



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
ESCOLA DE NUTRIÇÃO  
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO CLÍNICA E SOCIAL**



**MARINA LOPES ALEXANDRINO**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA POLPA DO AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA MARTIUS*) NA PRODUÇÃO DE IL-1B DE LINFONODOS MESENTÉRICOS E ÍLEO DE CAMUNDONGOS BALB/C COM MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL**

**Ouro Preto, Minas Gerais**

**Novembro, 2022**

**MARINA LOPES ALEXANDRINO**  
marina.alexandrino@aluno.ufop.edu.br

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA POLPA DO AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA MARTIUS*) NA PRODUÇÃO DE IL-1B DE LINFONODOS MESENTÉRICOS E ÍLEO DE CAMUNDONGOS BALB/C COM MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para finalização da graduação sob orientação da prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Joana Ferreira do Amaral.

**Ouro Preto, Minas Gerais**

**Novembro, 2022**

## SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

A381a Alexandrino, Marina Lopes.

Avaliação dos efeitos da suplementação da polpa do Açaí (Euterpe oleracea Martius) na produção de IL-1 $\beta$  de linfonodos mesentéricos e íleo de camundongos BALB/c com mucosite intestinal induzida por 5-Fluorouracil. [manuscrito] / Marina Lopes Alexandrino. - 2022.  
51 f.

Orientadora: Profa. Dra. Joana Ferreira do Amaral.  
Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Graduação em Nutrição .

1. Mucosite. 2. Açaí. 3. Antioxidantes. 4. Fluorouracil. 5. Inflamação. I. do Amaral, Joana Ferreira. II. Universidade Federal de Ouro Preto. III. Título.

CDU 634.61

Bibliotecário(a) Responsável: Sônia Marcelino - CRB6/2247



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Marina Lopes Alexandrino**

**Avaliação dos efeitos da suplementação da polpa do Açaí (*Euterpe oleracea* Martius) na produção de IL-1 dos linfonodos mesentéricos e íleo de camundongos BALB/c com mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil**

Monografia apresentada ao Curso de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Nutricionista

Aprovada em 04 de novembro de 2022

### Membros da banca

Dra. Joana Ferreira do Amaral - Orientadora - Universidade Federal de Ouro Preto  
Dra. Mayla Cardoso Fernandes Tófolo - Avaliadora - Universidade Federal de Ouro Preto  
Mestranda Clécia Dias Teixeira - Avaliadora - Universidade Federal de Ouro Preto

Joana Ferreira do Amaral, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 02/06/2023



Documento assinado eletronicamente por **Joana Ferreira do Amaral, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 02/06/2023, às 14:06, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0535821** e o código CRC **857DA71E**.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a Deus e aos meus pais, que sempre foram o meu porto seguro, pois sem eles eu não teria chegado até aqui.

“O futuro tem muitos nomes: Para os fracos, é o inalcançável. Para os temerosos, o desconhecido. Para os valentes, é a oportunidade.” (Victor Hugo)

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por ter me concedido coragem para iniciar uma nova jornada e forças para concluí-la, pois sem Ele eu não estaria aqui. Agradeço também pelas pequenas conquistas dentro e fora da UFOP.

Em segundo lugar, agradeço aos meus pais por todo incentivo, apoio, amor incondicional, e por terem sonhado os meus sonhos, principalmente nos meus dias difíceis, pois foram um porto seguro fundamental para que eu prosseguisse.

Agradeço ao meu tio Darinho, por ter contribuído para a minha formação desde os meus primeiros anos de vida. Serei eternamente grata.

Agradeço ao Rodrigo, pelo amor, companheirismo nos meus dias bons e ruins, incentivo, paciência, pela transmissão de tranquilidade e por ter se dedicado, junto a mim, à várias etapas deste sonho.

Agradeço à Olívia, pelo companheirismo diário e amor incondicional.

Agradeço a minha tia Elisa, por ter feito parte da minha persistência na UFOP.

Agradeço à Ana e a Isa, pela amizade que transcende o sangue.

Agradeço ao meu amigo Estevam, por ser minha primeira amizade da UFOP e ter se feito presente durante toda trajetória. Agradeço pelo carinho, pelas conversas jogadas fora e por ter sido apoio nos momentos difíceis.

Agradeço à amizade e ao apoio das amigas que fui presenteada pela UFOP, pois se fizeram presente durante praticamente toda a graduação.

Agradeço ao professor Dr. Luiz Eduardo Sousa (LAFEx-UFOP) por ter acreditado em mim e ter me concedido a minha primeira oportunidade no universo da pesquisa.

Agradeço à professora Dra. Fernanda Guimarães (ENUT/UFOP), pela oportunidade de encarar a Nutrição Esportiva pela primeira vez, que foi fundamental para o meu crescimento pessoal.

Agradeço à professora Dra. Maria Célia (LMBT/UFOP), pelas oportunidades e contribuição para o meu crescimento no meio acadêmico.

Agradeço, em especial, à minha professora e orientadora Dra. Joana Ferreira do Amaral, líder de uma geração de pesquisadores a quem posso orgulhosamente denominar minha mentora. Agradeço por ter me aceitado como orientanda, pela paciência, pela dedicação inestimável, pela transmissão de tranquilidade nos momentos difíceis e por caminhar comigo até aqui.

Agradeço, enfim, à Escola de Nutrição da UFOP e aos demais servidores, por serem tão acolhedores e fundamentais para a minha formação.

## RESUMO

A Mucosite Intestinal (MI) é uma toxicidade grave, decorrente de diversas terapias anticâncer, como a quimioterapia (QT). É caracterizada pela injúria da mucosa de todo trato gastrointestinal (TGI) por meio de um processo inflamatório que desencadeia uma variedade de resultados adversos sintomáticos, podendo, na maioria das vezes, comprometer a continuidade do tratamento. Além disso, é uma complicação de alta incidência e clinicamente significativa em pacientes tratados com o quimioterápico 5-Fluorouracil (5-Fu). Entretanto, até o presente momento não existe uma terapia eficaz e aprovada para a MI, apenas cuidados paliativos. A Literatura atual vem evidenciando o potencial antioxidante e anti-inflamatório dos extratos naturais de algumas plantas, como a *Euterpe oleracea* Martius, popularmente conhecida como açaí, bem como, a capacidade de ser um bom adjuvante no tratamento oncoterápico. Dessa forma, o estudo visou avaliar, em um modelo animal e por meio da análise da interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), os efeitos antioxidante e antiinflamatório do açaí que podem ser promovidos na MI, induzida por 5-FU. Fêmeas de camundongo BALB/c foram o modelo animal experimental para a avaliação dos efeitos das propriedades da polpa do açaí. Foram divididas em grupos: 3 dias (3D) - CTL; Açaí; MUC e MUC+Açaí; 7 dias (7D) - CTL; Açaí; MUC e MUC+Açaí. Os grupos CTL+Açaí e MUC+Açaí, receberam um pré-tratamento de 200 g/kg (2%) com a polpa de açaí em uma dieta padrão por 14 dias. No 15º dia os grupos MUC e MUC+Açaí foram submetidos à indução da MI por meio da administração intraperitoneal, em dose única, do 5-FU (Fauldfluor®, Libbs). Após 3 e 7 dias após a droga, de acordo com o grupo, os animais foram eutanasiados e tiveram o seu intestino e linfonodos mesentéricos excisados, seccionados e armazenados para posterior análise da citocina IL-1 $\beta$ . As proteínas foram extraídas de acordo com protocolos pré-definidos e submetidas ao método ELISA. A suplementação de 2% de açaí não gerou resultados estatisticamente divergentes entre os grupos, permanecendo a IL-1 $\beta$  em níveis semelhantes em todos os grupos, em ambos os momentos. A partir dos resultados, inferiu-se que, provavelmente, o processo inflamatório na mucosite intestinal induzida por 5-FU não foi modulada pela via IL-1 $\beta$ . Portanto, é válido salientar que o sistema imunológico é dinâmico, necessitando de mais estudos acerca dos mecanismos da MI induzida por 5-FU, principalmente sobre os efeitos dos flavonoides nesses desfechos inflamatórios.

