



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE NUTRIÇÃO
LABORATÓRIO MULTIUSUÁRIO DE BIOQUÍMICA
NUTRICIONAL E BIOLOGIA MOLECULAR



JÚLIA ALBUQUERQUE LELIS

**RESPOSTA INFLAMATÓRIA DO DUODENO E ÍLEO EM CAMUNDONGOS
BALB/C COM MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL E
TRATADOS COM AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Martius)**

OURO PRETO - MG

2022

JÚLIA ALBUQUERQUE LELIS

**RESPOSTA INFLAMATÓRIA DO DUODENO E ÍLEO EM CAMUNDONGOS
BALB/C COM MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL E
TRATADOS COM AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Martius)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Nutrição
da Universidade Federal de Ouro Preto, como
parte integrante dos requisitos para finalização
da graduação sob a orientação da prof.^a Dr.^a
Joana Ferreira do Amaral.

OURO PRETO - MG

2022



Ata da Defesa do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado:

**“RESPOSTA INFLAMATÓRIA DO DUODENO E ÍLEO EM
CAMUNDONGOS BALB/C COM MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA
POR 5-FLUOROURACIL E TRATADOS COM AÇAÍ (*Euterpe oleracea
Martius*)”.**

Aos quatorze dias do mês de janeiro de 2022, remotamente (on-line) pelo aplicativo Google Meet no link: <https://meet.google.com/vfh-vmx-wtc>, para a Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, reuniu-se a Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão de Curso da estudante **Júlia Albuquerque Lelis** orientada pela Prof^a. Joana Ferreira do Amaral. A defesa iniciou-se pela apresentação oral feita pela estudante, seguida da arguição pelos membros da banca. Ao final, os membros da banca examinadora reuniram-se e decidiram por aprovar a estudante.

Membros da Banca Examinadora:

Joana Ferreira do Amaral
Amaral
Joana Ferreira do Amaral
Ouro Preto
2022.01.18 12:59:57-03'00"
Prof. Joana Ferreira do Amaral
Presidente (DENCS/ENUT/UFOP)

Prof. Melina Oliveira de Souza
Examinadora (DEALI/ENUT/UFOP)

Mestranda Ana Flávia Martins
Examinadora (PPGSN/ENUT/UFOP)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e alcançar este sonho.

A toda minha família pela torcida, orações e apoio em todos os momentos desta jornada. Em especial minha mãe, meu porto seguro, que sempre esteve ao meu lado, comemorando as conquistas e me amparando nos momentos difíceis. Sem ela nada disso seria possível! Ao meu irmão, por não medir esforços em me ajudar sempre que precisei. E ao meu namorado, por estar ao meu lado desde o início desta caminhada.

Agradeço à minha orientadora Joana, por todo acolhimento, ensinamento e dedicação prestada para o desenvolvimento deste trabalho.

Às professoras participantes da banca examinadora pelo tempo e pelas valiosas colaborações e sugestões.

Agradeço a ENUT e todos seus servidores, por me oferecer esse espaço tão acolhedor e permitir a realização desse sonho.

Aos meus amigos, por todo o apoio, incentivo e por sempre acreditarem em mim.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, muito obrigada.

RESUMO

A mucosite intestinal (MI) causada pelas terapias anticâncer, caracteriza-se por um processo inflamatório da mucosa e pode ocorrer entre 50% e 80% dos pacientes oncológicos tratados com 5-Fluorouracil (5-FU), quimioterápico comumente utilizado. Apesar da elevada incidência entre os pacientes, não existem terapêuticas aprovadas para a prevenção e/ou cura da MI. Diversos estudos têm demonstrado capacidade antioxidante e anti-inflamatória do açaí (*Euterpe oleracea* Martius), fruto rico em compostos fenólicos, sendo o principal, as antocianinas e cada vez mais consumido pela população mundial. Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da dieta suplementada com polpa de açaí 2% sobre a quantificação da Interleucina-10 (IL-10) de camundongos portadores de MI induzida por 5-FU. Camundongos fêmeas da linhagem BALB/c foram divididos em quatro grupos experimentais: Controle (C): recebeu dieta controle AIN-93M e não foi induzida mucosite; Açaí (AÇ): recebeu dieta suplementada com polpa de açaí 2% e não foi induzida mucosite; Mucosite (M): recebeu dieta controle e foi induzida mucosite por 5-FU; Açaí + Mucosite (AÇM): recebeu dieta suplementada com polpa de açaí 2% e foi induzida mucosite. Foram inseridas as respectivas dietas por um período de quatorze dias consecutivos. No décimo quinto dia foi realizada a indução da MI nos grupos M e AÇM. Os grupos C e AÇ receberam injeção intraperitoneal (ip) de tampão fosfatossalino (PBS - Phosphate-Buffered Saline) estéril. Executou-se a eutanásia três (D3) e sete (D7) dias após a indução da mucosite, e, em seguida, foi dissecado o duodeno e íleo. A quantificação da concentração IL-10 nos tecidos coletados dos animais foi realizada por meio do ensaio imunoenzimático do tipo ELISA. Observou-se que a concentração de IL-10 foi negativa em todos os grupos, ou seja, as concentrações estão abaixo do nível de sensibilidade do teste e isso indica que a quantidade de IL-10 no duodeno e íleo é pouco significativa. Além disso, o consumo de açaí, não demonstrou um aumento na produção de IL-10. O sistema imune é muito complexo e integrativo, e, por isso, não se pode limitar a observação de um fenômeno como a inflamação pela perspectiva de apenas um mediador inflamatório. É necessário a realização de mais estudos que melhor esclareçam as vias de atuação do açaí no possível efeito anti-inflamatório na MI experimental, possibilitando sua utilização como estratégia dietética preventiva e/ou terapêutica para a doença.

Palavras-chave: Mucosite, 5-Fluorouracil, Citocinas, Camundongos, Açaí.

ABSTRACT

Intestinal mucositis (IM) caused by anticancer therapies is characterized by an inflammatory process of the mucosa and can occur in 50% to 80% of patients with cancer treated with 5-Fluorouracil (5-FU), a commonly used chemotherapy. Despite the high incidence among patients, there aren't approved therapies for the prevention and/or cure of IM. Several studies have demonstrated the antioxidant and anti-inflammatory capacity of açai (*Euterpe oleracea* Martius), a fruit rich in phenolic compounds, being the main, the anthocyanins and increasingly consumed by the world population. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of the diet supplemented with 2% açai pulp on the quantifying of Interleukin-10 (IL-10) in mice bearing 5-FU induced IM. Female BALB/c mice were divided into four experimental groups: Control (C): received a control diet AIN-93M and no mucositis was induced; Açai (AÇ): received a supplemented diet with pulp of açai 2% and no mucositis was induced; Mucositis (M): received a control diet and mucositis was induced by 5-FU; Açai + Mucositis (AÇM): received a supplemented diet with pulp of açai 2% and mucositis was induced. The respective diets were entered for a period of fourteen consecutive days. On the fifteenth day, IM induction was performed in groups M and AÇM. Groups C and AÇ received an intraperitoneal (ip) injection of PBS (Phosphate-Buffered Saline). Euthanasia was performed three (D3) and seven (D7) days after mucositis induction, and then the duodenum and ileum were dissected. The quantification of the IL-10 concentration in the tissues collected from the animals was performed using an enzyme-linked immunosorbent assay of the ELISA type. It was observed that the concentration of IL-10 was negative in all groups, that is, the concentrations are below the sensitivity level of the test, and this indicates that the amount of IL-10 in the duodenum and ileum isn't very significant. Furthermore, the consumption of açai didn't show an increase in the production of IL-10. The immune system is very complex and integrative, and, therefore, it cannot limit the observation of a phenomenon such as an inflammation from the perspective of just one inflammatory mediator. It's necessary to carry out more studies to better clarify the ways in which açai acts in the possible anti-inflammatory effect in experimental IM, enabling its use as a preventive and/or therapeutic dietary strategy for the disease.

Keywords: Mucositis, 5-fluorouracil, Cytokines, Mice, Açai.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura química do 5-FU.....	13
Figura 2 – Mecanismo de ação do 5-FU.....	14
Figura 3 – Organização das camadas intestinais: mucosa, submucosa, muscular e serosa.....	16
Figura 4 – Fases de desenvolvimento da MI: iniciação, resposta a danos primários, amplificação dos sinais, ulceração e cicatrização e suas principais características.....	18
Figura 5 – Açazeiro do <i>Euterpe oleracea</i> Martius.	19
Figura 6 – Desenho esquemático do delineamento experimental.	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição das dietas experimentais AIN-93M padrão e contendo açaf.	24
Tabela 2 – Concentração de IL-10 no duodeno 3° dia.	29
Tabela 3 – Concentração de IL-10 no duodeno 7° dia.	29
Tabela 4 – Concentração de IL-10 no íleo 3° dia.	30
Tabela 5 – Concentração de IL-10 no íleo 7° dia.	30

