



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MATO GROSSO
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO ARAGUAIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO DE BIOMEDICINA

CAROLINE GOMES SILVA

**AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS REOLÓGICOS DO FRUTO DE *Dillenia indica* E
SEUS EFEITOS SOBRE A ATIVIDADE FUNCIONAL DE CÉLULAS DO SANGUE
HUMANO**

**Barra do Garças-MT
2020**

CAROLINE GOMES SILVA

AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS REOLÓGICOS DO FRUTO DE *Dillenia indica* E SEUS EFEITOS SOBRE A ATIVIDADE FUNCIONAL DE CÉLULAS DO SANGUE HUMANO.

Monografia apresentada à banca examinadora do curso de Biomedicina do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, do Campus Universitário do Araguaia - UFMT, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Adenilda Cristina Honorio França.
COORIENTADOR:: André Henrique Furtado Torres.

**Barra do Garças-MT
2020**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar comigo me dando forças para seguir em todos os momentos, e por me permitir chegar até aqui.

A minha orientadora Adenilda Cristina Honório França por me receber com toda atenção e me acompanhar em todo o decorrer do trabalho em todos os momentos que precisei.

Ao professor Eduardo Luzia França por toda a atenção, ensinamentos e incentivos.

Aos meus pais pelo apoio e incentivo que serviram de alicerce para as minhas realizações, pelo carinho, atenção e amor incondicional sempre. Todos os dias sou grata pela bênção de ter vocês !

Ao meu marido Rafael por toda a paciência, compreensão e amor, por nosso melhor presentinho que tanto amamos Caio. Deus não poderia ter me dado nada melhor que vocês na minha vida!

A todos Laboratório da Relação Materno Infantil e Laboratório de Cronoimunomodulação, em especial a André Henrique Furtado Torres por toda a atenção, ajuda e dedicação no decorrer do trabalho, por todas as palavras amigas de incentivo. MUITO OBRIGADA!

As minhas irmãs de alma Andressa, Bruna, Kellen e Morgana por todos esses anos de amizade, companheirismo, amor e muitas aventuras.

E a todas as pessoas que de alguma maneira colaborou nesta caminhada.

RESUMO

A *Dillenia indica* popularmente conhecida como maçã de elefante é uma árvore de grande copa, da família dilleniaceae, nativa da Ásia tropical. O fruto contém pétalas carnosas que envolvem sementes, os frutos são usados na medicina popular para tratar dores musculares, em caso de inflamações e analgésicos em casos de reumatismo e artrose. Este trabalho teve como objetivo avaliar os aspectos reológicos e oxidativo do fruto sobre a atividade funcional de células do sangue humano. O extrato do fruto foi extraído nas concentrações de 10 ng/ml e 100 ng/ml e posteriormente foi verificado os aspectos reológico e o comportamento celular com a presença do extrato. Observou-se que o extrato da fruta, independente de da concentração, não houve alteração na curva de fluxo. A viscosidade do sangue foi maior quando o sangue foi incubado com a fruta na concentração 100 ng/ml. A viabilidade celular na presença do extrato do fruto foi superior a 95% e o extrato da fruta foi capaz de aumentar a fagocitose. Quando estas células foram incubadas com a bactéria (EPEC) e tratadas pelo o extrato na concentração 100 ng/ml observou-se tendência de redução concentração de SOD. Estes dados sugerem que o extrato de *Dillenia indica* foi capaz de modular a atividade funcional de células sanguíneas, em especial quando em presença de EPEC.

Palavras-chave: Maçã de Elefante, reologia, fagocitose.

ABSTRACT

Dillenia indica popularly known as elephant apple is a tree with a large crown, from the family dilleniaceae, native to tropical Asia. The fruit contains fleshy petals that involve seeds, the fruits are used in folk medicine to treat muscle pain, in case of inflammation and analgesics in cases of rheumatism and osteoarthritis. This work aimed to evaluate the rheological and oxidative aspects of the fruit on the functional activity of human blood cells. The extract of the fruit was extracted at concentrations of 10 ng / ml and 100 ng / ml and later the rheological aspects and cellular behavior were verified with the presence of the extract. It was observed that the fruit extract, regardless of concentration, there was no change in the flow curve. The blood viscosity was higher when the blood was incubated with the fruit at a concentration of 100 ng / ml. Cell viability in the presence of the fruit extract was greater than 95% and the fruit extract was able to increase phagocytosis. When these cells were incubated with the bacteria (EPEC) and treated by the extract at a concentration of 100 ng / ml, there was a tendency to reduce SOD concentration. These data suggest that the extract of *Dillenia indica* was able to modulate the functional activity of blood cells, especially when in the presence of EPEC.

Keywords: Elephant apple, rheology, phagocytosis.