**Palavras-chave: Mucosite, Açaí, Antioxidantes, 5-fluorouracil, Inflamação, IL-1 $\beta$ .**

## ABSTRACT

Intestinal mucositis (IM) is a severe toxicity, resulting from several anticancer therapies, such as chemotherapy (QT). Characterized by mucosal injury of the entire gastrointestinal tract (GIT) through an inflammatory process that triggers a variety of symptomatic adverse results, and can most often compromise the continuity of treatment. In addition, it is a high incidence and clinically significant complication in patients treated with 5-Fluorouracil (5-Fu) chemotherapy. However, to date there is no approved effective therapy for IM, only palliative care. Several studies on the natural extracts of some plants, such as *Euterpe oleracea* Martius, popularly known as açai, have shown the antioxidant potential (ALEGRE, 2020), anti-inflammatory and the ability to be a good adjuvant in oncotherapeutic treatment. Thus, the study aimed to evaluate, in an animal model and through the analysis of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), the antioxidant and anti-inflammatory effects of açai that can be promoted in MI, induced by 5-FU. Female mice BALB/c were the experimental animal model for the evaluation of the effects of the properties of açai pulp. They were divided into groups: 3 days (3D) - CTL; Açai; MUC and MUC + Açai; 7 days (7D) - CTL; Açai; MUC and MUC + Açai. The CTL+Açai and MUC+Açai groups received a pretreatment with the açai pulp 200 g/kg (2%) in a standard diet for 14 days. On the 15th day the MUC and MUC+Açai groups were submitted to the induction of MI by intraperitoneal administration, in a single dose, of 5-FU (Fauldfluor, Libbs). After 3 and 7 days post-drug, according to the group, the animals were euthanized and had their intestines and mesenteric lymph nodes excised, sectioned and stored for further analysis of the cytokine IL-1 $\beta$ . The proteins were extracted according to pre-defined protocols and submitted to the ELISA method. The supplementation of 2% açai did not generate statistically divergent results between the groups, remaining IL-1 $\beta$  at similar levels in all groups, at both times. From the results, it was inferred that probably the inflammatory process in intestinal mucositis induced by 5-FU was not modulated by the IL-1 $\beta$  pathway. Therefore, it is worth noting that the immune system is dynamic, requiring further studies on the mechanisms of IM induced by 5-FU, especially on the effects of flavonoids in these inflammatory outcomes.

**Keywords: Mucositis, Açai, Antioxidants, 5-Fluorouracil, Inflammation, IL-1 $\beta$**

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Representação esquemática da mucosa bucal (Sonis, 2004).
- Figura 2** - Representação da fase de resposta primária ao dano na mucosite intestinal (Sonis, 2004).
- Figura 3** - Amplificação do sinal durante a mucosite (Sonis, 2004).
- Figura 4** - Fase de ulceração durante a mucosite intestinal (Sonis, 2004).
- Figura 5** - Estrutura química da uracila e do 5-Fluorouracil (5-FU) (Araújo, 2013).
- Figura 6** - Mecanismo de ação do quimioterápico 5-Fluorouracil (Laboratório da Biologia da Cicatrização, Ontogenia e Nutrição de Tecidos (LABCONTE)).
- Figura 7** - Representação de algumas fórmulas estruturais de compostos flavonoides (LI et al., 2020).
- Figura 8** - Palmeira Euterpe oleracea Martius.
- Figura 9**: Desenho esquemático do delineamento experimental.
- Figura 10** - Método do Ensaio Imunoenzimático (ELISA) do tipo sanduíche.
- Figura 11** - Avaliação da concentração do mediador pró-inflamatório IL-1 $\beta$  no órgão linfonodo mesentérico, entre os grupos controle, açaí, mucosite e mucosite+açaí, nos tempos D3 e D.
- Figura 12** - Avaliação da concentração do mediador pró-inflamatório IL-1 $\beta$  no órgão íleo, entre os grupos controle, açaí, mucosite e mucosite+açaí, nos tempos D3 e D7.
- Figura 13** – Placas após o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) utilizando os kits R&D Systems® para IL-1 $\beta$  (DY401), utilizando placas de poliestireno com 96 poços cada. Todos os ensaios foram realizados de acordo com as instruções do fabricante.

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1** - Composição nutricional dos diferentes genótipos do açaí (**EMBRAPA, 2016**).

**Tabela 2:** Composição nutricional das dietas experimentais AIN-93M padrão e dieta com açaí.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**3D** - Três dias

**5-FU** - 5-Fluorouracil

**7D** - Sete dias

**AIN-93**- American Institute of Nutrition 93

**Bcl-2** - Proteína de Poliubiquitinação

**BSA** - Solução Albumina de Soro Bovino

**CAT** - Catalase

**CCA** - Centro de Ciência Animal

**CEUA** - Comissão de Ética no Uso de Animais

**Cox 2** - Ciclooxigenase 2

**CTL** - Controle

**CT** - Quimioterapia

**D0** - Dia Zero

**DII** - Doenças Inflamatórias Intestinais

**DNA** - Ácido Desoxirribonucleico

**DP** - Desvio Padrão

**EDTA** - Ácido etilenodiaminotetracético

**EGCG** - (-)-epigallocatequina-3-galato

**ELISA** - Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

**EMBRAPA** - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

**FdUMP** - Fluorodeoxiuridina Monofosfato

**FdUTP** - Fluorodeoxiuridina Trifosfato

**FUTP** - Fluoruridina Trifosfato

**GSSG** - Dissulfeto de Glutaciona

**GSH** - Glutaciona Reduzida

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** - Peróxido de Hidrogênio

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** - Ácido Sulfúrico

**IL** - Interleucina

**IL-1** - Interleucina-1

**IL-1 $\beta$**  - Interleucina-1 Beta

**IL-5** - Interleucina-5

**IL-6** - Interleucina-6

**IL-18** - Interleucina-18

**INCA** - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva

**iNOS** - Óxido Nítrico Sintase

**IP** - Injeção Intraperitoneal

**JNK** - c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal quinase

**LABCONTE** - Laboratório da Biologia da Cicatrização, Ontogenia e Nutrição de Tecidos

**LnM** - Linfonodos Mesentéricos

**MAPK** - Proteína Quinase Ativada por Mitógeno

**MCP1** - Proteína Quimiotática de Monócitos 1

**MO** - Microrganismos

**MI** - Mucosite Intestinal

**MPO** - Mieloperoxidase

**mRNA** - RNA mensageiro

**MUC** - Mucosite

**NaCl** - Cloreto de Sódio

**NF- $\kappa$ B** - Fator Nuclear kappa B

**Nrf2** - Fator Nuclear Eritróide 2 relacionado ao fator 2

**PAF** - Fator Ativador de Plaquetas

**PBS** - Phosphate-Buffered Saline

**PCNA** - Antígeno de Proliferação Celular

**pH** - Potencial Hidrogeniônico

**RIPA** - Solução Tampão para Ensaio de Radioimunoprecipitação

**RNA** - Ácido Ribonucleico

**ROS** - Espécies Reativas de Oxigênio

**RT** - Radioterapia

**RT-CT** - Combinação radioterapia-quimioterapia

**SDS** - Dodecil sulfato de sódio

**SO** - Estresse Oxidativo

**SOD** - Superóxido Dismutase

**TCTH** - Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas

**TGI** - Trato Gastrointestinal

**TJs** - Junções Apertadas

**TLR** - Receptor Toll-Like

**TMB** - Solução Cromogênica de Tetrametilbenzidina

**TNBS** - Ácido 2,4,6-trinitrobenzenossulfônico

**TNF- $\alpha$**  - Fator de Necrose Tumoral alfa

**TRIS** - tris-(hidroximetil)-aminometano

**TS** - Timidilato Sintase

## SUMÁRIO

### Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>19</b>
2.1 Mucosite Intestinal .....	19
2.2 5-Fluorouracil.....	24
2.3 Interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ).....	25
2.4 Flavonoides e Compostos Bioativos .....	27
2.5 Açaí (Euterpe oleracea Martius) .....	29
<b>3. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>33</b>
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>34</b>
4.1 Objetivo Geral.....	34
4.2 Objetivos Específicos .....	34
<b>5. METODOLOGIA .....</b>	<b>35</b>
5.1 Protocolo experimental .....	35
5.1.1 Animais e dieta experimental.....	35
5.1.2 Delineamento experimental.....	36
5.1.3 Indução da mucosite intestinal.....	37
5.1.4 Eutanásia e coleta de material biológico.....	38
5.2 Variáveis avaliadas .....	38
5.2.1 Ingestão alimentar, peso corporal e registro da sobrevivência .....	38
5.2.2 Avaliação da diarreia .....	39
5.3 Dosagens bioquímicas e imunoenzimáticas .....	39
5.3.1 Extração de proteínas.....	39
5.3.2 Determinação da concentração de IL-1 $\beta$ nos tecidos: Linfonodos Mesentéricos e íleo .....	40
5.4 Análise estatística .....	42
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>43</b>
6.1 Linfonodo Mesentérico .....	43
6.2 Íleo .....	44
<b>7. DISCUSSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>8. CONCLUSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>51</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O câncer é um problema de saúde grave de impacto mundial. No Brasil, por exemplo, essa patologia levou ao óbito 626.030 indivíduos, de ambos os sexos, no ano de 2020 (INCA, 2021). Ainda de acordo com o INCA, estima-se que o Brasil enfrentará mais 625 mil novos casos de câncer entre os anos de 2020 a 2022 (INCA, 2020).