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

5-FU – 5-Fluorouracil

CCA – Centro de Ciência Animal

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

DNA – (Deoxyribonucleic Acid) Ácido desoxirribonucleico

DHFU – Dihidrofluorouracil

DPD – Diidropirimidina Desidrogenase

ERO – Espécies Reativas de Oxigênio

FdUMP – Fluorodeoxiuridina Monofosfato

FdUTP – Fluorodeoxiuridina Trifosfato

FUTP – Fluorouridina Trifosfato

IL – Interleucinas

IL-10 – Interleucina 10

INF- γ – Interferon- γ

MI – Mucosite Intestinal

NF κ B – Fator nuclear Kappa B

OMS – Organização Mundial da Saúde

RNA – (Ribonucleic Acid) Ácido Ribonucleico

TNF – Fator de Necrose Tumoral

TRX – Troxerrutina

TS – Timidilato Sintase

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	10
2.	REVISÃO DA LITERATURA.....	12
2.1.	Câncer e tratamento.....	12
2.2.	5-Fluorouracil (5-FU).....	13
2.3.	Intestino delgado	15
2.4.	Mucosite intestinal	16
2.5.	Açaí (<i>Euterpe oleracea</i> Martius).....	18
2.6.	Flavonoides	20
3.	JUSTIFICATIVA	22
4.	OBJETIVOS.....	23
4.1.	Objetivo Geral.....	23
4.2.	Objetivos Específicos.....	23
5.	METODOLOGIA.....	24
5.1.	Animais e dieta experimental.....	24
5.2.	Delineamento experimental.....	24
5.3.	Eutanásia e coleta de material biológico.....	25
5.4.	Preparo dos tecidos.....	27
5.5.	Interleucina-10	27
6.	RESULTADOS	29
6.1.	Duodeno	29
6.2.	Íleo.....	30
7.	DISCUSSÃO.....	31
8.	CONCLUSÃO.....	33
	REFERÊNCIAS	34

ANEXO	38
APÊNDICE	39

1. INTRODUÇÃO

O câncer, considerado nas últimas décadas um problema de saúde pública mundial, compreende mais de 100 diferentes tipos de doenças malignas que têm em comum o crescimento descontrolado de células e, a capacidade de invadir e sofrer metástase, ou seja, disseminar-se para outras partes do corpo (INCA, 2021). Trata-se de uma das principais causas de morbidade e mortalidade, capaz de atingir todas as faixas etárias (WHO, 2018). Em 2020, de acordo com estimativas epidemiológicas do Instituto Nacional de Câncer (INCA), o câncer acometeu mais de 600 mil pessoas no Brasil. Atualmente, os tratamentos disponíveis incluem cirurgia, radioterapia, quimioterapia, transplante de medula óssea e, em muitos casos, é necessário a associação de mais de um tratamento (INCA, 2021).

A quimioterapia, tratamento comumente utilizado na prática clínica, se baseia na utilização de substâncias citotóxicas, administradas, principalmente, por via intravenosa e que tem como principal objetivo desencadear o controle e a eliminação do tumor maligno. Dentre os agentes quimioterápicos disponíveis na terapêutica do câncer, o 5-Fluorouracil (5-FU), é considerado o mais utilizado no mundo (WILHELM et al., 2016). Porém, pacientes submetidos a esse quimioterápico podem apresentar reações adversas tais como: leucopenia, mucosite, estomatite, náusea, diarreia, vômito (MENDES, 2019).

Outro quimioterápico utilizado para o tratamento do câncer é o irinotecano. Na década de 90, os oncologistas começaram a incorporar essa nova droga que demonstrava ter uma boa atividade contra o câncer de pulmão, colo de útero e ovário. O irinotecano, em combinação com o 5-FU é, atualmente, a primeira linha de tratamento para o câncer de cólon e reto (FERNANDES, 2017). Entretanto, a mucosite gastrointestinal e diarreia estão entre os efeitos colaterais mais comuns relacionados ao irinotecano (RIBEIRO et al., 2016).

Nesse contexto, o uso de 5-FU e irinotecano potencializa o risco de eventos adversos de grande repercussão clínica. A mucosite intestinal, caracterizada por uma inflamação na mucosa do intestino, é uma das principais complicações que acomete mais de 50% dos pacientes submetidos à quimioterapia com 5-FU (TANG et al., 2017). Essa doença afeta a qualidade de vida e o estado nutricional dos pacientes, pois resulta em ulceração, sangramento, inchaço abdominal, vômitos, diarreia e desidratação (KIM et al., 2015). Assim, muitas vezes, é necessário a interrupção do tratamento ou redução da dose do quimioterápico.

A destruição celular gastrointestinal observada na mucosite, é resultado de eventos

inflamatórios (MENDES, 2019). A inflamação é um processo fisiológico que envolve uma ação coordenada entre o sistema imunológico e o tecido no qual ocorreu a lesão (REINALDO, 2015). A resposta inflamatória é caracterizada por recrutar leucócitos e coordenar a ativação de várias vias de sinalização que regulam a expressão de mediadores pró e anti-inflamatórios em células presentes no tecido. Os principais mediadores inflamatórios envolvidos na sinalização da inflamação são as Interleucinas (IL) e o TNF (fator de necrose tumoral) (REINALDO, 2015). Além da expressão aumentada de mediadores inflamatórios, a produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio (ERO), apoptose e hipoproliferação celular (nas fases iniciais) potencializam a inflamação local (MAGALHÃES, 2018).

A mucosite é um agravo clínico grave, e apesar da elevada incidência entre os pacientes submetidos ao uso de quimioterápicos, não existem terapêuticas eficazes para a prevenção e/ou cura da mucosite. O tratamento, dependerá do seu grau de gravidade, objetivando apenas o alívio dos sintomas, como dor e diarreia, por exemplo (ARAÚJO; BARROS, 2015). Sendo assim, substâncias de origem natural se destacam como alternativas terapêuticas, pois podem causar menos efeitos colaterais ou tóxicos (MIRANDA, 2019).

O açaí (*Euterpe oleracea* Martius), é um fruto rico em compostos bioativos que apresenta alta capacidade antioxidante e propriedades anti-inflamatórias (MAGALHÃES, 2018). Por ser benéfico à saúde dos indivíduos, tem se tornado bastante conhecido nos últimos anos. Este efeito é atribuído à sua composição, principalmente pela presença de polifenóis, dentre eles as antocianinas e seu alto conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados e fibras (COUTINHO et al., 2017; PALA et al., 2018).

Os flavonoides representam uma classe de compostos fenólicos de origem natural que possuem diversas propriedades farmacológicas que os fazem atuar de forma benéfica no organismo humano. De acordo com Li e colaboradores (2020), os flavonoides possuem propriedades antioxidantes (SIAH, 2016), anti-inflamatórias (SERAFINI, 2010) e anticancerígenas (MANTHEY, 2002).

Dessa forma, o presente estudo, objetiva avaliar a resposta inflamatória do intestino, em especial, duodeno e íleo, na mucosite induzida por 5-Fluorouracil e analisar o efeito do açaí, alimento rico em flavonoides, como alternativa terapêutica.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Câncer e tratamento

O câncer é caracterizado por um conjunto de doenças malignas cuja principal característica é o crescimento desordenado de células. Com as rápidas divisões celulares, estas células podem se tornar agressivas e incontroláveis, sendo capazes de se espalhar e invadir tecidos e órgãos do corpo (metástase). Vários fatores de risco podem estar envolvidos na origem do câncer, como tabagismo, obesidade, uso abusivo do álcool, exposição à radiação, hábitos alimentares, estilo de vida, fatores genéticos, dentre outros (INCA, 2021).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer é uma das principais causas de morte em todo o mundo, sendo responsável por quase 10 milhões de mortes em 2020. Os cânceres com maior taxa de mortalidade são: pulmão (1,76 milhão de mortes), colorretal (862 mil mortes), estômago (783 mil mortes), fígado (782 mil mortes) e mama (627 mil mortes) (WHO, 2021).

Apesar de sua alta incidência e mortalidade, 30% e 50% dos casos podem ser prevenidos evitando fatores de risco. Além disso, muitos cânceres têm uma grande chance de cura se houver detecção precoce e tratamento adequado (OMS, 2021). Atualmente, os tratamentos disponíveis incluem cirurgia, radioterapia, quimioterapia, transplante de medula óssea e, em muitos casos, é necessário a associação de mais de um tratamento (INCA, 2021).

Em 2020, foram diagnosticadas mais de 600 mil pessoas com algum tipo de neoplasia no Brasil (INCA, 2021) e segundo a OMS, estima-se que em 2040, 998 mil brasileiros devem ser diagnosticados com essa doença. Dessa forma, à medida que cresce a incidência de câncer na população, também aumenta a busca de melhorias da qualidade de vida do paciente em tratamento.

A quimioterapia, tratamento comumente utilizado na prática clínica, consiste no uso de medicamentos que destroem as células cancerosas, de forma a inibir seu crescimento e evitar sua disseminação. Estes medicamentos são aplicados, em sua maioria, por via intravenosa podendo também ser administrados por via oral, intramuscular, subcutânea, intratecal e tópica (INCA, 2021).

A maioria dos quimioterápicos atuam de forma não específica, lesando tanto as células doentes, quanto as células saudáveis. No momento em que as células saudáveis são comprometidas surgem os efeitos colaterais, tais como: queda de cabelo, prisão de ventre, diarreia, feridas na boca, enjoo, vômito, hiperpigmentação, anemia, leucopenia e

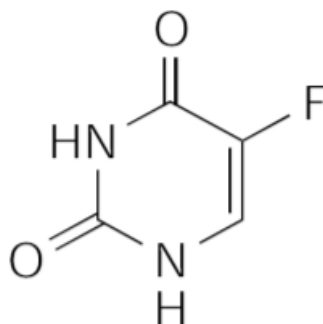
trombocitopenia (INCA, 2021). Entretanto, cada quimioterápico tem um perfil de toxicidade distinto, assim, os efeitos colaterais poderão ser mais ou menos intensos, a depender da droga utilizada e do estado clínico do paciente.

Dentre os agentes quimioterápicos disponíveis no tratamento do câncer, o 5-Fluorouracil (5-FU), é considerado o mais utilizado no mundo (WILHELM et al., 2016). Porém, é uma droga que causa importantes efeitos colaterais aos pacientes.