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

E.COLI – *Escherichia coli*

EPEC – *Escherichia coli* enteropatogenica

M.E – Maça de Elefante

MN – Células mononucleares

PBS- Phosphatase Buffered Saline

SOD – Enzima superóxido dismutase

Lista de figuras

- Figura 1.** curvas de fluxo dos grupos analisados Pa= Pascal, Shear Stress= Tensão de cisalhamento, Shear Rate = Taxa de cisalhamento.....14
- Figura 2.** A viscosidade do sangue nas concentrações de (100 ng/ml) e (10 ng/ml) de extrato.15
- Figura 3.** Índice de Viabilidade Celular (%) das células fagocíticas do sangue periférico incubados com extrato da fruta Dillenia indica nas duas concentrações de (100 ng/ml) e (10 ng/ml)16
- Figura 4.** Índice de fagocitose (%) das bactérias E. coli enteropatogênicas pelas células fagociticas do sangue periférico incubadas com extrato de Dillenia indica nas diluições de microlitros e nanolitros. *P<0.05.....17

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Concentração de enzima superóxido dismutase (Cu-Zn-SOD) no sobrenadante de células mononucleares do sangue periférico tratadas pelo extrato de *Dillenia indica* e incubadas com EPEC.18
- Tabela 2.** Correlação da enzima superóxido dismutase (Cu-Zn-SOD) com a viscosidade sanguínea.19

Sumário

APÊNDICE- ARTIGO	6
1- INTRODUÇÃO	7
2- MATERIAIS E MÉTODOS.....	9
3- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
4- Conclusão	19
5- REFERÊNCIAS	20

APÊNDICE- ARTIGO

TITULO: AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS REOLÓGICOS DO FRUTO DE *Dillenia indica* E SEUS EFEITOS SOBRE A ATIVIDADE FUNCIONAL DE CÉLULAS DO SANGUE HUMANO.

AUTORES: Silva, C. G.; Torres, A. H. F.; Honório-França A. C. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMT- Universidade Federal de Mato Grosso, Barra do Garças, Mato Grosso, Brasil.

Autor correspondente – Adenilda Cristina Honório França

Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde.

UFMT- Universidade Federal de Mato Grosso

Avenida Valdon Varjão, nº 6.390. CEP: 78600-000 Barra do Garças, Mato Grosso, Brazil.

1- INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais e seus componentes químicos e farmacológicos na busca de novos compostos terapêuticos, especialmente de drogas alternativas no tratamento de doenças, incluindo infecções tem sido alvo de vários estudos (França et al., 2010). Por outro lado, as frutas possuem compostos químicos que desempenham papéis biológicos importantes (Prior, 2000). Estes, denominados compostos bioativos ou fitoquímicos, geralmente são encontrados em pequenas quantidades em alimentos, especialmente em plantas, e podem atuar de diferentes formas sobre a saúde humana (Santos, 2015). As frutas são ricas em propriedades antioxidantes apresentando efeito protetor contra os radicais livres (López et al., 2014), auxiliando na diminuição da incidência de inflamações, artrite, arteriosclerose, disfunção cerebral, aceleração do processo de envelhecimento (Reynertson et al., 2008). As propriedades biológicas desses antioxidantes naturais têm sido amplamente atribuídas a seus altos níveis de vários compostos fenólicos, como os flavonoides e ácidos fenólicos (Koolen et al., 2013).

A maçã-elefante (*Dillenia indica*) é uma planta da cultura hortícola que é cultivada em grande parte no nordeste da Índia. As folhas, cascas e frutas da planta são utilizadas na medicina tradicional, pois elas estão tendo bons valores terapêuticos. A planta começa a florescer entre os meses de maio a agosto e o amadurecimento das frutas começa em setembro a fevereiro. Frutos maduros são de cor amarelo esverdeado, suculentos com cheiro agradável (Deepa e Jena, 2011). A fruta tem pétalas carnosas e numerosas sementes em uma polpa gelatinosa. Além de possuir uma vasta série de aplicações, o fruto é rico em nutrientes, podem ser processados em produtos comerciais, como também para servir bebidas e geleias (Abdille et al., 2005).

O fruto da *Dillenia indica* é usado na medicina tradicional obtendo bom valor terapêutico, é utilizado em comunidades de várias regiões da Índia (Dubey et al.,

2009; Pradhan e Badola, 2008). As pétalas da fruta são ricas em vitamina C, taninos, ácido málico, arabinogalactano, glicose, betulina, ácido betulínico e flavonoides (Nayak et al., 2016). Na literatura, análises revelaram que a *Dillenia indica* tem grande valor medicinal, incluindo, antimicrobiano (Pavin, 2009), antioxidante (Deepa e Jena 2011) e atividades anti-inflamatórias (Yeshwante et al., 2009).

Na literatura relata a eliminação de bactérias por fagócitos mononucleares, sendo sua atividade microbicida estimulada na presença de agentes imunomoduladores, entre este, plantas medicinais (Honorio-França et al., 1997; França et al., 2010).

As bactérias do gênero *Escherichia coli* (*E. Coli*) são gram-negativas e resistentes a muitos antibióticos. A *Escherichia coli* é um patógeno causador de várias infecções extra intestinais e intestinais (Croxen et al., 2013; Speranza, 2015). Segundo a literatura, existem seis categorias patogênicas de *E. coli* que causam infecção intestinal em homens e animais, dentre os tipos existe a *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) (De Moura, 2012). A EPEC é um dos principais agentes causadores da diarreia aguda em crianças (Abdullahi et al., 2018; Kosek et al., 2003).

Estudos relatam que os fagócitos do sangue apresentam ativação do metabolismo oxidativo e atividade bactericida na presença de bactérias, uma atividade que pode ser modulada por alguns fatores presente no sangue, bem como por plantas que são capazes de estimular células imunológicas e atuar como forma alternativa no tratamento de infecções como mostram em diversos trabalhos (Honório-França et al. 1997; Honório-França et al., 2001; França et al., 2012; França et al., 2010).