Devido ao crescimento expressivo de casos, também cresceram as buscas por tratamentos eficazes que permitam uma maior sobrevida, um exemplo disso é o quimioterápico 5-Fluorouracil (5-FU), uma droga do tipo antimetabólito, capaz de interferir na síntese de RNA e DNA. A partir da administração desse tipo de tratamento quimioterápico (CT), também incluindo outros tratamentos como a radioterapia (RT), combinação de RT e CT (RT-CT) e transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH), espécies reativas de oxigênio (EROS) são geradas em excesso causando danos ao DNA, às células e aos tecidos adjacentes (PANDOLFO, 2013).

O tratamento quimioterápico atua no organismo interferindo na síntese de RNA e DNA das células cancerosas, mas como não é um tratamento com especificidade celular e tem seus efeitos mais acentuados em células que possuem elevado grau de renovação celular, consequentemente afetam as células do trato gastrointestinal (TGI), causando a mucosite intestinal, termo clínico para definir algumas das reações adversas provocadas pelas terapias antineoplásicas (SILVA, 2015).

De acordo com dados apresentados pela Sociedade Brasileira de Oncologia Clínica (SBOC), entre 15 a 40% dos pacientes que são submetidos a esse tipo de terapia apresentarão algum grau de mucosite, o que pode atingir os 100% no caso dos pacientes que foram submetidos ao transplante de medula óssea (SBOC, 2008).

O tratamento é intenso e leva o indivíduo a um momento de diversas manifestações clínicas, como diarreia, anorexia, dores, imunossupressão, risco de infecções secundárias e oportunistas, redução ou restrição alimentar e desnutrição. Entretanto, até o presente momento não existe uma terapia aprovada para a MI, existem apenas formas de se amenizar essas reações, como é determinado pela Diretriz “MASCC/ISOO Clinical Practice Guidelines For The Management of Mucositis Secondary to Cancer Therapy (2020)”. Ela sugere cuidados como a

higiene oral, alguns agentes anti-inflamatórios, fotobiomodulação, crioterapia, antimicrobianos, agentes de revestimento, anestésicos, analgésicos, fatores de crescimento e citocinas e agentes naturais e diversos.

No entanto, por um outro prisma, alguns estudos evidenciam as propriedades de substâncias como os flavonoides que são um grupo de substâncias polifenólicas naturais, com capacidade antioxidante, anti-inflamatória e de redução de doenças. Eles podem ser encontrados de forma abundante em diversas espécies do reino vegetal, como frutas, chás e grãos. Entretanto, embora muitos estudos demonstrem os seus benefícios, o conhecimento acerca da sua bioatividade ainda está escasso, requerendo mais estudos (SHEN, 2022).

O açaí, fruto proveniente do açaízeiro da espécie *Euterpe oleracea* Martius, é amplamente cultivado na região Norte do Brasil, principalmente na Amazônia, e é considerado um exemplo de fruta abundante em flavonoides. Devido a sua popularização no Brasil e a fácil aceitação pela população, chamou os olhares dos pesquisadores para os seus possíveis benefícios. Dentre as suas propriedades, se destaca a alta capacidade antioxidante, relacionada à presença de ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas, que pode ter participação na redução do estresse oxidativo e na redução do dano ao DNA. (ALEGRE *et al.*, 2020).

Tendo isso em vista, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos dos flavonoides presentes no *Euterpe oleracea* Martius (Açaí) no fígado e linfonodos mesentéricos (LnM) de camundongos BALB/c, suplementados com a polpa de açaí 2% e que sofreram a indução da MI por 5-FU.

---

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Mucosite Intestinal

A mucosite intestinal (MI), assim como descreve a literatura, é uma inflamação tóxica do revestimento do trato gastrointestinal (TGI) que pode causar danos, alterações funcionais e imunológicas, comprometendo a homeostase intestinal, desde a boca ao ânus (BATISTA, 2020).

Geralmente a MI é uma consequência de tratamentos quimioterápicos ou radioterápicos, como, por exemplo, o 5-FU. A MI é um tratamento que facilmente desencadeia efeitos colaterais, os quais podem atingir cerca de 10 a 40% dos pacientes que estão em dose padrão, podendo chegar a 100% dos pacientes que estão em altas doses. Dentre os sintomas, pode-se destacar a diarreia, mal estar, náuseas, vômitos, dores, edemas, sangramentos, ulceração, e na maior parte das vezes são sintomas tão intensos que comprometem a continuidade do tratamento, diminuem a taxa de sobrevida e podem levar à morte. (KEEF et al., 2000; WU et al., 2011)

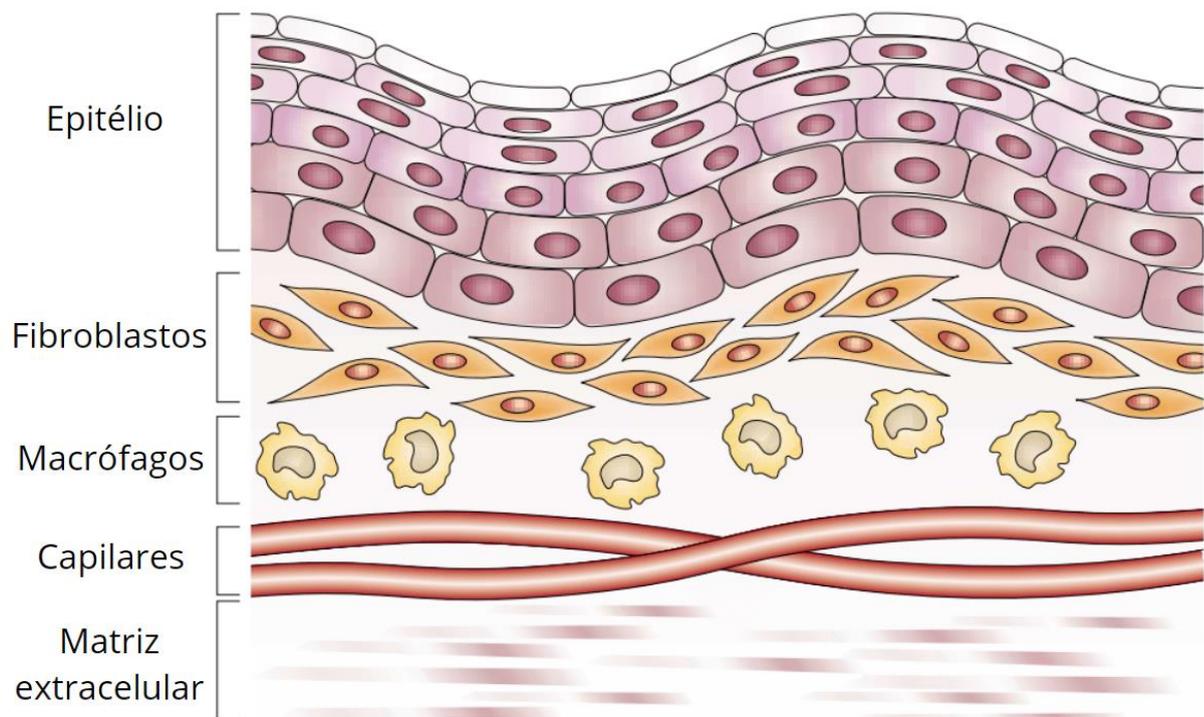
Estes sintomas se devem ao fato de que, embora os tratamentos antineoplásicos visem retardar ou interromper o crescimento de células com alto grau de renovação celular, como as células cancerígenas, eles também afetam as células saudáveis, visto que não possuem especificidade para o câncer. (RIBEIRO, et al., 2016)

Dentre os tecidos com alto grau de renovação celular está o intestino, formado pelas camadas epitelial, lâmina própria e a muscular. E o quimioterápico atua, por meio de fases, causando defeitos no processo de divisão e na renovação celular. Correlacionado a isso, está a produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), as interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6) e interleucina IL-1 $\beta$ , as quais têm um papel fundamental em doenças inflamatórias, visto que potencializam a resposta inflamatória e promove recrutamento e ativação de outros elementos inflamatórios, o que faz com que haja uma produção exacerbada de mais mediadores inflamatórios (SOARES, 2008; VEZZA et al., 2016).