2.2. 5-Fluorouracil (5-FU)

Desenvolvido na década de 50, o quimioterápico 5-Fluorouracil (5-FU) é um composto aromático heterocíclico que possui uma estrutura semelhante à das moléculas de pirimidina de DNA e RNA (ZHANG et al., 2008). O 5-FU é um análogo da pirimidina uracila, que tem seu hidrogênio da posição cinco substituído por um átomo de flúor (Figura 1). Essa substituição inibe a conversão do nucleotídeo uracila em timina.

Figura 1 – Estrutura química do 5-FU.



Fonte: Longley, Harkin e Johnston (2003)

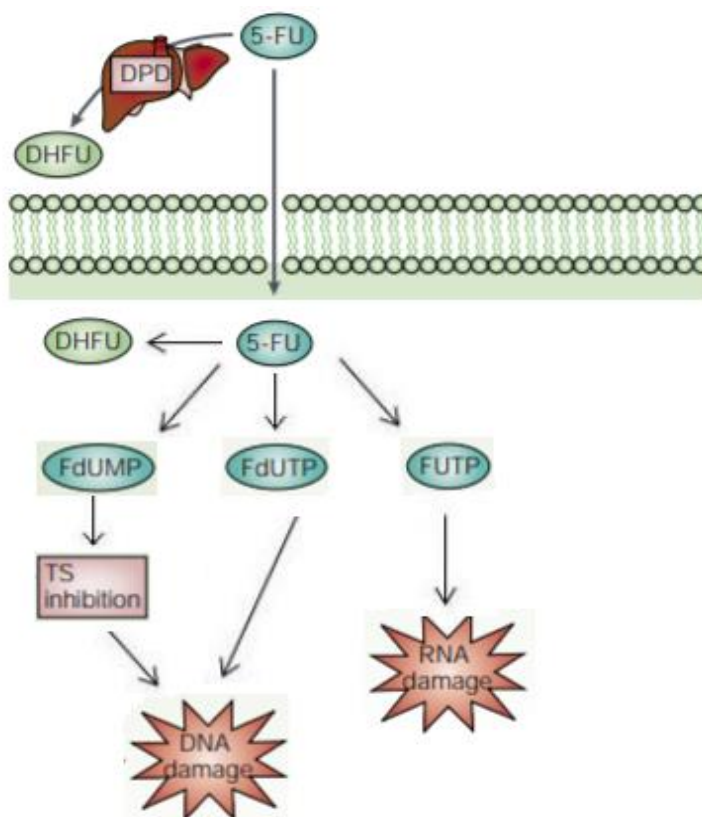
O 5-FU é um antimetabólito, ou seja, uma molécula com estrutura bioquímica similar a um metabólito necessário para as reações normais do organismo. Ele altera o metabolismo celular, inibindo moléculas de DNA e/ou RNA e, assim, impede a síntese e metabolismo de novas células (LONGLEY et al., 2003).

Mais de 80% do 5-FU administrado é, primeiramente, catabolizado no fígado, onde a enzima diidropirimidina desidrogenase (DPD) converte o 5-FU em dihidrofluorouracil (DHFU), um metabólito inativo. No interior da célula, 5-FU é convertido em três metabólitos ativos: fluorodesoxiuridina monofosfato (FdUMP), fluorodeoxiuridina trifosfato (FdUTP) e

fluorouridina trifosfato (FUTP) (Figura 2). O metabólito FdUMP se liga ao sítio ativo da enzima Timidilato Sintase (TS) impedindo a ligação do substrato normal e assim, inibe a formação do Timidilato. Com isso, ocorre a interrupção da síntese e/ou reparo do DNA, o que resulta em morte celular. O FdUTP é incorporado erroneamente ao DNA, levando à quebra da fita e resultando também em morte celular. Já o metabólito FUTP age sobre a síntese do RNA e interfere na função celular (LONGLEY et al., 2003).

Além disso, quando o 5-FU é administrado, ocorre o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), intensa infiltração de células inflamatórias e liberação de citocinas pró-inflamatórias (ARAÚJO et al., 2015), atenuando os danos causados por esse quimioterápico.

Figura 2 – Mecanismo de ação do 5-FU.



Fonte: Adaptado de Longley, Harkin e Johnston (2003)

80% do 5-FU é catabolizado no fígado, onde a enzima diidropirimidina desidrogenase (DPD) converte-o em dihidrofluorouracil (DHFU), um metabólito inativo. No interior da célula, é metabolizado e convertido em três principais metabólitos ativos: fluorodeoxiuridina monofosfato (FdUMP), fluorodeoxiuridina trifosfato (FdUTP) e fluorouridina trifosfato (FUTP). FdUMP se liga à enzima timidilato sintase (TS) e ocasiona desbalanço de nucleotídeos, inibindo, ao final do processo, a síntese de DNA, assim como o FdUTP, que é incorporado erroneamente ao DNA. Por outro lado, FUTP é incorporado ao RNA, o que ocasiona perda funcional e morte celular.

O 5-FU é considerado o quimioterápico mais utilizado no mundo para o tratamento de vários tipos de câncer (WILHELM et al., 2016), como câncer de mama, cabeça, pescoço, pâncreas, gastrointestinal, etc. Em combinação com o irinotecano é, atualmente, a primeira linha de tratamento para o câncer de cólon e reto (FERNANDES, 2017). Geralmente, é administrado pela via intravenosa (THOMAS; TOMEH; THEARD, 2015), porém, a depender do seu grau de gravidade e de sua localização, o 5-FU também pode ser administrado por outras vias.

A ação desse quimioterápico não se limita apenas às células cancerosas. Os efeitos colaterais são mais observados nas células normais de tecidos com alta taxa de renovação celular, e por isso, as células da medula óssea e do trato gastrointestinal são muito susceptíveis (GALDINO, 2017). Sendo assim, pacientes submetidos ao 5-FU podem apresentar reações adversas, tais como: trombocitopenia, leucopenia, mucosite intestinal, gastrite, estomatite, diarreia, etc. (MENDES, 2019).

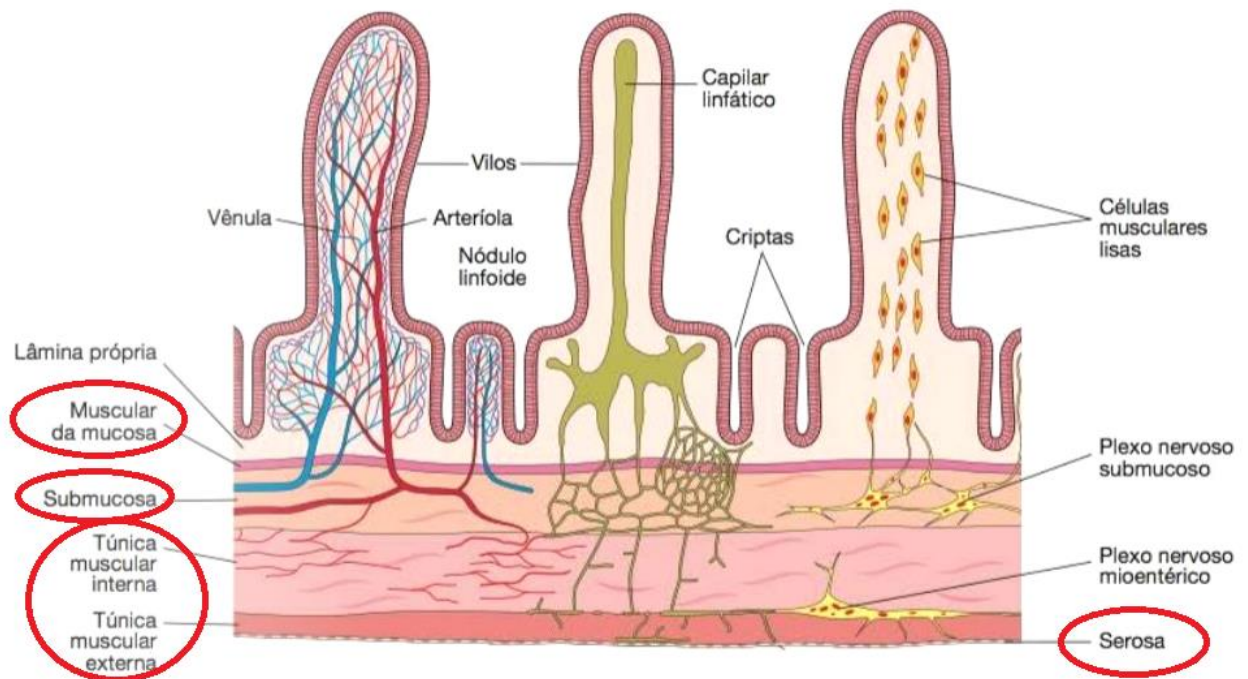
A mucosite intestinal, é uma das principais complicações que acomete 50 a 80% dos pacientes submetidos à quimioterapia com 5-FU (MIRANDA, 2019) e pode causar sinais e sintomas clínicos, como dor, inchaço abdominal, náuseas, vômitos e diarreia (LOGAN et al., 2007).

2.3. Intestino delgado

O intestino delgado é o sítio terminal de digestão dos alimentos, absorção de nutrientes e secreção endócrina, por isso, o seu funcionamento adequado é essencial para a saúde e o bem-estar dos indivíduos. Também é a porção mais longa do trato gastrointestinal, com aproximadamente cinco metros, que se encontra dividido em três segmentos: duodeno, jejuno e íleo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

O intestino delgado apresenta quatro túnicas estruturais em sua parede: mucosa, submucosa, muscular e serosa (Figura 3). A mucosa intestinal é a camada mais complexa, estruturalmente e funcionalmente, sendo envolvida em funções absorptivas e de barreira (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Figura 3 – Organização das camadas intestinais: mucosa, submucosa, muscular e serosa.