Considerando que a *Dillenia indica* possui grande potencial terapêutico, esta fruta que pode ser utilizado na preparação de formulações. Assim sendo, este trabalho tem como objetivo avaliar reologicamente o comportamento do sangue periférico humano com a presença do extrato da *Dillenia indica*, bem como a atividade funcional de células mononucleares do sangue tratadas pelo extrato da fruta na presença de EPEC.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

Extrato hidrofílico da polpa

O fruto de *Dillenia indica* maduro, pertencente à safra de 2019, foi obtido na cidade de (Araxá-MG). Após colhido foi higienizado, cortado, pesado e triturado. Para a obtenção do extrato hidrofílico foi elaborado de acordo com método descrito por Barcia et al. (2015). Adicionou-se 25 mL da solução extratora composta por álcool metílico: água: ácido fórmico (50:48,5:1,5, v/v/v) em 5,0 g de polpa, agitando-se por 15 minutos em cuba ultrassônica, em seguida realizou-se uma filtração, o resíduo foi re-extraído e os filtrados foram combinados. Em seguida os extratos foram rotaevaporados por duas horas a 40°C o extrato foi preparado nas concentrações de 10 ng/ml e 100 ng/ml.

Obtenção de Sangue Humano e de Células mononucleares do sangue periférico

Foram coletados 5 mL de sangue periférico de indivíduos (n= 8), clinicamente saudáveis na faixa etária de 19 a 25 anos de idade. Os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes de participarem da pesquisa, o qual foi aprovado pelo comitê de ética local da Universidade Federal de Mato Grosso. Uma parte do sangue total foi utilizada para as análises reológicas e o restante foi utilizado para obtenção de células mononucleares.

A obtenção das células mononucleares (MN) foi realizada por gradiente de densidade utilizando Ficoll Paque Plus® (GE Healthcare). Foi adicionado 3 mL de Ficoll Paque Plus acrescidos de 5 mL de sangue no tubo falcon (15mL). As amostras foram centrifugadas por 40 minutos a 1600 rpm. Em seguida, com auxílio de uma pipeta pasteur, foi realizado

a coleta do anel de MN. Após essa retirada as células foram lavadas por duas vezes com em solução salina tamponada (PBS). Diante disso, foi realizada a contagem na câmara de Neubauer, e ajustadas a uma concentração de 2×10^6 células/ml de meio de cultura.

Análise reológica

A análise reológica foi realizada pelo Modular Compact Rheometer – MCR 102 (Anton Paar GmbH, Ostfildern, Germany). Foram 3 grupos sendo um controle com 600 µl de sangue total e dois com 600 µl de sangue e 60 µl extrato nas diluições determinadas em 10 ng/ml e 100 ng/ml.

As leituras foram realizadas com controle permanente do gap de medição com suporte TruGap™ em 0,099 mm, célula de medição tipo cone Toolmaster™ CP 50 (ângulo 1°) e controle preciso da temperatura com recurso TReady™, utilizando Software Rheoplus V3.61. Os gráficos reológicos foram todos realizados com o Software Rheoplus. Para as curvas de fluxo e viscosidade os parâmetros estabelecidos foram baseados no controle da tensão de cisalhamento (τ) de 0 a 5 Pa para curva ascendente e de 5 a 0 Pa para a curva descendente.

Viabilidade Celular

A viabilidade dos fagócitos do sangue periférico humano foi avaliada pela técnica de alaranjado de acridina (Bellinati-Pires et al., 1989). O Alaranjado de acridina é um corante fluorocromo vital, metacromático, que se liga ao DNA ou RNA celular (Frester, 1971; Smith e Rommel, 1977). Quando examinado sob um microscópio ultravioleta, em contato com DNA de cadeia dupla, emite cor verde, ortocromática e quando em contato com o

DNA desnaturado ou despolarizado, ou RNA de cadeia simples, na forma metacromática, emite cor alaranjado ou avermelhado (Smith E Rommel, 1977, McFeters et al., 1991).

Após a separação e ajuste da concentração as células foram incubadas por 2 horas com o extrato da fruta. A seguir foram lavadas duas vezes por centrifugadas em uma rotação de 1600 rpm por 10 minutos. Após a centrifugação do material foi descartado o sobrenadante e o pellet corados com 200 µl de Acridina Orange por um minuto. A seguir as células foram ressuspensas com 5 mL de PBS e centrifugadas por 10 minutos a 1600 rpm. A lavagem foi repetida por duas vezes em PBS. Após a lavagem das células, retirou-se o sobrenadante, e o pellet foi desfeito. Foi pipetado 10 µl de células em uma lâmina, colocou-se então a lamínula e realizou a contagem em microscópio de fluorescência na objetiva de 40X. Foram contadas 100 células e o índice de viabilidade celular expresso em porcentagem, foi obtido através da contagem de 100 células, onde foram contabilizadas as células vivas as que possuíam coloração verde e as células mortas as que possuíam coloração alaranjada, obtendo-se uma relação de células vivas/mortas (França et al, 2011).

Linhagem de Escherichia coli enteropatogênica (EPEC)

A bactéria utilizada foi a *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) sorotipo 0111: H- AL-, eae+, eaf+, bfp+ e conservada a -70°C. A cultura de estoque foi armazenada em ágar semisólido a temperatura laboratorial e em ausência de luz. Com a utilização dessa cultura de estoque, foram realizados repiques 24 horas antes do ensaio em tubos de BHI de 10 ml, e estes foram incubados em estufas a 37°C por 24 horas. Em seguida, as bactérias foram lavadas duas vezes com PBS, e a concentração ajustada para 1×10^7 bactérias por mL, medidas então com o espectrofotômetro (540 nm, DO= 0,1).