De acordo com Sonis (2004), a MI não é apenas uma consequência da lesão epitelial, é um processo “de fora para dentro”, causando danos à fita de DNA e nas células baso-epiteliais. A patogênese da MI advém de uma série dinâmica e complexa de eventos biológicos, os quais ocorrem em diferentes células e tecidos e pode ser dividida em fases distintas: *Iniciação*: ela

ocorre, normalmente, logo após o início do tratamento por radiação (RT) ou quimioterapia (CT). Durante esta fase, como pode ser visto na Figura 1 (SONIS, 2004), a mucosa aparenta estar íntegra, no entanto, são gerados danos ou quebras das fitas de DNA, culminando em lesões diretas às células do epitélio basal e das células do tecido subjacente. Rente à esta etapa ocorre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), o que desempenha um papel mediador crucial de eventos biológicos a jusante (SONIS, 2004).

**Figura 1 - Representação esquemática da mucosa bucal**

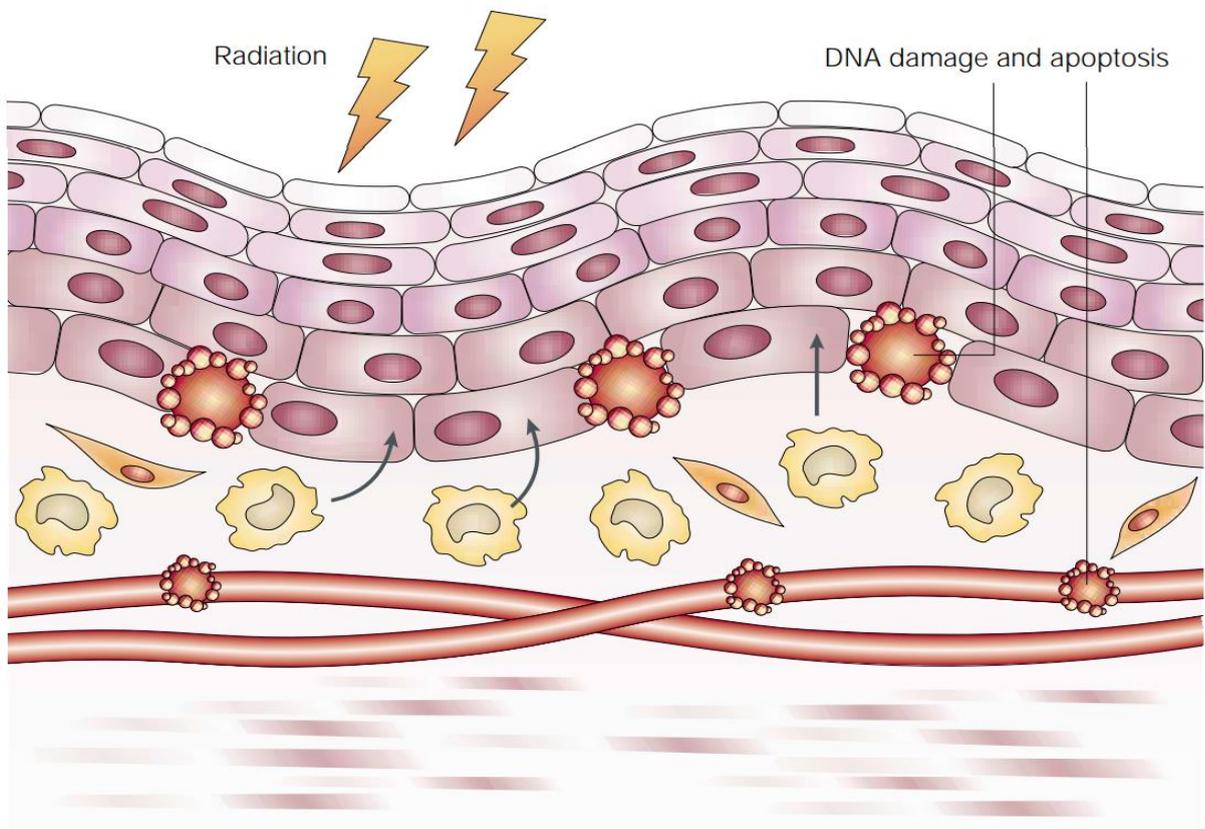


A mucosa oral é composta por epitélio estratificado escamoso, que consiste em fibroblastos, capilares sanguíneos, células inflamatórias (macrófagos) e extracelulares e matriz extracelular (ECM). O epitélio que reveste a mucosa móvel (presente nas bochechas, lábios, superfície ventral da língua, assoalho da boca e palato mole) não é um epitélio queratinizado. Embora todos os tecidos da boca sejam suscetíveis à ocorrência de mucosite induzida por radiação, apenas a mucosa denominada móvel desenvolve lesão induzida por quimioterapia. O epitélio oral, assim como a pele, é um tecido que está em constante renovação celular, o que favorece a deposição do quimioterápico nestas áreas, consequentemente favorece também os seus efeitos adversos. **Fonte: Sonis, 2004.**

*Resposta primária ao dano:* quando ocorre a lesão no tecido, vários fatores são ativados, como o fator nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) e o NRF2, e associados a geração de ROS, regulam positivamente

a resposta ao dano, os genes, a apoptose e as alterações endoteliais iniciais, assim como pode ser visto na Figura 2 (SONIS, 2004). Por conseguinte, quanto mais lesão tecidual é causada, mais células imunes, como macrófagos, atuam secretando citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, repercutindo em um loop de feedback positivo e amplificando os efeitos da CT e RT, o que influencia na possibilidade de danos precoces à mucosa. Visto que o TNF- $\alpha$  é capaz de ativar o NF- $\kappa$ B e a esfingomielinase na mucosa, mais apoptose celular é causada e nesta fase, os danos às células-tronco epiteliais são responsáveis pela perda da capacidade de renovação, com isso, o epitélio se afina e os sintomas da MI são sentidos pelos pacientes.

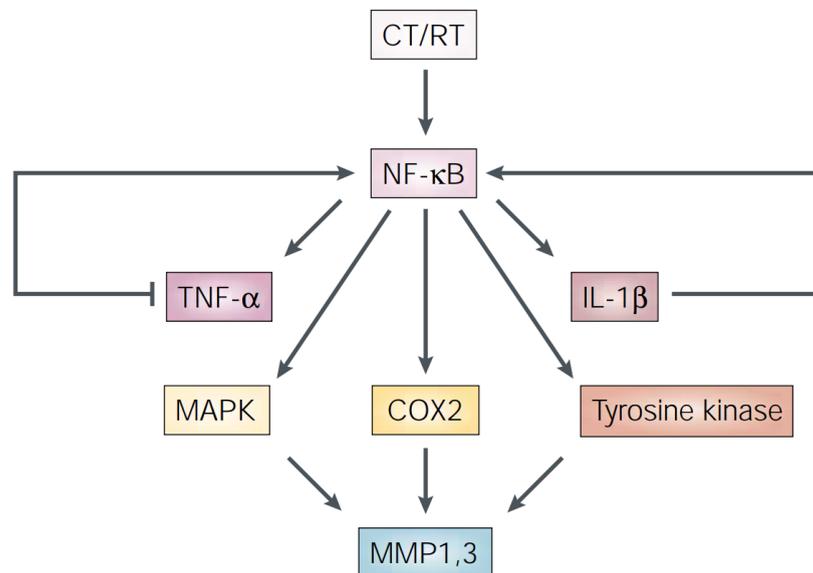
**Figura 2 - Representação da fase de resposta primária ao dano na mucosite intestinal**