Fonte: Adaptado de Junqueira e Carneiro (2013)

Todo o epitélio intestinal é auto-renovante, com capacidade de renovação que varia de 3 a 7 dias (DUNCAN; GRANT, 2003). Porém, esse padrão de proliferação celular, pode deixar a mucosa extremamente vulnerável a fontes de irritação, traumatismos ou lesão celular, como a causada pelos efeitos citotóxicos dos agentes quimioterápicos (PINHO et al., 2010). A mucosite intestinal é o resultado deste processo de lesão à mucosa.

2.4. Mucosite intestinal

A mucosite é um dos principais efeitos colaterais ocasionados pela radioterapia e por agentes quimioterápicos, como o 5-FU. Essa doença, tem um impacto significativo na saúde, qualidade de vida e aspectos econômicos que estão associados ao tratamento. Também afeta indiretamente o sucesso da terapia antineoplásica, limitando a capacidade de pacientes para tolerar o tratamento (SONIS, 2004).

Sonis descreve a patobiologia da MI em um modelo de cinco fases: iniciação, resposta a danos primários, amplificação dos sinais, ulceração e cicatrização (Figura 4).

A fase de iniciação da lesão do tecido ocorre imediatamente após a administração do 5-FU ao lúmen intestinal. O quimioterápico causa toxicidade e dano ao DNA da célula, gerando

um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e ativação de mediadores inflamatórios, ocasionando dano tecidual e/ou morte celular (SONIS, 2004).

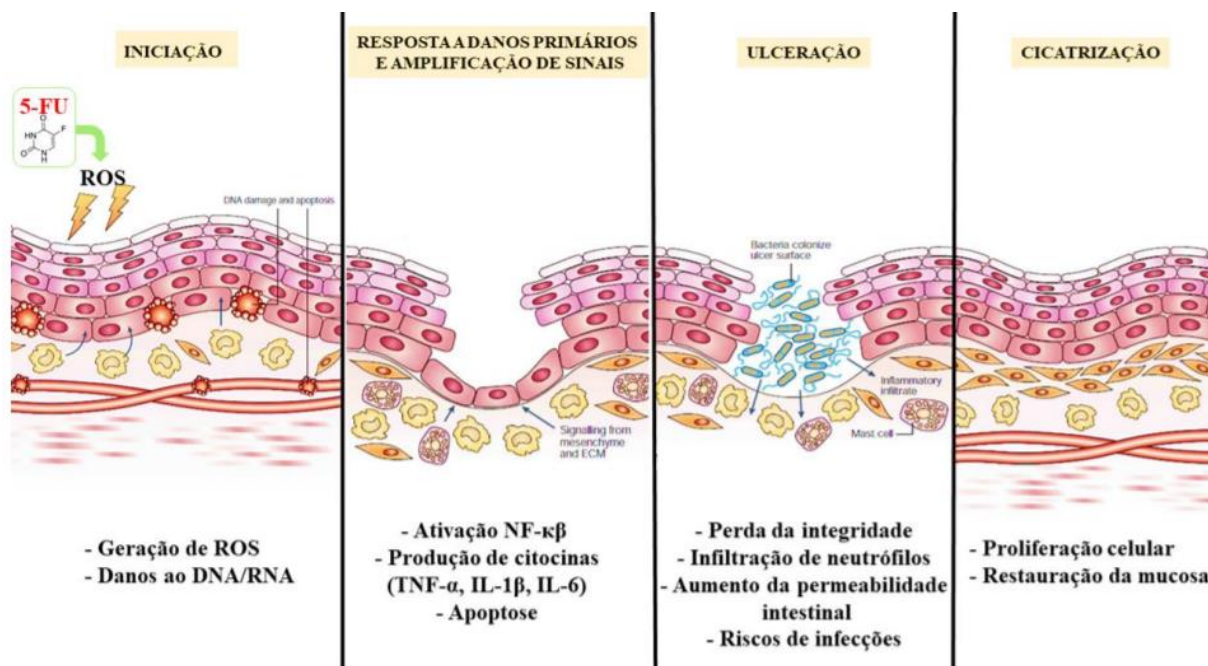
A segunda fase denominada de respostas a danos primários, ocorre em decorrência dos danos ocasionados. Essa fase envolve a ativação de diversas vias de transdução de sinais. Devido ao aumento na formação de ERO, há a ativação do fator nuclear- $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$). O NF- $\kappa\beta$ regula uma grande variedade de genes envolvidos em diferentes processos da resposta imune e inflamatória (LIU, 2017), muitos dos quais têm um efeito sobre a toxicidade da mucosa. Além disso, o NF- $\kappa\beta$ promove o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , IL-1 β e IL-6 (SONIS, 2004).

A terceira fase é nomeada de amplificação dos sinais e ocorre como consequência das citocinas pró-inflamatórias que atuam através de mecanismos de feedback positivo. Essas citocinas ativam várias outras vias de sinalização celular, colaborando para a morte celular e injúria tecidual (SONIS, 2004).

Na fase seguinte, a fase de ulceração, é a mais sintomática e complexa, dentre as cinco fases. Nela ocorre a perda de integridade da mucosa, na qual se desenvolvem lesões profundas, altamente dolorosas e mais propensas à infecção pela colonização de bactérias (SONIS, 2004). Além disso, observa-se nesta fase o encurtamento das vilosidades, aumento da profundidade das criptas (SOARES et al., 2013), e aumento da infiltração de células inflamatórias, como neutrófilos (SONIS, 2004).

Por fim, a fase de cicatrização é a menos compreendida e estudada em relação à fisiopatologia da mucosite. Nessa última fase, o aumento da taxa de proliferação e migração de células epiteliais, promove sinais resolutivos às camadas da mucosa. Na maioria dos casos, a cura espontânea ocorre até três semanas após cessar a administração da quimioterapia (SONIS, 2004).

Figura 4 – Fases de desenvolvimento da MI: iniciação, resposta a danos primários, amplificação dos sinais, ulceração e cicatrização e suas principais características.



Fonte: Adaptado de Sonis (2004). Produzido por Jesus (2018)

Podendo afetar todo o trato gastrointestinal, desde a boca até o reto, a mucosite pode causar diversos sinais e sintomas clínicos, incluindo dor e sintomas gastrointestinais, como inchaço abdominal, vômitos, diarreia, dentre outras complicações (LOGAN et al., 2007). Conseqüentemente, são necessárias intervenções médicas de abrandamento, como redução da dose do quimioterápico, ou até mesmo a interrupção do tratamento, comprometendo a eficácia da terapia proposta e afetando, consideravelmente, a qualidade de vida do paciente.

Atualmente, não existem terapêuticas eficazes para a prevenção e/ou cura da mucosite. O tratamento, dependerá do seu grau de gravidade, sendo direcionado à cura dos sintomas apresentados pelos pacientes e na profilaxia de infecções secundárias causadas por micro-organismos (SONIS, 2004). Dessa forma, torna-se importante a busca por alternativas terapêuticas que vise não apenas o alívio dos sintomas, mas também a prevenção e/ou cura da mucosite.

2.5. Açaí (*Euterpe oleracea* Martius)

Euterpe oleracea Martius é uma palmeira nativa da América do Sul pertencente à família *Arecaceae* e ao gênero *Euterpe*. O fruto, popularmente conhecido como “açaí”, é típico

da Floresta Amazônica, localizada em grande parte do norte do Brasil, e também está presente em países como: Guiana, Guiana Francesa, Suriname, Venezuela e Colômbia (MONTEIRO, 2019). Devido aos benefícios para a saúde, seu consumo tem aumentado significativamente nos últimos anos e cada vez mais vem sendo exportado ao redor do mundo. De acordo com os dados da Conab (Companhia Nacional de Abastecimento, 2019), os estados do Pará e do Amazonas são os principais responsáveis pela produção do açaí, detendo aproximadamente 90% do manufaturamento.

Possui forma arredondada ou oval, coloração roxa-escura e apresenta-se em cachos (Figura 5). Pode ser cultivado durante todo o ano, porém, as melhores qualidades organolépticas, nutricionais e capacidade antioxidante são obtidas quando a colheita é realizada nos meses de agosto a dezembro. É consumido após o seu processamento e tradicionalmente no Brasil a polpa do açaí é consumida na forma de suco, geleias, licores, sorvetes, etc (PORTINHO et al., 2012).

Figura 5 – Açaizeiro do *Euterpe oleracea* Martius.



Fonte: PPMAC (2015)

Devido a sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória observada em estudos *in vivo* e *in vitro*, nos últimos anos, diversas pesquisas com o açaí têm sido realizadas. Schauss e colaboradores (2006) analisaram a composição nutricional e fitoquímica da polpa do açaí. Em cada 100g de peso seco contém 52,2% de carboidratos totais, 8,1% de proteínas, 44,2% de fibra alimentar e 32,5% de lipídeos. A maior parte do conteúdo lipídico é composto por ácidos graxos insaturados, sendo 60,6% de ácidos graxos monoinsaturados, predominando o oleico/ ω -9

(56,2%) e 13,3% de ácidos graxos poli-insaturados, predominando o linoleico/ ω -6 (12,5%). O restante do conteúdo lipídico (26,1%) é proveniente dos ácidos graxos saturados, sendo 24,1% de ácido palmítico e 1,6% de ácido esteárico. Além disso, o açaí contém vitaminas (A, C, E, D, B1, B2, B3, B6 e B12), fitoesteróis (β -sitosterol, campesterol e estigmasterol) e elementos traços (potássio, magnésio, fósforo, cálcio, sódio, zinco, ferro, cobre).