Fagocitose

A fagocitose das células MN do sangue periférico humano foi avaliada pela técnica de alarajado de acridina (Bellinate-Pires et al., 1989). Volumes iguais de suspensão de bactérias (2×10^7 bactérias/mL) e de suspensão de células (2×10^6 células/mL fagócitos mononucleares) foram misturados em tubos plásticos. O volume final, da mistura fagocitária, foi dependente do rendimento celular das amostras de sangue, não sendo inferior a 0,5 ml. A suspensão de EPEC e células foi submetida à incubação prévia por 30 minutos, sob agitação a 37°C. Após esse período a fagocitose foi interrompida pela adição de meio de cultura (meio 199) gelado e a suspensão foi centrifugada por 10 minutos, a 160 G sob refrigeração a 4 °C. O "pellet" foi corado com 200 L de laranja de acridina (concentração 14,4 mg/mL) por 1 minuto e a seguir foi ressuspendida em meio 199, centrifugado e lavado com PBS mais uma vez. A seguir foram montadas lâminas e contadas às células em microscópio de fluorescência (Nikon-Eclipse E200).

Para a definição do índice de fagocitose foram contadas 100 células com presença ou ausência de bactérias intracelular. Foi considerado fagocitose positiva somente as células que apresentaram pelo menos 3 bactérias internalizadas (Honorio-França, 1997).

SOD (Enzima superóxido dismutase (Cu-Zn-SOD))

O método de determinação da SOD compõe-se na ação da enzima catalisar por meio de transformação o peróxido de hidrogênio e o superóxido de oxigênio. A enzima SOD presente na amostra inibe a redução do azul de nitrotetrazólio (NBT) pelo ânion superóxido. O ânion superóxido é gerado a partir da autooxidação da hidroxilamina em pH alcalino.

A atividade enzimática da Cu-Zn SOD foi realizada com as amostras de sangue periférico, as quais foram pipetados 0,5 mL de cada amostra e colocados em tubos de ensaio

(vidro), conforme protocolos produzidos no laboratório. Foi incorporado 0,5 mL de mistura clorofórmio-etanol (1:1), 0,5 mL da mistura reativa de NBT em conjunto com ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (1:1.5) e 2,0mL de tampão carbonato com hidroxilamina, perfazendo ao final uma solução com volume de 3,5 mL. A mistura reativa foi utilizada como branco para calibrar o aparelho e para a análise do padrão foram utilizados 0,5mL de mistura hidro-alcoólica (1:4), 0,5mL de mistura clorofórmio-etanol (1:1), 0,5mL da mistura reativa de NBT e EDTA (1:1.5) e 2,0mL de tampão carbonato com hidroxilamina.

Todas as amostras foram incubadas em temperatura laboratorial por 15 minutos e após esse período a reação foi paralisada em gelo. A quantidade de enzima foi determinada a partir da seguinte fórmula:

$$\text{SOD} = \frac{(\text{Ab. Padrão} - \text{Ab. Amostra})}{\text{Ab. Padrão}} \times 100 = \% \text{ de redução do NBT SOD.}$$
 O resultado foi expresso unidades internacionais (UI) de SOD (Novelli et al. 1993).

Análises estatísticas

Para análise estatística foram realizadas testes de Análise de Variância (ANOVA), seguidos de pós-testes de comparações múltiplas de Tukey pelo software Biostat 5.0. As estatísticas foram consideráveis quando os valores de p foram menores que 0,05. Foram também avaliadas relações seguindo os testes de correlação de Pearson e Spearman.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

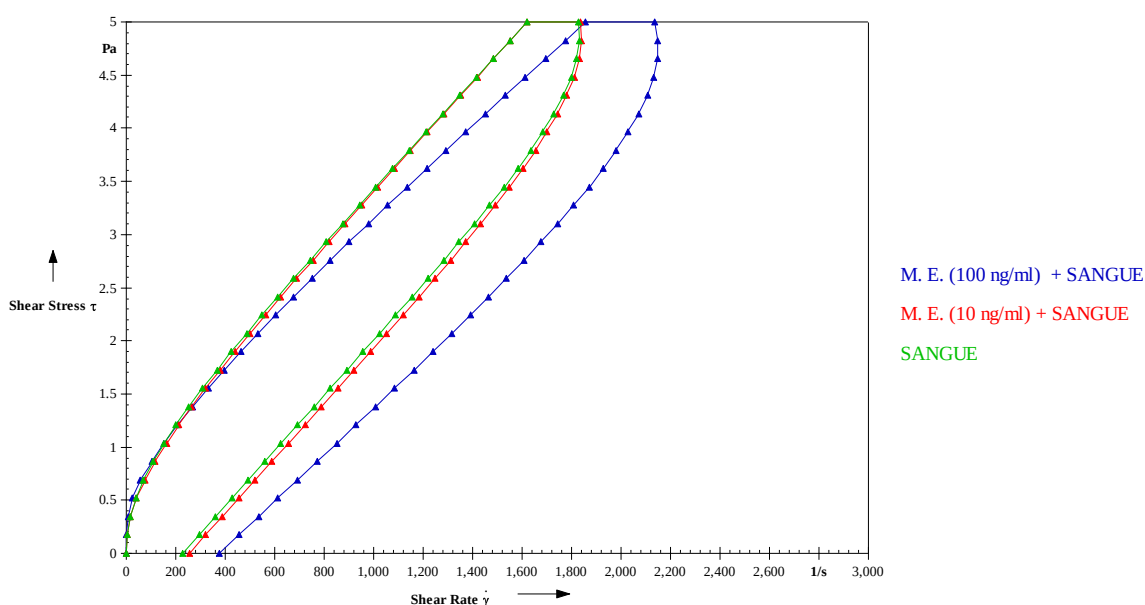
Os vegetais representam as maiores fontes de substâncias ativas podendo ser utilizada na terapêutica, devido à grande diversidade estrutural de metabólitos produzidos, são considerados a fonte mais antiga de medicamentos para o homem (Forman et al., 2011).