A patologia mucosite, induzida por radiação ou por quimioterapia, é iniciada por lesão direta às células epiteliais basais e às células do tecido subjacente. Durante esta fase, a quebra da fita de DNA pode resultar em morte celular ou lesão. A lesão do tipo não-DNA é iniciada por meio de mecanismos, sendo alguns deles mediados pela geração de espécies reativas de oxigênio. A radiação e a quimioterapia ativam várias vias no endotélio, fibroblastos e epitélios, o que induz a transcrição fatores como fator nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) e NRF2 levando à regulação positiva de genes que modulam a resposta ao dano. As células imunes (macrófagos) produzem citocinas, como o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e a interleucina 6, causando mais lesões teciduais. Essas citocinas também participam de um loop de feedback positivo que amplifica os efeitos originais da radiação e da quimioterapia. Por exemplo, o TNF- $\alpha$  ativa o NF- $\kappa$ B e atividade da esfingomielinase na mucosa, levando a mais morte celular. **Fonte: Sonis, 2004.**

*Amplificação do sinal:* o tratamento, quimioterápico ou radioterápico, são responsáveis pela ativação de alguns fatores, como o (NF- $\kappa$ B), o qual regula, positivamente, genes que influenciam na secreção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . Estas, por sua vez, amplificam o sinal e podem ativar o NF- $\kappa$ B, resultando na transcrição de genes que codificam a proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), ciclooxigenase 2 (COX2) e moléculas sinalizadoras de tirosina-quinase, levando à ativação da metaloproteinases de matriz (MMPs) 1 e 3, provocando lesão tecidual. Nessa fase os pacientes ainda apresentam sintomas leves, o que se altera no decorrer da ulceração. Esta fase é demonstrada na Figura 3, a seguir.

**Figura 3 - Amplificação do sinal durante a mucosite**

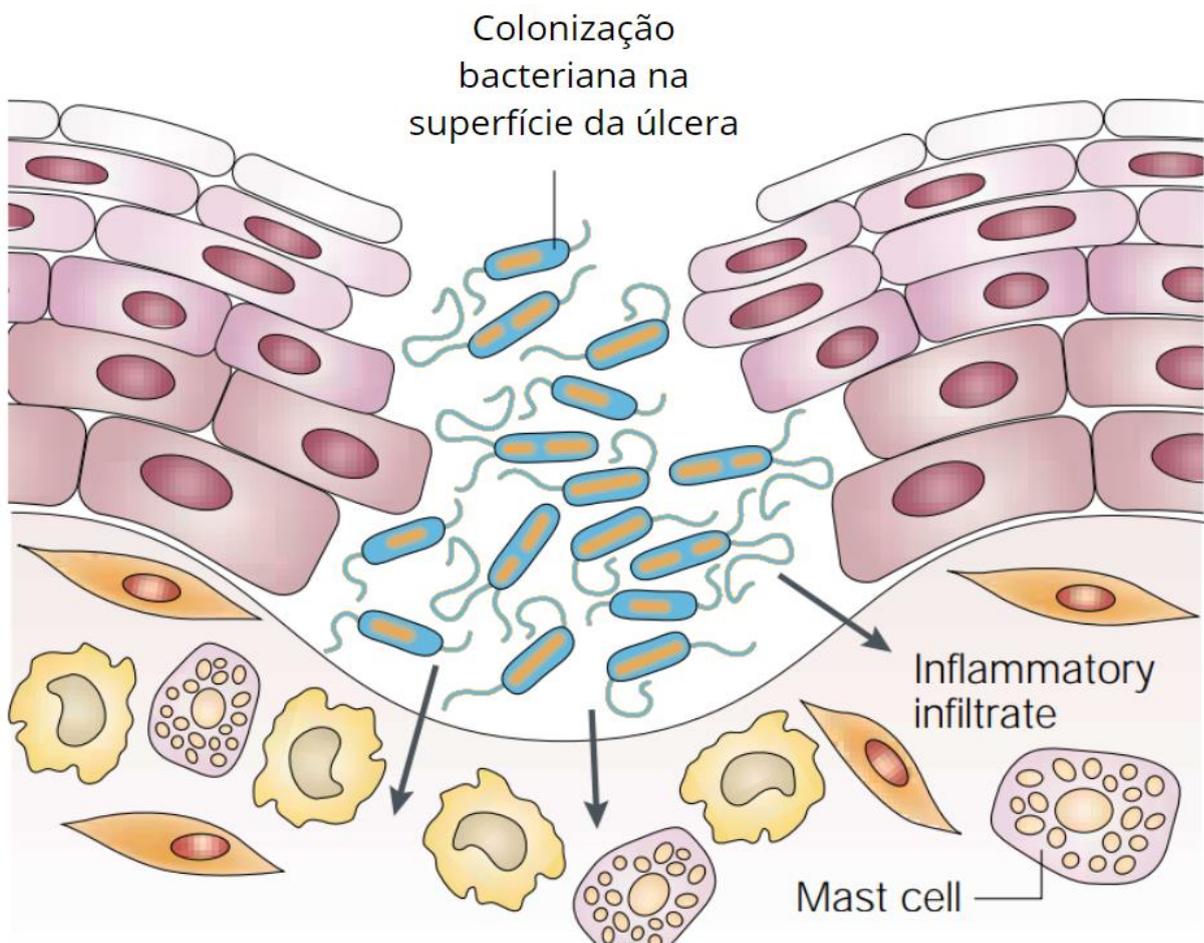


Os tratamentos quimioterápicos (CT) e radioterápicos (RT) quimioterapia (TC) ativam o fator de transcrição fator nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) no epitélio, células endoteliais e mesenquimais e macrófagos, culminando na regulação positiva de genes e à produção de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). Essas citocinas amplificam a sinal primário ou pode ativar NF- $\kappa$ B em outras células, que resulta na transcrição de genes que codificam proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), ciclooxigenase 2 (COX2) e moléculas sinalizadoras de tirosina-quinase. A sinalização dessas vias leva à ativação de metaloproteinases de matriz (MMPs) 1 e 3 em células do epitélio e lâmina própria, o que resulta em lesão tecidual.  
**Fonte: Sonis, 2004.**

*Ulceração:* como pode ser visto posteriormente na Figura 4, alguns dias após o início do tratamento quimioterápico, ocorre um infiltrado leucocitário de macrófagos, plasma e mastócitos, com a consequente desintegração do epitélio do TGI. Durante esta fase, pode ser

observada a piora dos efeitos colaterais debilitantes do tratamento e, devido a desintegração da camada que reveste as terminações nervosas, também pode ser observada a intensificação das dores. Além disso, as bactérias que habitam na região oral colonizam a úlcera e invadem a camada submucosa, ativando células mononucleares que estimulam a secreção de citocinas, as quais podem induzir a expressão de genes pró-apoptóticos que potencializam a injúria tecidual.

**Figura 4 - Fase de ulceração durante a mucosite intestinal**



Cerca de 10 dias após a interrupção da administração da droga estomatotóxica, ou da radioterapia, o epitélio se desintegra e ocorre ulceração. A fase ulcerativa é extremamente dolorosa, devido aos danos causados à barreira protetora das terminações nervosas. Simultaneamente, as bactérias orais colonizam a úlcera, onde liberam produtos da parede celular que penetram no tecido conjuntivo e induzem a secreção de outras citocinas. O infiltrado inflamatório é mais robusto durante a fase ulcerativa e consiste em macrófagos, plasma e mastócitos. Dependendo do estado da medula óssea do paciente, neutrófilos também podem estar presentes. Também durante esta fase pode ocorrer a formação de uma “pseudomembrana”, causada por um exsudato fibrinoso carregado de bactérias que recobre a úlcera. **Fonte: Sonis, 2004.**

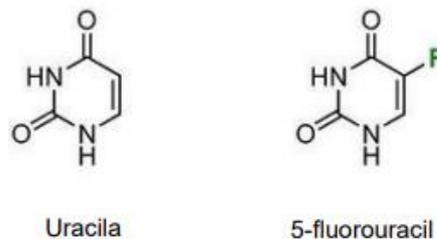
*Cicatrização:* A cura, por fim, é atingida alguns dias após a interrupção ou conclusão do

tratamento, com a cicatrização espontânea das lesões. É o momento em que o epitélio do TGI migra das margens das lesões, prolifera e tenta regenerar a camada desintegrada.

## 2.2 5-Fluorouracil

O antimetabólito 5-Fluorouracil tem sido empregado, desde a década de 50, no tratamento de diversos tipos de câncer, como tumores do TGI, reto, mama, cabeça e pescoço (GREM, 1997; HARRIS et al., 2005.) Trata-se de um composto químico orgânico análogo da uracila e estruturalmente similar ao DNA e ao RNA, conforme exposto na Figura 5.