Em razão da sua grande capacidade antioxidante, o açaí também passou a ser considerado no meio científico um “alimento funcional” (SCHAUSS, 2006). As antocianinas, compostos fenólicos pertencentes ao grupo dos flavonoides, além de contribuírem com a maior capacidade antioxidante encontrada na polpa do açaí, são responsáveis pela coloração arroxeada característica do fruto. Quanto mais escura a cor, maior será a concentração das antocianinas (PORTINHO et al., 2012). As principais antocianinas presentes na polpa de açaí são a cianidina-3-rutinosídeo e a cianidina-3-glicosídeo (SCHAUSS, 2006).

Além disso, estudos sugerem que a composição da polpa de açaí rica em antocianinas, outros flavonoides, ácidos graxos, vitaminas e minerais, promove potencial proteção contra danos ao organismo mediados pelo estresse oxidativo e inflamação (PEIXOTO, 2016; PORTINHO et al., 2012).

Um estudo realizado por Magalhães (2018), pioneiro em analisar os efeitos da polpa de açaí 2% na mucosite intestinal 3 e 7 dias após a indução, demonstrou que os compostos fenólicos, dentre outros componentes presentes na polpa de açaí, promoveram maior proteção ao intestino delgado, uma vez que esses componentes atuam em vias pró-inflamatórias, mobilizando mecanismos de defesa. Além disso, a análise histopatológica demonstrou que a ingestão do açaí promoveu evidente recuperação tecidual após a indução da MI e demonstrou a capacidade antioxidante do açaí em condição de estresse oxidativo mediada por agente citotóxico, como o 5-FU.

2.6. Flavonoides

Os flavonoides compõem uma ampla classe de substâncias naturais, cuja síntese não ocorre no corpo humano, porém, possuem diversas propriedades farmacológicas que os fazem atuar de forma benéfica no organismo. Geralmente, são provenientes de alimentos de origem vegetal, como legumes, frutas e chás de ervas. De acordo com Li e colaboradores (2020), os flavonoides possuem propriedades antioxidantes (SIAH, 2016), anti-inflamatórias (SERAFINI,

2010) e anticancerígenas (MANTHEY, 2002).

Troxerrutina (TRX) é um flavonoide derivado da rutina e apesar de normalmente ser lembrada no tratamento de varizes e hemorroidas (MIRANDA, 2019), tem sido relatada devido sua eficácia na terapêutica do câncer. Miranda avaliou o efeito da troxerrutina na prevenção das alterações morfológicas na mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil. Esse autor observou que a TRX na dose de 100 mg/kg foi capaz de proteger a mucosa intestinal das alterações induzidas por 5-FU que perfazem o quadro da mucosite intestinal, como leucopenia, dano oxidativo, recrutamento neutrofílico, mastocitose, depleção de células caliciformes e alterações histológicas e morfométricas do intestino. Acredita-se que muitos dos efeitos protetores, deve-se à interação deste flavonoide com citocinas pró-inflamatórias como TNF (Fator de Necrose Tumoral) e NF-Kb (Fator nuclear Kappa B).

3. JUSTIFICATIVA

A mucosite é um efeito secundário à quimioterapia com 5-FU e é caracterizada pelo processo inflamatório e/ou ulcerativo do trato gastrointestinal. Com elevada incidência entre os pacientes em tratamento com câncer, a mucosite além de gerar desconforto e dor, afeta consideravelmente a qualidade de vida do paciente. Apesar de avanços e busca de fármacos para prevenção e/ou cura, ainda não se tem disponível na prática clínica uma terapia específica e aprovada para essa alteração (SONIS, 2004).

Neste contexto, são necessários estudos que busquem estratégias eficazes e viáveis para sua prevenção e/ou tratamento. Sabe-se que, o tratamento da mucosite, dependerá do seu grau de gravidade, e objetiva apenas o alívio dos sintomas. Nos últimos anos, tem sido crescente o desenvolvimento de pesquisas voltadas para a amenização da injúria intestinal. Por isso, produtos naturais e semissintéticos como flavonoides, tem papel de destaque, devido às diversas propriedades farmacológicas, bem como a baixa toxicidade e sua importante capacidade antioxidante e anti-inflamatória.

Dessa maneira, o presente trabalho, propõe investigar os efeitos da polpa de açaí 2%, na mucosite induzida por 5-Fluorouracil, avaliando a resposta inflamatória do intestino, em especial, duodeno e íleo. Promover a redução da injúria intestinal seria muito benéfico aos pacientes, uma vez que, com a redução dos sintomas, a adesão ao tratamento seria maior.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Avaliar o impacto do consumo da dieta suplementada com polpa de açaí 2% sobre a capacidade de produção de IL-10 no duodeno e íleo de camundongos BALB/c com mucosite induzida por 5- Fluorouracil.

4.2. Objetivos Específicos

- Induzir a mucosite intestinal experimental;
- Realizar a extração de proteínas para análise bioquímica e imunoenzimática;
- Quantificar a concentração da citocina anti-inflamatória IL-10 no duodeno e íleo.

5. METODOLOGIA

5.1. Animais e dieta experimental

Camundongos fêmeas da linhagem BALB/c com idade aproximada de seis semanas, pesando entre 17g e 20g, foram fornecidos pelo Centro de Ciência Animal (CCA) da UFOP. Durante todo o experimento até o momento da eutanásia, os animais foram mantidos na sala para isogênicos do CCA. O ambiente dispõe de temperatura controlada (20°C e 25°C) com ciclo claro-escuro de 12 horas. Após uma semana de aclimação foi fornecida uma dieta controle AIN-93M contendo ou não açaí a 2% (Tabela 1). A polpa de açaí utilizada foi previamente pasteurizada em processo industrial, não contém conservantes e foi adquirida em um supermercado local na forma congelada. Além disso, foi obtida de um mesmo lote, a fim de manter a homogeneidade ao longo do experimento. A água oferecida foi previamente autoclavada e, assim como as dietas, fornecida livremente. O estudo foi deferido pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFOP), protocolo nº. 2016/17 (anexo).

Tabela 1 – Composição das dietas experimentais AIN-93M padrão e contendo açaí.

Nutrientes	Dietas (g/kg)	
	Controle	Açaí
Caseína	150,00	150,00
Amido de milho	710,00	690,00
Óleo de soja	40,00	40,00
Colina	2,50	2,50
Metionina	1,80	1,80
Mix de minerais	35,00	35,00
Mix de vitaminas	10,00	10,00
Celulose	50,00	50,00
Açaí	0,00	20,00
Valor calórico	4007,20	4025,74

Fonte: Magalhães (2018)

5.2. Delineamento experimental

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em gaiolas para camundongos contendo no máximo sete indivíduos para cada um dos seguintes grupos: Controle (C): Grupo que

recebeu dieta controle e não foi induzida mucosite; Açaí (AÇ): Grupo que recebeu dieta suplementada com polpa de açaí e não foi induzida mucosite; Mucosite (M): Grupo que recebeu dieta controle e foi induzida mucosite; Açaí + Mucosite (AÇM): Grupo que recebeu dieta suplementada com polpa de açaí e foi induzida mucosite. Após sete dias de aclimação recebendo uma dieta padrão para roedores adultos, foram inseridas as respectivas dietas por um período de quatorze dias consecutivos.

Na manhã do décimo quinto dia (D0) a partir da administração das dietas, foi injetada por via intraperitoneal uma dose única de 5-FU (Faldfluor®, Libbs) a 200mg/kg de cada animal dos grupos mucosite (M e AÇM). A droga foi veiculada em solução PBS estéril e injetada num volume total de 150µl no quadrante inferior esquerdo.