Entre as numerosas propriedades das plantas medicinais, destaca-se a capacidade de modulação destes fitoterápicos sobre o sistema imunológico (Asgary et al., 2008; Honório-França et al., 2008).

Estudos têm revelado que características reológicas durante as interações de plantas e sangue humano são importantes, sendo uma estratégia para avaliar a biocompatibilidade e efeitos benéficos como fonte de tratamento (Ribeiro et al., 2018).

A reologia, a sua quantificação se dá pela medida da tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento, sendo a representação gráfica da tensão versus taxa de cisalhamento (Alves, 2006).

Neste trabalho se observou que o sangue na presença extrato de *Dillenia indica*, independente da concentração, não alterou o comportamento do sangue, permanecendo um fluido não newtoniano (Figura 1).



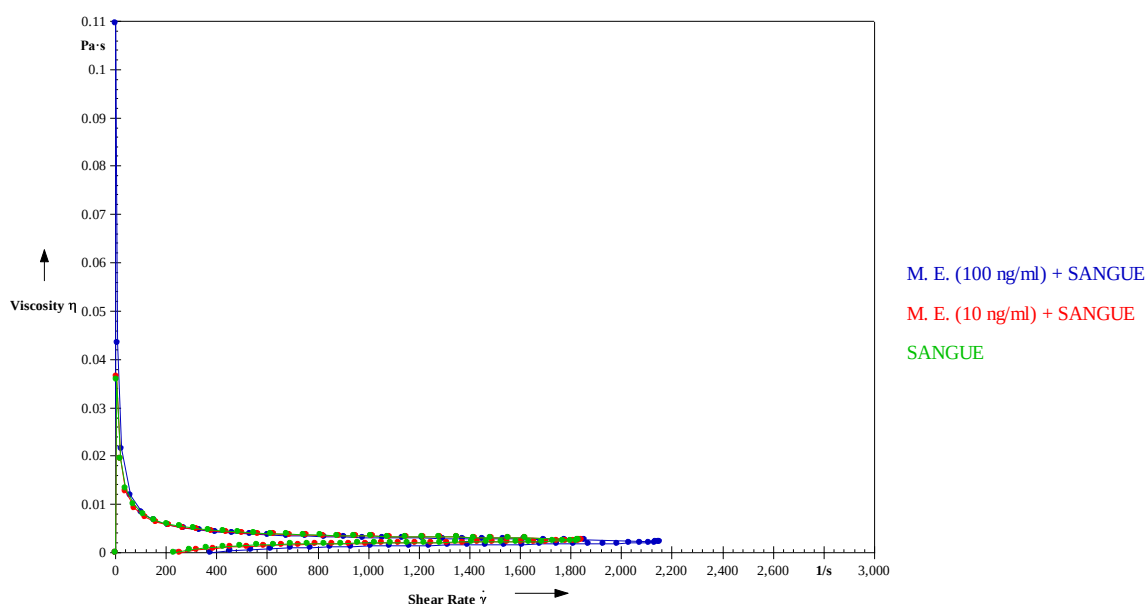
M.E. = Maça Elefante

Figura 1. curvas de fluxo dos grupos analisados sangue na presença do extrato as concentrações de 10 ng/ml e 100 ng/ml e o sangue sem estímulo como controle Pa= Pascal, Shear Stress= Tensão de cisalhamento, Shear Rate = Taxa de cisalhamento.

Segundo o comportamento reológico assumido pelos sistemas em estudos os fluxos podem ser newtonianos ou não newtonianos (Alves, 2006). O sangue é determinado como um fluido não newtoniano (Baskurt, 2003).

A integridade estrutural e a não deformação das células é relevante durante o fluxo sanguíneo em relação às taxas de viscosidade. A deformação celular sanguínea é um fenômeno complicado, o qual consiste de inúmeras propriedades celulares, inclusive propriedades da membrana celular (Mohandas e Chasis, 1993).

Neste estudo, quando se avaliou a viscosidade do sangue periférico na presença do extrato de *Dillenia indica* (100 ng/ml) observou que houve aumento da viscosidade, não houve diferença na viscosidade quando o sangue foi incubado com o extrato da fruta na concentração de (10 ng/ml) resultado similar foi observado em trabalho recente de Possamai e colaboradores (2020), onde foi relatado que a viscosidade do sangue não foi alterada com a presença das Bryophytas spp, ou seja, plantas medicinais não afetaram a viscosidade sanguínea.