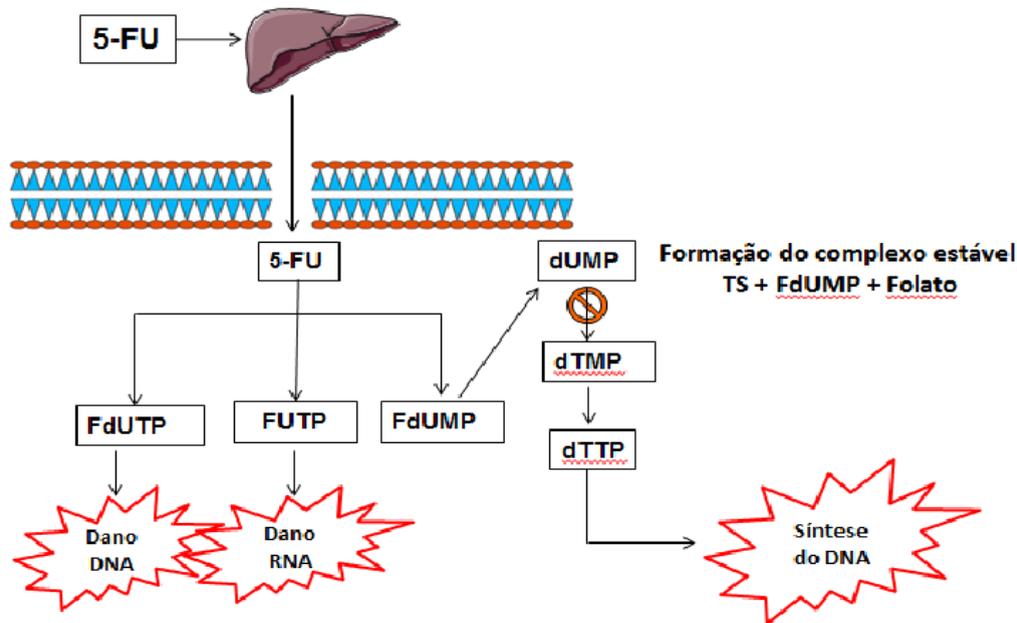
**Figura 5** - Estrutura química da uracila e do 5-fluorouracil (5-FU)



O composto 5-FU apresenta grande semelhança estrutural quando comparado a uracila, sendo capaz de substituí-la e causar alterações no ciclo celular. **Fonte: ARAÚJO, 2013.**

Em seguida, na Figura 6, os mecanismos de ação do 5-FU são demonstrados, pois, devido a semelhança estrutural, o 5-FU é capaz inibir a Timidilato sintase e interferir no processo de biossíntese do uracil-fosfato, que seria convertido em timidina. A timidina, por sua vez, é essencial para a síntese de DNA, o que repercute com alterações no ciclo celular durante a duplicação, levando a quebra ou destruição do DNA e apoptose. Além disso, como outro mecanismo de citotoxicidade, o 5-FU é capaz de incorporar uma “falsa uracila” ao RNA, permitindo que células neoplásicas que não estão em divisão tenham o seu processamento de RNAm (RNA mensageiro) e a síntese proteica comprometidas.

**Figura 6** - Mecanismo de ação do quimioterápico 5-fluorouracil



A citotoxicidade do 5-FU acontece por meio de três mecanismos: 1) incorporação do fluorouridina trifosfato (FUTP) no RNA; 2) incorporação do fluorodeoxiuridina trifosfato (FdUTP) no DNA; 3) inibição da enzima Timidilato Sintase (TS). O quimioterápico pode ser transformado em fluorodeoxiuridina monofosfato (FdUMP) e se ligar a Timidilato Sintase (TS), como forma de inibir a sua atividade e causar um desequilíbrio na síntese dos nucleotídeos. **Fonte: Laboratório da Biologia da Cicatrização, Ontogenia e Nutrição de Tecidos (LABCONTE).**

Além disso, essa fluoropirimidina - 5FU, em particular, vem sendo evidenciada ao longo dos anos como uma das drogas mais eficientes em aumentar a sobrevivência dos pacientes, principalmente em casos de câncer metastático. Tal circunstância converge com a justificativa da necessidade de mais estudos acerca das suas reações adversas, para que tratamentos eficazes sejam uma realidade para os pacientes (GIFONI, 2012).

### 2.3 Interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ )

Dentre os 11 membros da família IL-1, a citocina interleucina-1 $\beta$  é a mais estudada e bem caracterizada. A IL-1 $\beta$  é produzida e secretada por diferentes tipos celulares, incluindo as células imunes e as não imunes. No sistema imune inato, ela é capaz de ativá-lo por meio de uma sinalização após o processamento pela Caspase-1 e ativação por meio do inflamassoma, amplificando a reação imune e promovendo resposta pró-inflamatória, a qual é altamente eficiente na resposta de defesa do hospedeiro à infecção e lesão, com ampla capacidade de

resolução de processos inflamatórios agudos e no início de respostas antitumorais adaptativas (BENT et al., 2018).

Todavia, como descrito por Apte *et al.*, a IL-1 $\beta$  não apenas desempenha um papel fundamental na resolução e mediação da inflamação, mas também detém uma elevada correlação entre níveis elevados de IL-1 $\beta$  e um ruim prognóstico do câncer, da progressão do tumor e da metástase. Alguns mecanismos dos quais a IL-1 $\beta$  promovem a neoangiogênese e mediadores solúveis em fibroblastos que estão fortemente associados ao câncer e à sinalização antiapoptótica em tumores (BENT et al., 2018).

Além de ter um papel crucial em diversas doenças, como câncer, a IL-1 $\beta$  também exerce participação na patogênese das doenças inflamatórias intestinais (DII), como a Doença de Crohn (DC), que pode advir da desregulação da resposta da imunidade inata e da homeostase intestinal, contribuindo para a inflamação intestinal. Assim como acontece na MI, nas DII o infiltrado de neutrófilos contribuem para o estresse oxidativo (SO), o que ativa enzimas proteolíticas e promove danos na mucosa intestinal, propiciando a entrada de células inflamatórias, ulcerando a mucosa e aumentando da gravidade da doença (ZHEN; ZHANG 2019)

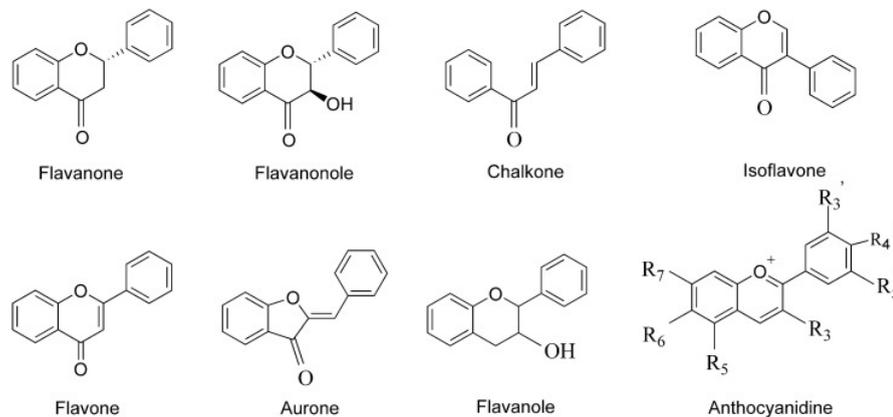
Além disso, foi observado por Kaminsky *et al.* que, embora o trato gastrointestinal (TGI) seja revestido por células epiteliais e as junções apertadas (TJs), o que forma uma barreira contra o influxo de substâncias nocivas e microrganismos (MO), se as citocinas como a IL-1 $\beta$  estiverem em níveis aumentados, a inflamação intestinal é promovida, aumentando a permeabilidade intestinal e favorecendo a entrada de substâncias e MO. Esse aumento da permeabilidade está relacionado ao agravamento de doenças intestinais e ao desenvolvimento do câncer.

Em alguns estudos já vêm sendo investigada a participação de mediadores inflamatórios na patogênese da MI, como pode ser visto no estudo de Logan *et al.* Eles observaram uma imunexpressão significativa de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  em ratos que foram induzidos a MI por 5-FU. Ainda em estudos de Logan e colaboradores, foi correlacionado o aumento de IL-1 $\beta$  no tecido do intestino delgado à apoptose de células intestinais, com a redução das criptas intestinais. Também foi percebido que quando um antagonista da IL-1 $\beta$  foi administrado houve um bloqueio de seus efeitos deletérios.