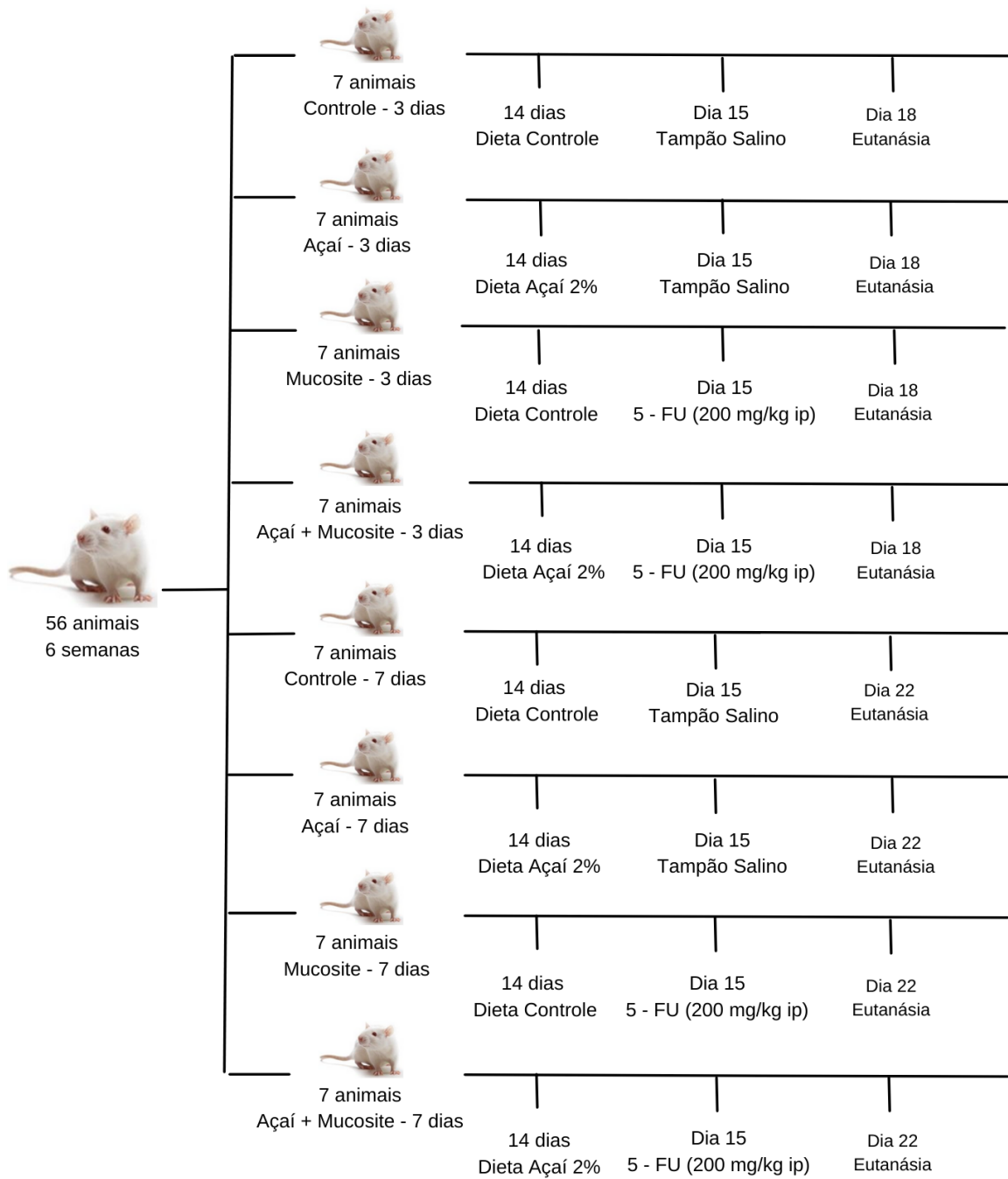
Os grupos C e AÇ receberam injeção intraperitoneal (ip) de tampão fosfatosalino (PBS - Phosphate-Buffered Saline) estéril. Executou-se a eutanásia três (D3) e sete (D7) dias após a indução da mucosite (Figura 6).

5.3. Eutanásia e coleta de material biológico

Ao findar dezoito (D3) e vinte e dois dias (D7) a partir da administração das dietas, os animais foram anestesiados com uma solução de 100µL a base de PBS, cloridrato de ketamina (25%) e cloridrato de xilazina (25%), seguida por deslocamento cervical. Em seguida, realizou-se a laparotomia para retirada do intestino delgado. Sobre uma placa de gelo, foi dissecado o duodeno e íleo que foram acondicionados em criotubos de 2ml identificados de acordo com cada grupo e animal. Essas amostras foram armazenadas a -80°C para posterior análise.

As etapas descritas acima foram desenvolvidas pela Talita Alves Faria Martins Magalhães em sua dissertação de mestrado intitulada “Efeito de uma suplementação com polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius) em camundongos BALB/c com mucosite intestinal induzida por 5-Fluorouracil”.

Figura 6 – Desenho esquemático do delineamento experimental.



Fonte: Elaboração própria

Camundongos fêmeas BALB/c foram divididas em quatro grupos: Controle (C): Grupo que recebeu dieta controle AIN-93M e não foi induzida mucosite; Açai (AÇ): Grupo que recebeu dieta suplementada com polpa de açai 2% e não foi induzida mucosite; Mucosite (M): Grupo que recebeu dieta controle e foi induzida mucosite por 5-FU; Açai + Mucosite (AÇM): Grupo que recebeu dieta suplementada com polpa de açai 2% e foi induzida mucosite.

5.4. Preparo dos tecidos

Primeiramente, foi realizada a pesagem dos tecidos e anotado os valores (apêndice). Em seguida, foi pipetado o tampão RIPA (TRIS 0,05M, NaCl 0,15M, deoxicolato de sódio 1% e SDS 0,1%), usando a proporção de 100mcL de solução para 10mg de tecido (10:1), e, pipetado a solução inibidora de protease (Thermo Scientific), na proporção 1:100, imediatamente antes do uso. Em um segundo momento, as amostras foram processadas no homogeneizador elétrico, sob baixa rotação por 30 segundos. Após esse processo, as amostras ficaram em descanso por 1 minuto no gelo. Essas etapas de homogeneização e descanso foram repetidas por 3 vezes até que todo o tecido fosse homogeneizado por completo. Depois, foram centrifugadas por 10 minutos a 4°C e coletou-se os sobrenadantes que foram transferidos conforme necessidade para eppendorfs de 2mL. Por fim, as amostras foram armazenadas a uma temperatura de -80°C até o uso.

5.5. Interleucina-10

A quantificação da concentração IL-10 nos tecidos coletados dos animais foi realizada por meio do ensaio imunoenzimático do tipo ELISA (R&D Systems), por meio de anticorpos primários monoclonais anti IL-10. Utilizando-se, placas de poliestireno com 96 poços.

Nas placas foi colocada a solução de anticorpo de captura (PBS) 100µL por poço e incubado em *overnight* à temperatura ambiente. Essas foram lavadas 2 vezes em solução sabão (PBS Tween 0,05%). Em seguida, foi adicionado em cada poço da placa 200µL de solução de bloqueio (PBS/BSA 1%) e incubado por 1 hora à temperatura ambiente. Logo após, a placa foi novamente lavada 2 vezes em solução sabão e realizada a pipetagem do padrão nos poços destinados da placa. Em cada poço do padrão foi adicionado 100µL de solução de bloqueio. Adicionado 200µL do padrão no primeiro poço e procedido de diluição seriada nos demais, resultando um total de 7 pontos da curva e em duplicata. O ponto destinado ao branco só recebeu a solução de bloqueio em duplicata. Nos poços referentes as amostras foram colocadas (50µL) do sobrenadante em duplicata, e então incubado por 2 horas à temperatura ambiente.

Realizou-se novamente a lavagem das placas na solução sabão por 4 vezes, adicionou-se a solução de detecção 100µL por poço e incubado por 2 horas à temperatura ambiente. As placas foram lavadas 2 vezes na solução sabão e colocado 100µL de solução de substrato: Streptoavidina/ Peroxidase (1:40) a cada poço. Incubado a temperatura ambiente por cerca de 20 minutos. Realizou-se a lavagem das placas na solução sabão por mais 6 vezes. Logo após,

adicionou 100µL de citrato/fosfato (pH 4,0) e esperou até a reação de cor. A reação foi interrompida adicionando 50µL de H₂ SO₄ 2N por poço e realizada a leitura no comprimento de onda de 450nm por um leitor de ELISA (Bio-Rad Modelo 450 Leitor de Microplacas). Para a avaliação dos dados, os resultados foram expressos em média e desvio padrão (ng/mL) que foram gerados pelo Excel.

6. RESULTADOS

Para avaliação do possível efeito anti-inflamatório do açáí no desenvolvimento da mucosite intestinal em camundongos BALB/c, foi determinada a concentração de IL-10 no duodeno e no íleo.

6.1. Duodeno

As tabelas abaixo, expressam a média da concentração de IL-10 no duodeno dos quatro grupos avaliados no 3° e 7° dia. Observou-se que a concentração de IL-10 foi negativa em todos os grupos, ou seja, as concentrações estão abaixo do nível de sensibilidade do teste e isso indica que a quantidade de IL-10 nesse local é pouco significativa.

Tabela 2 – Concentração de IL-10 no duodeno 3° dia.

Grupo	Tempo	Média da concentração por grupo (ng/mL)	Desvio padrão por grupo (ng/mL)
C	3 dias	-0,18	0,20
M	3 dias	-0,13	0,02
AÇ	3 dias	-0,14	0,02
AÇM	3 dias	-0,14	0,02

Fonte: Dados da autora

Tabela 3 – Concentração de IL-10 no duodeno 7° dia.

Grupo	Tempo	Média da concentração por grupo (ng/mL)	Desvio padrão por grupo (ng/mL)
C	7 dias	-0,10	0,04
M	7 dias	-0,12	0,02
AÇ	7 dias	-0,11	0,04
AÇM	7 dias	-0,08	0,03

Fonte: Dados da autora

6.2. Íleo

As tabelas abaixo, expressam a média da concentração de IL-10 no íleo dos quatro grupos avaliados no 3° e 7° dia. Novamente, observou-se que a concentração de IL-10 foi negativa em todos os grupos, ou seja, as concentrações estão abaixo do nível de sensibilidade do teste e isso indica que a quantidade de IL-10 nesse local também é pouco significativa.

Tabela 4 – Concentração de IL-10 no íleo 3° dia.

Grupo	Tempo	Média da concentração por grupo (ng/mL)	Desvio padrão por grupo (ng/mL)
C	3 dias	-0,02	0,06
M	3 dias	-0,04	0,04
AÇ	3 dias	-0,08	0,03
AÇM	3 dias	-0,07	0,04

Fonte: Dados da autora

Tabela 5 – Concentração de IL-10 no íleo 7° dia.

Grupo	Tempo	Média da concentração por grupo (ng/mL)	Desvio padrão por grupo (ng/mL)
C	7 dias	-0,05	0,04
M	7 dias	-0,03	0,02
AÇ	7 dias	-0,01	0,04
AÇM	7 dias	-0,04	0,06

Fonte: Dados da autora

7. DISCUSSÃO

A mucosite intestinal é uma das principais complicações que acomete pacientes submetidos à quimioterapia com 5-FU (MIRANDA, 2019). Caracterizada pelo processo inflamatório e/ou ulcerativo do trato gastrointestinal, essa doença tem um impacto significativo na saúde e qualidade de vida do paciente, uma vez que irá comprometer o sucesso da terapia antineoplásica. Apesar de avanços e busca de fármacos para prevenção e/ou cura, ainda não se tem disponível na prática clínica uma terapia específica e aprovada para essa alteração. Por isso, estudos que visam a utilização de alimentos ricos em compostos bioativos e alimentos que possam contribuir na prevenção e no tratamento da MI se fazem de grande importância para o cuidado desses pacientes.