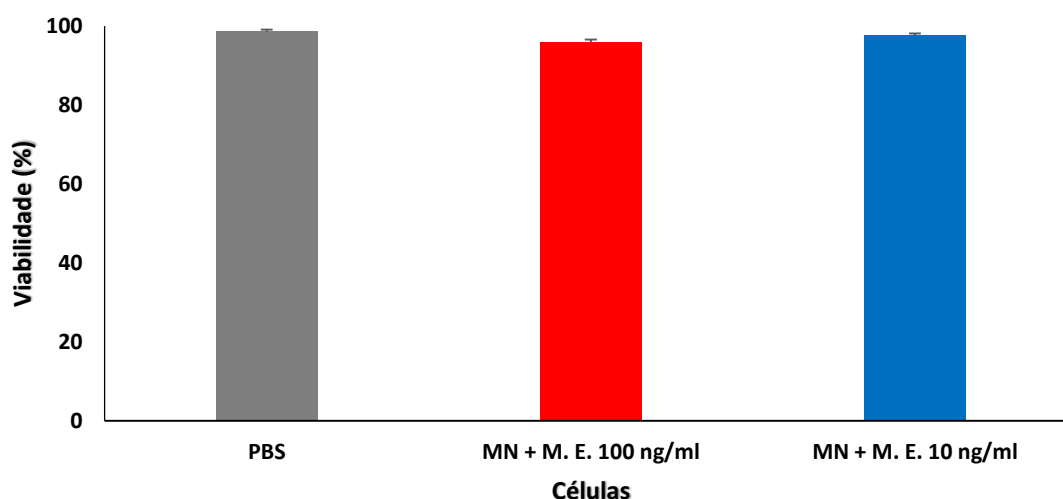


M.E. = Maça Elefante

Figura 2. A viscosidade do sangue nas concentrações de (100 ng/ml) e (10 ng/ml) de extrato.

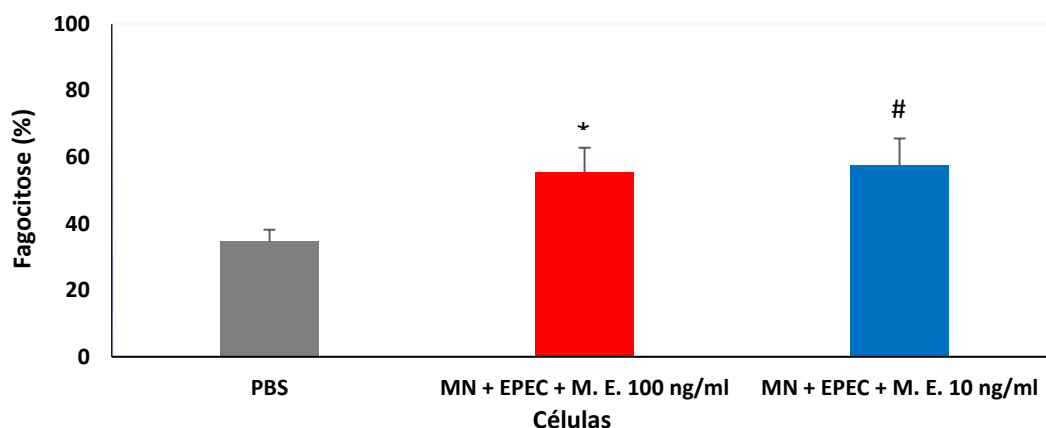
Diversos componentes derivados de plantas medicinais foram testados em células do sangue. Correlacionando a viabilidade celular com a atividade funcional (Reinaque et al., 2012; Côrtes et al., 2013).

Neste estudo foi observado que as células mononucleares do sangue após sua incubação com o extrato de *Dillenia indica* nas concentrações de 10 ng/ml e 100 ng/ml apresentaram viabilidade celular acima de 95%, demonstrando que o extrato não causa danos ao DNA e o RNA, e, portanto, não houve lesão celular diretamente. Pessoa et al., (2015) também relatou o baixa citotoxicidade de células fagocíticas na presença do extrato de babaçu, o que corrobora com os dados do presente estudo.



PBS= Phosphatase Buffered Saline
MN. = Células Mononucleares
M. E. = Maça de Elefante

Figura 3. Índice de Viabilidade Celular (%) das células fagocíticas do sangue periférico incubados com extrato da fruta *Dillenia indica* nas duas concentrações de (100 ng/ml) e (10 ng/ml)



Os dados representam a média $\pm$ o desvio padrão (ANOVA $p < 0,05$)

*O resulta apresenta uma diferença estatística significativa entre o grupo experimental comparado com o grupo controle.

O resulta apresenta uma diferença estatística significativa entre o grupo experimental comparado com o grupo controle.

MN. = Células mononucleares

M. E. = Maça de Elefante

EPEC = Escherichia coli enteropatogenica

Figura 4. Índice de fagocitose (%) das bactérias E. coli enteropatogênicas pelas células fagocíticas do sangue periférico incubadas com extrato de *Dillenia indica* nas diluições de microlitros e nanolitros. * $P < 0.05$

Imunomodulação é um procedimento que interfere nas funções do organismo, alterando o sistema imunológico que pode ser estimulado ou suprimido. (Makare et al., 2001). Neste trabalho avaliando a fagocitose se observou- se, que independente de concentração, o extrato da fruta aumentou no índice de fagocitose. Estes dados sugerem que o extrato de *Dillenia indica* é capaz de estimular a atividade fagocítica em células mononucleares, em concordância com Beltrán e colaboradores (2018) que apresentaram maior fagocitose em leucócitos mediante estímulo do extrato de *Origanum vulgare*.

GRUPOS	MÉDIA ± DISVIO PADRÃO	VALOR DE p
MN	31,74 ± 8,5	> 0,05
MN+M.E (100 ng/ml)	30,26 ± 12,8	
MN	31,74 ± 8,5	> 0,05
MN+M.E (10 ng/ml)	29,10 ± 12,4	
EPEC	31,54 ± 8,2	< 0,05
EPEC+ M.E (100 ng/ml)	19,95 ± 4,7	
EPEC	31,54 ± 8,2	< 0,05
EPEC+M.E (10 ng/ml)	18,75 ± 5,7	
MN+EPEC	31,24 ± 5,0	0,05 < p < 0,10
MN+EPEC+M.E (100 ng/ml)	20,69 ± 8,2	
MN+EPEC	31,24 ± 5,0	>0,05
MN+EPEC+M.E (10 ng/ml)	25,23 ± 9,5	

MN. = Células mononucleares

M. E. = Maça de Elefante

EPEC = Escherichia coli enteropatogenica

Tabela 1. Concentração de enzima superóxido dismutase (Cu-Zn-SOD) no sobrenadante de células mononucleares do sangue periférico tratadas pelo extrato de *Dillenia indica* e incubadas com EPEC.