## 2.4 Flavonoides e Compostos Bioativos

Os flavonoides são compostos com capacidade antioxidante, de estrutura fenólica, que podem ser encontrados em diversas espécies do reino vegetal, representando o maior grupo de polifenóis. As fórmulas de alguns flavonoides podem ser observadas na Figura 7.

**Figura 7** - Representação de algumas fórmulas estruturais de compostos flavonoides



Representação de estruturas químicas de diversos compostos flavonoides. **Fonte:** LI et al., 2020.

Enquanto nas plantas eles fornecem proteção contra ameaças bióticas e abióticas, contra a radiação emitida pelo sol e também conferindo odor, cor e sabor, para os humanos eles vêm sendo descritos na Literatura, há muitas décadas, como fitoquímicos terapeuticamente ativos contra uma vasta gama de doenças, como doenças cardiovasculares, doenças inflamatórias, distúrbios neurodegenerativos e estresse oxidativo. Além disso, também apresentam efeitos antimicrobianos, antivirais, anti-inflamatórios, antialérgicos, sinalização molecular de diversas vias (PONTE, et al., 2021; KASHYAP, et al., 2019; OLIVEIRA, et al., 2006).

Não obstante, os flavonoides têm um papel de exímia importância na nutrição humana, pois estão relacionados ao equilíbrio das moléculas oxidantes e antioxidantes, visto que atuam como sequestradores de radicais livres em enzimas do sistema antioxidante (Superóxido Dismutases (SODs), Catalase (CAT), Ciclooxygenase-2 (COX-2), Glutathione (GSH) e

Dissulfeto de Glutathione (GSSG)), como forma de reduzir o estresse oxidativo e proteger as células e moléculas do organismo humano.

O que se observa nos pacientes oncoerápicos, principalmente aqueles que apresentam a MI, é que estão em um estado de intensa inflamação, e a inflamação está frequentemente relacionada aos danos mitocondriais, os quais estão diretamente ligados a liberação de mais ROS. Em contrapartida, estes mesmos pacientes estão em um baixo estado antioxidante, com elevados níveis de estresse oxidativo. Contudo, diversas pesquisas evidenciam que o uso de antioxidantes poderia surtir efeitos positivos, reduzindo os níveis de EROS e bloqueando o dano celular (LI *et al.*, 2020). Por motivos semelhantes, tem sido estudado os efeitos destes compostos da dieta sobre as patologias e sua patogênese.

Em seu estudo experimental, Park *et al.* tratou Células CAL-27 e Ca9-22 com solução do flavonoide fisetina e pode observar que ele foi capaz de induzir por meio da via mitocondrial da apoptose celular em carcinoma de células escamosas orais humanas.

Em outro estudo, Zhang *et al.*, demonstrou os efeitos positivos do (-)-epigallocatequina-3-galato (EGCG), composto presente no chá verde, ao inibir o câncer de pulmão, a partir da inibição da via de sinalização do NF- $\kappa$ B.

## 2.5 Açaí (*Euterpe oleracea* Martius)

Figura 8 - Palmeira *Euterpe oleracea* Martius



FONTE: <http://www.florestaaguadonorte.com.br/ga/fruto-do-mato/a%C3%A7ai/>

A *Euterpe oleracea* Martius é uma palmeira cespitosa, também conhecida como “açazeiro”, a qual é amplamente cultivada na região Norte do Brasil, principalmente na Amazônia (EMBRAPA, 2008). E, a partir do fruto do açazeiro, popularmente conhecido pelo nome “açaí”, é comum se obter a polpa. Não existem muitos estudos que investiguem a qualidade nutricional do açaí, no entanto, em um estudo realizado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), representado na Tabela 1, o qual visava avaliar a composição nutricional do fruto. A partir deste estudo pode-se observar que, além da presença de lipídios, fibras, carboidratos, quilocalorias, existe uma quantidade descomunal de compostos fenólicos e antocianinas.

**Tabela 1** - Composição nutricional dos diferentes genótipos do açaí

	<i>Genótipos</i>					
	<i>Açaí Branco AM11</i>	<i>Açaí Branco AM12</i>	<i>Açaí Branco AM13</i>	<i>Açaí Roxo L22PL17</i>	<i>Açaí Roxo L4PL16</i>	<i>Açaí Roxo L14 PL 04</i>
<i>pH</i>	4,74 ±0,04 <sup>d</sup>	5,03 ±0,02 <sup>c</sup>	5,08 ±0,03 <sup>c</sup>	5,22 ±0,01 <sup>ab</sup>	5,23 ±0,01 <sup>a</sup>	5,18 ±0,01 <sup>b</sup>
<i>Sólidos solúveis (°Brix)</i>	1,37 ±0,06 <sup>d</sup>	1,70 ±0,10 <sup>d</sup>	2,23 ±0,06 <sup>d</sup>	5,10 ±0,00 <sup>b</sup>	6,46 ±0,58 <sup>a</sup>	3,4 ±0,59 <sup>c</sup>
<i>Lipídios Totais (%)</i>	52,28 ±0,25 <sup>a</sup>	39,96 ±0,44 <sup>e</sup>	51,36 ±0,06 <sup>b</sup>	42,33 ±0,31 <sup>d</sup>	47,33 ±0,06 <sup>c</sup>	30,74 ±0,55 <sup>f</sup>
<i>Proteínas Totais (%)</i>	9,84 ±0,09 <sup>c</sup>	11,28 ±0,12 <sup>a</sup>	10,63 ±0,03 <sup>b</sup>	9,12 ±0,05 <sup>d</sup>	8,70 ±0,07 <sup>e</sup>	8,85 ±0,09 <sup>e</sup>
<i>Fibras Totais (%)</i>	14,05 ±0,08 <sup>d</sup>	22,50 ±0,39 <sup>a</sup>	16,05 ±0,22 <sup>c</sup>	12,41 ±0,12 <sup>e</sup>	11,31 ±0,08 <sup>f</sup>	20,07 ±0,26 <sup>b</sup>
<i>Cinzas (%)</i>	3,31 ±0,13 <sup>c</sup>	3,17 ±0,07 <sup>c</sup>	2,65 ±0,10 <sup>d</sup>	3,96 ±0,09 <sup>b</sup>	3,78 ±0,05 <sup>b</sup>	4,68 ±0,02 <sup>a</sup>
<i>Carboidratos (%)</i>	32,63 ±0,28 <sup>d</sup>	40,61 ±0,49 <sup>bc</sup>	32,28 ±0,05 <sup>d</sup>	43,46 ±0,25 <sup>b</sup>	36,04 ±5,36 <sup>cd</sup>	54,02 ±0,54 <sup>a</sup>
<i>Valor energético (kcal/100g)</i>	611,84 ±1,15 <sup>a</sup>	522,99 ±1,97 <sup>d</sup>	589,97 ±0,18 <sup>ac</sup>	580,73 ±1,01 <sup>bc</sup>	592,21 ±21,44 <sup>ab</sup>	518,57 ±2,16 <sup>d</sup>
<i>Compostos fenólicos (mg AGE/100 g)</i>	594,08 ±10,97 <sup>d</sup>	606,82 ±5,54 <sup>d</sup>	151,22 ±3,28 <sup>e</sup>	2335,11 ±24,94 <sup>a</sup>	1526,39 ±5,53 <sup>c</sup>	1646,90 ±12,19 <sup>b</sup>
<i>Antocianinas Totais (mg/100g)</i>	nd	nd	nd	1138,59 ±20,87 <sup>a</sup>	632,37 ±24,08 <sup>b</sup>	434,85 ±3,20 <sup>c</sup>
<i>Antocianinas monoméricas(mg/100g)</i>	nd	nd	nd	952,74 ±1,84 <sup>a</sup>	527,35 ±30,57 <sup>b</sup>	361,10 ±6,52 <sup>c</sup>

\* Médias de três repetições ± desvio padrão (base seca); nd = não detectado pelo método utilizado. Em cada linha, médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A figura busca evidenciar a composição nutricional dos diferentes genótipos do açaí, inclusive o alvo do estudo, o açaí roxo, fruto da *Euterpe oleracea* Martius. **Fonte: EMBRAPA, 2016.**

Dada a importância de se ter uma alternativa eficaz no tratamento da MI, muitos nutrientes imunomoduladores estão sendo estudados, como aminoácidos, probióticos, prebióticos, pós-bióticos, frutooligossacarídeos e extratos naturais como o açaí, visando sua capacidade de promoção da redução do estresse oxidativo e da resposta inflamatória.