Tendo em vista que o açaí é um alimento rico em compostos fenólicos, principalmente, as antocianinas e estes compostos são conhecidos pela sua capacidade de promover ação anti-inflamatória e antioxidante, esse estudo investigou o efeito da dieta suplementada com polpa de açaí 2% na possível redução de um mediador inflamatório na mucosite intestinal em camundongos BALB/c.

Com os resultados obtidos nesse estudo, observamos que no modelo experimental, a concentração de IL-10 foi menos expressiva que o esperado. Esse resultado pode estar relacionado com o curto período entre a indução e a eutanásia (D3 e D7), o que nos leva a pensar que em um modelo com perfil mais crônico, ou seja, um intervalo maior entre indução e eutanásia, o aumento de IL-10 seja mais expressivo.

A literatura evidencia a importância da IL-10 em manter e reestabelecer a homeostase imune, sendo a manutenção de níveis adequados de IL-10 capaz de prevenir doenças inflamatórias imunomediadas e respostas imunes a patógenos (COUPER et al., 2008; BEDKE et al., 2019). Porém, sabe-se que o sistema imune é muito mais complexo e, por isso, não se pode limitar a observação de um fenômeno como a inflamação pela perspectiva de uma única interleucina. Pode haver outros mecanismos reguladores que não seja via IL-10, uma vez que não é apenas essa citocina que desempenha um papel de regulação da resposta inflamatória. Existem outras citocinas e outros mecanismos que são capazes de ajudar o organismo no processo de modelação.

A IL-10 é uma das citocinas anti-inflamatórias mais importantes na formação de respostas imunes na mucosa do intestino (ZURITA-TURK et al., 2020). Porém, não necessariamente a IL-10 encontra-se diretamente nas porções intestinais, onde a inflamação

está mais concentrada do ponto de vista da sintomatologia, da fisiopatologia e da alteração da mucosa. Sabe-se que grande parte da resposta imune que as células, principalmente, os linfócitos TCD4, que são aqueles que, em sua maioria, vão produzir as citocinas, tanto inflamatórias quanto anti-inflamatórias, existem em uma quantidade pequena nesse ambiente intestinal. No intestino, encontram-se mais linfócitos B, que produzem a IgE da mucosa, e, alguns linfócitos intraepiteliais, mas estes têm um perfil um pouco diferente.

Em um processo inflamatório, podemos esperar a migração de citocinas para o local. No caso do referente estudo, pode ser que a redução da inflamação seja mediada via IL-10, porém, essa interleucina está concentrada em outros órgãos linfoides próximos, que irão fazer com que ela chegue a esse local, mas, não necessariamente em uma quantidade que seja perceptível nesse momento.

Dados do nosso laboratório (ainda não publicados) mostraram um aumento significativo da concentração de IL-10 no grupo AÇM no linfonodo mesentérico 7 dias após a indução, sugerindo o efeito anti-inflamatório da administração da dieta suplementada com polpa de açaí 2%. Esse resultado pode indicar que, na verdade, a IL-10 esteja sendo produzida no linfonodo, onde estão regulando a quantidade de células inflamatórias que migram para o intestino. Sendo assim, nas porções intestinais, não há a citocina de forma significativa, mas ela está sendo produzida no linfonodo mesentérico e, por isso, temos um reflexo da redução da inflamação no intestino.

8. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a dieta suplementada com polpa de açaí 2% não levou ao aumento da IL-10 no duodeno e íleo, em camundongos com mucosite induzida por 5-Fluorouracil. O sistema imune é muito complexo e integrativo, e, por isso, não se pode limitar a observação de um fenômeno como a inflamação pela perspectiva de apenas uma interleucina. É necessário a realização de mais estudos que melhor esclareçam as vias de atuação do açaí no possível efeito anti-inflamatório na MI experimental, possibilitando sua utilização como estratégia dietética preventiva e/ou terapêutica para a doença.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Raquel Silva; DE BARROS, André Luis Branco. Intestinal Mucositis Induced by Chemotherapy: an Overview. **Journal of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research**, v. 03, n. 03, 2015. Disponível em: <https://www.omicsonline.org/open-access/intestinal-mucositis-induced-by-chemotherapy-an-overview-2329-9053-1000e123.php?aid=66131>. Acesso em: 4 Oct. 2021.

BEDKE, Tanja *et al.* IL-10-producing T cells and their dual functions. **Seminars in Immunology**, v. 44, p. 101335, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31734129/>. Acesso em: 22 Oct. 2021.

Conab. Açaí – Análise Mensal – março 2019. **Conab.gov.br**. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-sociobiodiversidade/item/15512-acai-analise-mensal-marco-2019>. Acesso em: 20 Oct. 2021.

COUPER, Kevin N.; BLOUNT, Daniel G.; RILEY, Eleanor M. IL-10: The Master Regulator of Immunity to Infection. **The Journal of Immunology**, v. 180, n. 9, p. 5771-5777, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18424693/>. Acesso em: 22 Oct. 2021.

COUTINHO, Rosemary Maria Pimentel *et al.* Physicochemical and microbiological characterization and antioxidant capacity of açaí pulps marketed in the states of Minas Gerais and Pará, Brazil. **Ciência Rural**, v. 47, n. 1, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/9DJxZz3vbxzGNNNFYLyFXXH/?lang=en>. Acesso em: 20 Oct. 2021.

DUNCAN, M.; GRANT, G. Oral and intestinal mucositis - causes and possible treatments. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 18, n. 9, p. 853-874, 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2036.2003.01784.x?sid=nlm%3Apubmed>. Acesso em: 11 Oct. 2021.

FERNANDES, Camila. A depleção de células TREGS agrava a mucosite intestinal experimental induzida por irinotecano. **Repositorio.ufc.br**, 2017. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/27486>. Acesso em: 3 Oct. 2021.

INCA - Instituto Nacional de Câncer. Ministério da Saúde. **Brasil - estimativa dos casos novos**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/estimativa/estado-capital/brasil>. Acesso em: 02 Sep. 2021.

JESUS, Luis Claudio Lima. Efeito terapêutico do leite fermentado por *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* CIDCA 133 em modelo de mucosite intestinal induzido pelo antineoplásico 5-fluorouracil. **Ufmg.br**, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/BUOS-B5MGST>. Acesso em: 12 Oct. 2021.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KIM, Young S.; HO, Samuel B. Intestinal Goblet Cells and Mucins in Health and Disease: Recent Insights and Progress. **Current Gastroenterology Reports**, v. 12, n. 5, p. 319–330, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20703838/>. Acesso em: 30 Sep. 2021.

LI, Guangxing *et al.* Flavonoids Regulate Inflammation and Oxidative Stress in Cancer. **Molecules**, v. 25, n. 23, p. 5628, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7729519/>. Acesso em: 6 Oct. 2021.

LIU, Ting *et al.* NF- κ B signaling in inflammation. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 2, n. 1, 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/sigtrans201723>. Acesso em: 8 Oct. 2021.

LOGAN, Richard M. *et al.* The role of pro-inflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: Pathobiology, animal models and cytotoxic drugs. **Cancer Treatment Reviews**, v. 33, n. 5, p. 448–460, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17507164/>. Acesso em: 11 Oct. 2021.

LONGLEY, Daniel B.; HARKIN, D. Paul; JOHNSTON, Patrick G. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 5, p. 330–338, 2003. Disponível em: [https://www.nature.com/articles/nrc1074#:~:text=5%2DFluorouracil%20\(5%2DFU\)%20can%20activate%20p53%20by,FdUMP\)%20with%20resultant%20DNA%20damage](https://www.nature.com/articles/nrc1074#:~:text=5%2DFluorouracil%20(5%2DFU)%20can%20activate%20p53%20by,FdUMP)%20with%20resultant%20DNA%20damage). Acesso em: 6 Oct. 2021.

MAGALHÃES, Talita Alves Faria Martins. Efeito de uma suplementação com polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Martius) em camundongos BALB/c com mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil. **Ufop.br**, 2018. Disponível em: <https://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/11796>. Acesso em: 5 Oct. 2021.

MANTHEY, John A.; GUTHRIE, Najla. Antiproliferative Activities of Citrus Flavonoids against Six Human Cancer Cell Lines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5837–5843, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12358447/>. Acesso em: 6 Oct. 2021.

MENDES, Tiago Santos. Via colinérgica anti-inflamatória: um alvo terapêutico no curso da mucosite intestinal induzida experimentalmente por 5-fluorouracil. **Repositorio.ufc.br**, 2019. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/40613>. Acesso em: 30 Sep. 2021.

MIRANDA, João Antônio Leal. Troxerrutina previne alterações morfológicas na mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil: papel da via ciclooxigenase-2. **Repositorio.ufc.br**, 2019. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/41486>. Acesso em: 4 Oct. 2021.

MONTEIRO, José Rogério Souza *et al.* Antidepressant and Antiaging Effects of Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) in Mice. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2019, p. 1–16, 2019. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/3614960/>. Acesso em: 21 Oct. 2021.

PALA, Daniela. Efeito do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) sobre o estado oxidativo e a influência nas transferências de lípidos para HDL em mulheres. **Ufop.br**, 2016. Disponível em: <https://www.repositorio.ufop.br/handle/123456789/7707>. Acesso em: 20 Oct. 2021.

