carlos Henrique Marques dos Santos - 0000-0002-1181-7329
Doroty Mesquita Dourado - 0000-0002-6164-6046

REFERÊNCIAS

- Biondo-Simões MLP, Greca FH, Abicalaffe MD, Colnaghi MC, Matos e Silva E, Yamasaki ES, Smaniotto G. Colite do cólon excluído: modelo experimental em ratos. *Acta Cir Bras* 2000; 15(3): 7-11.
- Chaim FM, Sato DT, Rodrigues MR, Dias AM, Silveira Junior PP, Pereira JA. Evaluation of the application of enemas containing sucralfate in tissue content of neutral and acid mucins in experimental model of diversion colitis. *Acta Cir Bras* 2014; 29: 544-52.
- Cunha Neto F, Marton LT, de Marqui SV, Lima TA, Barbalho SM. Curcuminoids from *Curcuma longa*: New adjuvants for the treatment of crohn's disease and ulcerative colitis? *Crit Rev Food Sci Nutr* 2018; 22:1-8. doi: 10.1080/10408398.2018.1456403.
- Fernandez OOA, Pereira JA, Campos FG, Araya CM, Marinho GE, Novo RS, Oliveira TS, Franceschini YT, Martinez CAR. Evaluation of enemas containing sucralfate in tissue content of MUC-2 protein in experimental model of diversion colitis. *Arq Bras Cir Dig* 2018; 31(3): e1391. Doi: 10.1590/0102-672020180001e1391.
- Guillemot F, Colombel JF, Neut C, Verplanck N, Lecomte M, Romond C. Treatment of diversion colitis by short-chain fatty acids. Prospective and double-blind study. *Dis Colon Rectum* 1991; 34(10):861-864.
- Harig JM, Soergel KH, Komorowski RA, Wood CM. Treatment of Diversion Colitis with Short-Chain-Fatty Acid Irrigation. *N Engl J Med* 1989; 320:23-28.
- Kabir SI, Kabir SA, Richards R, Ahmed J, MacFie J. Pathophysiology, clinical presentation and management of diversion colitis: a review of current literature. *Int J Surg* 2014; 12(10): 1088-1092.
- Kadri CJ, Pereira JA, Campos FG, Ortega MM, Bragion CB, Martinez CA. Anti-inflammatory effects of enemas containing an oily extract of curcumin in an experimental model of diversion colitis. *Histol Histopathol* 2017; 32(2):161-169. doi: 10.14670/HH-11-783.
- Lang A, Salomon N, Wu JC, Kopylov U, Llahat A, Har-Noy O. Curcumin in combination with mesalazine induces remission in patients with mild-to-moderate ulcerative colitis in a randomized controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13: 1444-1449.
- Martinez CA, Nonose R, Spadari AP, Maximo FR, Priolli DG, Pereira JA, Margarido NF. Quantification by computerized morphometry of tissue levels of sulfomucins and sialomucins in diversion colitis in rats. *Acta Cir Bras* 2010; 25(3): 231-240.
- Marques e Silva S, Melo CCL, Almeida SB, Queiroz HF, Soares AF. Complicações das Operações de Reconstrução do Trânsito Intestinal. *Rev Bras Coloproct* 2006; 26(1):24-27.
- Mello de Oliveira R, Silva CMG, Fonte FP, Silva DLF, Pereira JA, Margarido NF, Martinez CAR. Evaluation of the number of goblet cells in crypts of the colonic mucosa with and without fecal transit. *Rev Col Bras Cir* 2012; 39(2): 139-145.
- Mortensen FV, Langkilde NC, Joergensen JC, Hessov I. Short-chain fatty acids stimulate mucosal cell proliferation in the closed human rectum after Hartmanns procedure. *Int J Colorectal Dis* 1999; 14: 150-154.
- Nassri CGG, Nassri AB, Favero E, Rotta CM, Martinez CAR, Margarido NF. Influência da Irrigação de Soluções Nutricionais no Colo Excluído de Trânsito Intestinal. Estudo Experimental em Ratos. *Rev Bras Coloproct* 2008; 28(3): 306-314.
- Nonose R, Spadari APP, Priolli DG, Maximo FR, Pereira JA, Martinez CAR. Tissue quantification of neutral and acid mucins in the mucosa of the colon with and without fecal stream in rats. *Acta Cir Bras* 2009; 24: 267-275.
- Simadibrata M, Halimkesuma CC, Suwita BM. Efficacy of Curcumin as Adjuvant Therapy to Induce or Maintain Remission in Ulcerative Colitis Patients: an Evidence-based Clinical Review. *Acta Med Indones* 2017; 49(4):363-368.
- Tominaga K, Kamimura K, Takahashi K, Yokoyama J, Yamagiwa S, Terai S. Diversion colitis and pouchitis: A mini-review. *World J Gastroenterol* 2018; 24(16): 1734-1747.
- Varilek GW, Fajun Y, Eun YL, Villiers WJS, Zhong J, Oz HS, Westberry KF, McClain CJ. Green tea polyphenol extract attenuates inflammation in interleukin-2-deficient mice, a model of autoimmunity. *The Journal of Nutrition* 2001; 131: 2034-2039.