Um produto importante para avaliar o mecanismo de oxidação é a quantificação de CuZn-SOD que converte ânions superóxido a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) detectáveis tanto no interior das bactérias quanto no meio de suspensão (Ferreira e Matsubara, 1997., Schneider e Oliveira, 2004). Neste trabalho o extrato de *Dillenia*, independente da concentração, não interferiu na produção de SOD no sobrenadante de células do sangue. Quando estas células foram incubadas com a bactéria (EPEC) e tratadas pelo o extrato na concentração de (100 ng/ml) observou tendência de redução concentração de SOD, entretanto mais estudos devem ser realizados para comprovar. Não houve diferenças na concentração de SOD no sobrenadante de células tratados pelo extrato na concentração de (10 ng/ml).

GRUPOS	SOD/REOLOGIA	
	Valor- r	Valor-p
Cel.	-0,1892	0,3167
M.E (100 ng/ml)+ Cel.	-0,3471	0,0601
M.E (10 ng/ml) + Cel.	0,123	0,5172

Cel = células

M. E. = Maça de Elefante

Tabela 2. Correlação da enzima superóxido dismutase (Cu-Zn-SOD) com a viscosidade sanguínea.

O coeficiente de correlação de Pearson mede o grau de correlação entre duas variáveis, analisando a afinidade das mesmas, os valores mais próximos de 1 ou -1 são consideráveis uma correlação forte onde 1 ilustra uma correlação positiva e -1 uma correlação negativa. Os valores que apresenta mais próximo de 0 indica que as duas variáveis não dependem linearmente uma da outra. A tabela 2 apresenta os resultados de correlação entre as células do sangue periférico tratados com o extrato do fruto de *Dillenia indica* e a viscosidade sanguínea. Independente da concentração, não houve correlação entre as variáveis estudadas.

4- Conclusão

Conclui-se que o extrato da fruta de *Dillenia indica* não apresentou alteração na curva de fluxo, assim não modifica as características sanguíneas. Em relação a viscosidade, na concentração de (100 ng/ml) observou que houve um aumento da viscosidade sanguínea e na concentração de (10 ng/ml) não houve alteração.

A viabilidade celular na presença do extrato da fruta foi superior a 95%. O tratamento das células MN do sangue também aumentou no índice de fagocitose.

O sobrenadante de células não apresentou alterações na produção de enzima superóxido dismutase na presença do extrato em ambas as concentrações. Houve redução na concentração de SOD no sobrenadante de cultura de células do sangue e extrato na concentração em 100 ng/ml incubados com células.

Estes dados sugerem que o extrato de *Dillenia indica* foi capaz de modular a atividade funcional de células sanguíneas, em especial quando em presença de EPEC.

5- REFERÊNCIAS

ABDILLE, M. H. et al. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chemistry**, v.90, n.4, p.891-896, 2005.

ABDULLAHI, U.; UMAR, A. A.; INUWA, J. M. Prevalence of Enteropathogenic *Escherichia coli* in Children under 5 Years with Diarrhoea in Yola. **Microbiology Research Journal International**, v.4, n.24, p.1-15, 2018.

ALVES, M. P. **Formas farmacêuticas plásticas contendo nanocápsulas, nanoesferas enanoemulsões de nimesulida: desenvolvimento caracterização e avaliação da permeação cutânea in vitro**. 2006. 183p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

BARCIA, M.T. et al. Effect of drying methods on the phenolic content and antioxidant capacity of Brazilian winemaking by products and their stability over storage. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.66, n.8, p.895 -903, 2015.

BAŞKURT, O. K. Pathophysiological significance of blood rheology. **Turkish Journal of Medical Sciences**, v.33, n.6, p.347-355, 2003.

BELLINATI-PIRES, R. et al. Evaluation of a fluorochrome assay for assessing the bactericidal activity of neutrophils in human phagocyte dysfunctions. **Journal of Immunological Methods**, v.119, n.2, p.189-196, 1989.

BELTRÁN, J. M. G. et al. In vitro effects of *Origanum vulgare* leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes, cytotoxic, bactericidal and antioxidant activities. **Fish & Shellfish Immunology**, v.79, p.1-10, 2018.

CÔRTEZ, M. A. et al. Imunomodulação de fagócitos do sangue humano pelo extrato de *Strychnos pseudoquina* ST. **HILL adsorvido em microesferas de Polietilenoglicol. Polímeros**, v.23, n.3, p.402-409, 2013.

CROXEN, M. A. et al. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v.26, n.4, p.822-880, 2013.

DEEPA, N.; JENA, B. S. Antioxidant fraction from bark of *Dillenia indica*. **International Journal of Food Properties**, v.14, n.5, p.1152-1159, 2011.

DUBEY, P. C. et al. Ethnobotany of *Dillenia pentagyna* Roxb. in Vindhya region of Madhya Pradesh. **Natural Product Radiance**, v.8, n.5, p.546-548, 2009.

FRANÇA, E. L. et al. Chronoimmunomodulation of melatonin on bactericidal activity of human blood phagocytes. **International Journal Microbiology**, v.6, p.1-13, 2009.