PEIXOTO, Herbenya *et al.* An Anthocyanin-Rich Extract of Acai (*Euterpe precatoria* Mart.) Increases Stress Resistance and Retards Aging-Related Markers in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 6, p. 1283–1290, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26809379/>. Acesso em: 21 Oct. 2021.

PINHO, Ana Paula *et al.* Mucosite no paciente em tratamento de câncer. Mucositis related - cancer treatment. **Science in Health**, v. 1, n. 3, p. 145–60, 2010. Disponível em: https://arquivos.cruzeirodosuleducacional.edu.br/principal/new/revista_scienceinhealth/03_set_dez_2010/science_145_60.pdf. Acesso em: 11 Oct. 2021

PORTINHO, J. A., ZIMMERMANN, L. M., BRUCK, M. R. Efeitos Benéficos do Açaí. **International Journal of Nutrology**, 2012.

Ppmac. Medicinais - aromáticas - condimentares: Açaí, açazeiro. 2015. Disponível em: <http://www.ppmac.org/?q=content/a%C3%A7a%C3%AD-a%C3%A7azeiro>. Acesso em: 21 Oct. 2021.

REINALDO, Maria Patrícia Oliveira da Silva. Efeito da Olmesartana na resposta inflamatória em modelo de mucosite intestinal em ratos. **Ufrn.br**, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/20121>. Acesso em: 5 Oct. 2021.

RIBEIRO, Ronaldo A. *et al.* Irinotecan- and 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis: insights into pathogenesis and therapeutic perspectives. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 78, n. 5, p. 881–893, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27590709/>. Acesso em: 3 Oct. 2021.

SCHAUSS, Alexander G. *et al.* Phytochemical and Nutrient Composition of the Freeze-Dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Acai). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 22, p. 8598–8603, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17061839/>. Acesso em: 21 Oct. 2021.

SERAFINI, Mauro; PELUSO, Ilaria; RAGUZZINI, Anna. Flavonoids as anti-inflammatory agents. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 69, n. 3, p. 273–278, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20569521/>. Acesso em: 6 Oct. 2021.

SIAH, Maryam *et al.* Inhibition of guinea pig aldehyde oxidase activity by different flavonoid compounds: An in vitro study. **Bioorganic Chemistry**, v. 64, p. 74–84, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26722818/>. Acesso em: 6 Oct. 2021.

SOARES, Pedro M.G. *et al.* Inflammatory intestinal damage induced by 5-fluorouracil requires IL-4. **Cytokine**, v. 61, n. 1, p. 46–49, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104346661200720X>. Acesso em: 9 Oct. 2021.

SONIS, Stephen T. The pathobiology of mucositis. **Nature Reviews Cancer**, v. 4, n. 4, p. 277–284, 2004. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrc1318>. Acesso em: 9 Oct. 2021.

TANG, Yan *et al.* Administration of probiotic mixture DM#1 ameliorated 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis and dysbiosis in rats, **Nutrition**, v. 33, p. 96–104, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27427511/>. Acesso em: 30 Sep. 2021.

THOMAS, Sonia Amin; TOMEH, Neveen; THEARD, Stephanie. Fluorouracil-induced Hyperammonemia in a Patient with Colorectal Cancer. **Anticancer research**, v. 35, n. 12, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26637893/>. Acesso em: 18 Oct. 2021.

WILHELM, Martin *et al*, Prospective, Multicenter Study of 5-Fluorouracil Therapeutic Drug Monitoring in Metastatic Colorectal Cancer Treated in Routine Clinical Practice, **Clinical Colorectal Cancer**, v. 15, n. 4, p. 381–388, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27256667/>. Acesso em: 30 Sep. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: WHO. **Câncer**. Who.int. 21 de setembro de 2021. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Acesso em: 11 Oct. 2021.

ZHANG, Ning *et al*. 5-Fluorouracil: Mechanisms of Resistance and Reversal Strategies. **Molecules**, v. 13, n. 8, p. 1551–1569, 2008. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6244944/>. Acesso em: 18 Oct. 2021.

ZURITA-TURK, Meritxell *et al*. Attenuation of intestinal inflammation in IL-10 deficient mice by a plasmid carrying Lactococcus lactis strain. **BMC Biotechnology**, v. 20, n. 1, 2020. Disponível em: <https://bmcbiotechnol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12896-020-00631-0>. Acesso em: 20 Oct. 2021.

ANEXO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Campus Universitário - Maroão Cruzado - ICESQ-8, Sala 29
35400-000 - Ouro Preto - MG - Brasil
Fone: (31) 3559-1268 Fax: (31) 3559-1370
E-mail: ceua@ufop.edu.br



OFÍCIO CEUA Nº. 182/2016, de 14 de Dezembro de 2016

Ilustríssima(a) Senhor(a)
Professor(a) Doutor(a) Joana Ferreira Amaral
DENCs/ENUT

Senhor(a) Pesquisador(a),

Considerando o adendo enviado na data 30/11/2016, estamos enviando o certificado de aprovação do protocolo nº. 2016/17, intitulado *"Efeito imunomodulador da dieta na mucosite: o papel da retirada estimulação antigênica das proteínas da dieta e do consumo de açaí (Euterpe oleracea mart.) na inflamação induzida por 5-fluorouracil em camundongos BALB/c."*

2. Atendendo ao art. 6º, IX, da Resolução Normativa CONCEA nº 1, de 09.07.2010, solicitamos que encaminhe a CEUA/UFOP o relatório final do projeto, após executá-lo, conforme modelo do site da CEUA.

Atenciosamente,

Prof.ª Dr.ª Lenice Kappes Becker
Coordenadora da CEUA/UFOP.

APÊNDICE

Órgão	Tempo	Grupo	Animal	Peso do Tecido (mg)	Vol. RIPA (mCL)	Vol. IP (mCL)
Duodeno	3 dias	C	1	75	750	7,5
			2	81	810	8,1
			3	100	1000	10,0
			4	100	1000	10,0
			5	66	660	6,6
			6	100	1000	10,0
			7	71	710	7,1
		AÇ	1	85	850	8,5
			2	86	860	8,6
			3	92	920	9,2
			4	96	960	9,6
			5	100	1000	10,0
			6	99	990	9,9
			7	78	780	7,8
		M	1	94	940	9,4
			2	88	880	8,8
			3	87	870	8,7
			4	73	730	7,3
			5	100	1000	10,0
			6	100	1000	10,0
			7	100	1000	10,0
		MAÇ	1	76	760	7,6
			2	92	920	9,2
			3	76	760	7,6
			4	100	1000	10,0
			5	100	1000	10,0
			6	98	980	9,8
			7	91	910	9,1
Órgão	Tempo	Grupo	Animal	Peso do Tecido (mg)	Vol. RIPA (mCL)	Vol. IP (mCL)
Duodeno	7 dias	C	1	84	840	8,4
			2	100	1000	10,0
			3	95	950	9,5
			4	100	1000	10,0
			5	100	1000	10,0
			6	100	1000	10,0
			7	100	1000	10,0
		AÇ	1	100	1000	10,0
			2	100	1000	10,0
			3	100	1000	10,0
			4	100	1000	10,0
			5	100	1000	10,0
			6	100	1000	10,0
			7	100	1000	10,0
		M	1	100	1000	10,0
			2	98	980	9,8
			3	91	910	9,1
			4	100	1000	10,0
			5	92	920	9,2
			6	97	970	9,7
			7	100	1000	10,0
		MAÇ	1	96	960	9,6
			2	96	960	9,6
			3	100	1000	10,0
			4	100	1000	10,0
			5	98	980	9,8
			6	100	1000	10,0
			7	100	1000	10,0

Órgão	Tempo	Grupo	Animal	Peso do Tecido (mg)	Vol. RIPA (mcL)	Vol. IP (mcL)
Íleo	3 dias	C	1	87	870	8,7
			2	55	550	5,5
			3	68	680	6,8
			4	61	610	6,1
			5	43	430	4,3
			6	68	680	6,8
			7	x	x	x
		AÇ	1	41	410	4,1
			2	77	770	7,7
			3	48	480	4,8
			4	55	550	5,5
			5	60	600	6,0
			6	93	930	9,3
			7	x	x	x
		M	1	100	1000	10,0
			2	100	1000	10,0
			3	100	1000	10,0
			4	100	1000	10,0
			5	99	990	9,9
			6	100	1000	10,0
			7	97	970	9,7
		MAÇ	1	61	610	6,1
			2	47	470	4,7
			3	90	900	9,0
			4	82	820	8,2
			5	96	960	9,6
			6	100	1000	10,0
			7	100	1000	10,0
Órgão	Tempo	Grupo	Animal	Peso do Tecido (mg)	Vol. RIPA (mcL)	Vol. IP (mcL)
Íleo	7 dias	C	1	80	800	8,0
			2	80	800	8,0
			3	100	1000	10,0
			4	100	1000	10,0
			5	85	850	8,5
			6	58	580	5,8
			7	61	610	6,1
		AÇ	1	96	960	9,6
			2	92	920	9,2
			3	100	1000	10,0
			4	90	900	9,0
			5	85	850	8,5
			6	100	1000	10,0
			7	87	870	8,7
		M	1	100	1000	10,0
			2	100	1000	10,0
			3	100	1000	10,0
			4	100	1000	10,0
			5	94	940	9,4
			6	95	950	9,5
			7	90	900	9,0
		MAÇ	1	100	1000	10,0
			2	100	1000	10,0
			3	100	1000	10,0
			4	84	840	8,4
			5	100	1000	10,0
			6	100	1000	10,0
			7	95	950	9,5