FRANÇA, E. L. et al. Immunomodulatory effects of herbal plants plus melatonin on human blood phagocytes. **International Journal of Phytomedicine**, v.2, n.4, p.354-362, 2010.

FRANÇA, E. L. et al. Human colostral phagocytes eliminate enterotoxigenic *Escherichia coli* opsonized by colostrum supernatant. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**. v.4, n.1, p.1-7, 2011.

FRANÇA, E. L. et al. Efeito do composto "mais vida" na ativação de macrófagos de ratos diabéticos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.1, p.1-7, 2012.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARRA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.43, n.1, p.61-68, 1997.

FRESTER, J. H. Electron microscopic localization of acridine orange binding to DNA within human leukemic bone marrow cells. **Cancer research**, v.21, n.8, p.1128-1133, 1971.

HONORIO-FRANÇA, A. C. et al. Colostral mononuclear phagocytes are able to kill enteropathogenic *Escherichia coli* opsonized with colostral IgA. **Scandinavian Journal of Immunology**, v.46, n.1, p.59-66, 1997.

HONORIO-FRANÇA, A. C. et al. Colostral neutrophils express Fc α receptors (CD89) lacking γ chain association and mediate noninflammatory properties of secretory IgA. **Journal of leukocyte biology**, v.69, n.2, p.289-296, 2001.

HONORIO-FRANÇA, A. C. et al. Evaluation of hypoglycemic activity and healing of extract from amongst bark of "Quina do Cerrado" (*Strychnos pseudoquina* ST. HILL). **Acta Cirurgica Brasileira**, v.23, n.6, p.504-510, 2008.

KOOLEN, H. H. F. et al. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v.51, n.2, p.467-473, 2013.

KOSEK, M.; BERN, C.; GUERRANY, R. L. A carga global de doenças diarréicas, estimada em estudos publicados entre 1992 e 2000. **Boletim da organização mundial de saúde**, v.81, p.197-204, 2003.

LÓPEZ, A. et al. Chemical composition and antioxidant capacity of lettuce: Comparative study of regular-sized (Romaine) and baby-sized (Little Gem and Mini Romaine) types. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.33, v.1, p. 39-48, 2014.

MAKARE, N.; BODHANKAR, S.; RANGARI, V. Atividade imunomoduladora do extrato alcoólico de *Mangifera indica* L. em camundongos. **Journal of ethnopharmacology**, v.78, n.2, p.133-137, 2001.

MCFETERS, G. A. et al. Reação de coloração com laranja de acridina como índice de atividade fisiológica em *Escherichia coli*. **Journal of microbiological methods**, v.13, n.2, p.87-97, 1991.

MOHANDAS, N. A. R. L. A.; CHASIS, J. A. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. **Seminars in hematology**, v.30, n.3, p.171-192, 1993.

MOURA, M. R. S. D et al. Frequência de *Escherichia coli* e sua sensibilidade aos antimicrobianos em menores de cinco anos hospitalizados por diarreia aguda. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v.12, n.2, p.173-182, 2012.

NAYAK, P. K.; RAYAGURU, K.; MISHRA, B. K. Study of physical parameters of elephant apple fruit (*Dillenia Indica*): an underutilized fruit of North-Eastern India. **International Journal of Engineering Research & Technology**, v.5, n.1, p.532-535, 2016.

NOVELLI, E. L.; RODRIGUES, N. L.; RIBAS, B. O. Protective effect of nickel chloride on superoxide damage: enhancement of CuZn superoxide dismutase affinity to the oxygen free radical. **Boletim de estudos medicos y biologicos**, v.41, n.4, p.28-32, 1993.

PARVIN, M. N. et al. Chemical and biological investigations of *Dillenia indica* Linn. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v.4, n.2, p.122-125, 2009.

PESSOA, R. S. et al. Microemulsion of babassu oil as a natural product to improve human immune system function. **Drug design, development and therapy**, v.9, p.21-31, 2015.

POSSAMAI, M. M. et al. Brazilian propolis: a natural product that improved the fungicidal activity by blood phagocytes. **BioMed research international**, p.1-9, 2020.

PRADHAN, B. K.; BADOLA, H. K. Ethnomedicinal plant use by Lepcha tribe of Dzongu valley, bordering Khangchendzonga Biosphere Reserve, in north Sikkim, India. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.4, n.1, 2008.

REINAQUE, A P. B. et al. Natural material adsorbed onto a polymer to enhance immune function. *Drug Design*, **Development and Therapy**, v.6, p.209-216, 2012.

REYNERTSON, K. A. et al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food chemistry**, v.109, n.4, p.883-890, 2008.

RIBEIRO, A. L. et al. Herbal mixture adsorbed to polyethylene glycol microspheres induces apoptotic effects on breast cancer cells. **Current drug delivery**, v. 15, n. 2, p.227-234, 2018.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; ROCA, M. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from .**The Brazilian Amazon. Grasas y Aceites**, v. 66, n. 3, p. 086, 2015.

SCHNEIDER, C. D, OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. v.10, n.4, p.308-313, 2004.

SMITH e ROMMEL. A rapid micro method for the simultaneous determination of phagocytic-microbiocidal activity of human peripheral blood leukocytes in vitro. **Journal of immunological methods**, v. 17, n. 3-4, p. 241-247, 1977.

YESHWANTE et al. Anti-inflammatory activity of methanolic extracts of Dillenia indica. **Journal of young Pharmacists**, v. 01, n.01, p. 63-66, 2009.