No fruto do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) existem diversos compostos bioativos ( $\alpha$ -tocoferol, antocianinas e flavonoides) e ele apresenta elevada atividade antioxidante e anti-inflamatória, pois esses compostos bioativos são capazes de interagir com fatores de transcrição e enzimas atuantes no processo de combate ao estresse oxidativo (ALEGRE, 2020).

Acerca desses efeitos positivos, Poulouse *et al.* (2016) demonstrou em seu estudo a capacidade do extrato da polpa de açaí em modular o estresse oxidativo, a inflamação, a autofagia e a expressão do Nrf2 no hipocampo e córtex frontal, em um modelo animal. Ratos de 19 meses receberam uma dieta enriquecida com o açaí (2%) durante 7 semanas. Observou-se no grupo suplementado com o açaí a supressão de NOX2 e fosfo-NF- $\kappa$ B, regulação positiva da expressão do Nrf2 e ativação de enzimas antioxidantes endógenas. Portanto, houve o controle de fatores que seriam responsáveis pelo estresse oxidativo e dano celular.

Em um outro estudo, Monteiro *et al.* (2020) buscaram evidenciar a atenuação da colite aguda induzida por ácido 2,4,6-trinitrobenzenossulfônico (TNBS) em ratos Wistar machos, com dietas suplementadas com extrato hidroalcoólico de açaí. Foram realizadas análises bioquímicas, histológicas e imunoenzimáticas a partir do fragmento do cólon. Os resultados foram: significativa redução nos níveis de TNF e IL-1 $\beta$ . Quando comparados ao grupo da colite, estes animais apresentaram a arquitetura da mucosa intestinal preservada, redução dos níveis de catalase, restauração dos níveis de GSH, níveis mais baixos de óxido nítrico e relevante redução dos níveis de expressão das proteínas TLR4, COX-2 e NF- $\kappa$ B. Contudo, foi possível evidenciar que o extrato de açaí é capaz de atenuar a colite induzida por TNBS.

A partir de uma revisão sistemática, Alessandra-Perini *et al.* (2018), visando descrever os efeitos antitumorais do açaí e seus efeitos na terapêutica do câncer, puderam inferir que, de um modo geral, em todos os estudos houve atividade quimiopreventiva e anticarcinogênica. Além disso, em alguns casos houve a redução dos níveis de IL-1 $\beta$ , IL-5, IL-6 e IL-8, regulação negativa da mieloperoxidase (MPO) e inibição da ciclooxigenase 2, PCNA e Bcl-2. Sugerindo, também, efeitos positivos do açaí na terapêutica do câncer.

Em um estudo experimental, com modelo animal, foi pesquisado o potencial do extrato de açaí sobre as lesões endometrióticas. Ratas Sprague-Dawley foram submetidas ao implante de um endométrio autólogo e foram tratadas com extrato hidroalcoólico de açaí. A partir de análises histológicas e imuno-histoquímicas, os resultados encontrados no grupo de animais tratados por Machado *et al.* (2016) foram: supressão das lesões (com regressão e atrofia), inibição da angiogênese e seus marcadores na endometriose experimental, redução dos níveis de transcrição de mRNA de COX-2 e, por fim, redução dos níveis de macrófagos *in vivo* e *in vitro*.

Em um outro estudo, foram avaliadas a capacidade neuroprotetora que o suco de açaí,

uma vez ao dia, por quatro dias, poderia ter em ratos machos em quadros de convulsão induzida por pentilenotetrazol. O comportamento foi analisado e monitorado continuamente. Observou-se que, embora o suco não tenha afetado a atividade locomotora espontânea, ele protegeu contra mudanças comportamentais e reduziu significativamente as alterações elétricas que podem ser causadas por convulsões. Supôs-se que o suco de açaí tenha exercido um papel importante no estresse oxidativo, prevenindo a peroxidação lipídica no córtex cerebral e, conseqüentemente, as convulsões (MONTEIRO *et al.*, 2015)

A partir da administração de sementes de açaí a camundongos CD1, a regulação da via do NF- $\kappa$ B, com a redução da translocação nuclear, foi obtida em um estudo de Genovese *et al.* Além disso, foi obtida a redução do infiltrado inflamatório, produção de citocinas pró-inflamatórias e do estresse oxidativo.

Considerando os trabalhos supracitados e todo o conhecimento que tem sido obtido, faz-se necessário mais estudos com enfoque nas propriedades antioxidantes da polpa de açaí, principalmente acerca dos compostos bioativos, a fim de se encontrar formas de contornar doenças inflamatórias, como na mucosite intestinal e promover mais saúde aos pacientes.

Contudo, sabe-se que a MI está inserida no conjunto de reações mais comuns do 5-FU e faz parte dos critérios que determinam a interrupção do tratamento, o que torna de fundamental importância o estudo de alternativas eficazes que sejam capazes de atenuar os danos teciduais, permitindo a continuidade do tratamento e melhorando a qualidade de vida do paciente.

### 3. JUSTIFICATIVA

A mucosite intestinal é uma questão de grande importância para a clínica médica, por se tratar de uma reação adversa de considerável incidência de um dos tratamentos quimioterápicos mais utilizados, o 5-Fluorouracil (5-FU) e que acomete, em sua forma grave, cerca de 80% dos pacientes. É relevante, pois, os pacientes que já estão debilitados por causa do câncer, em grande parte das vezes são obrigados a suspender o tratamento pela falta de tolerância aos efeitos colaterais citotóxicos do fármaco antineoplásico (DENG, 2021).

Diante da gravidade desta circunstância, é indiscutível a necessidade da realização de mais estudos que busquem alternativas terapêuticas que proporcionem mais qualidade de vida e saúde aos pacientes, prevenindo, amenizando e tratando os efeitos adversos da MI (BATISTA *et al.*, 2020).

Embora os efeitos da polpa de açaí ou os efeitos de compostos bioativos na mucosite já tenham sido avaliados em outras patologias, como demonstrado anteriormente, até então, raríssimos estudos evidenciam especificamente os efeitos da polpa de açaí na mucosite intestinal induzida por 5-FU. Contudo, no mesmo laboratório de realização do presente estudo (BIONUT - UFOP) já foram evidenciados alguns efeitos positivos da polpa de açaí na mucosite intestinal induzida por 5-FU em outros órgãos e em outros biomarcadores.

Diante destas evidências, das evidências supracitadas e com base no cerne argumentativo do objeto deste estudo, avaliou-se os efeitos da suplementação da polpa do açaí (*Euterpe oleracea* Martius) na resposta reguladora dos linfonodos mesentéricos e íleo de camundongos BALB/c com mucosite intestinal induzida por 5-Fluorouracil. Tendo isso em vista, todas as considerações que foram até aqui evidenciadas apontam para a relevância deste estudo que é delineado nos objetivos.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo Geral**

Avaliar os efeitos do açaí na modulação da IL-1 $\beta$  na mucosite intestinal induzida por 5-Fluorouracil

### **4.2 Objetivos Específicos**

- Avaliar a produção de IL-1 $\beta$  três (3D) e sete (7D) dias após a indução da mucosite intestinal em animais tratados com a polpa de açaí nos tecidos: linfonodos mesentéricos e íleo.

## 5. METODOLOGIA

Os experimentos da pesquisa foram realizados a partir de materiais biológicos já coletados no laboratório em um trabalho de pesquisa para a obtenção de título mestre intitulado “*Efeito de uma suplementação com polpa de açaí (Euterpe oleracea Martius) em camundongos BALB/c com mucosite intestinal induzida por 5-Fluorouracil*”. Desse modo, os órgãos analisados foram extraídos durante esta pesquisa supracitada, mas foram processados e analisados pela pesquisadora do presente estudo.

### 5.1 Protocolo experimental

#### 5.1.1 Animais e dieta experimental

Os materiais biológicos foram extraídos de camundongos fêmeas da linhagem BALB/c, com idade de aproximadamente seis semanas, com peso corporal entre 17g e 20g, foram fornecidos pelo Centro de Ciência Animal (CCA) da UFOP e o estudo foi deferido pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFOP), protocolo nº. 2016/17.

Os animais, durante sete dias, passaram pelo processo de aclimação e se alimentaram de uma dieta padrão para roedores adultos. Passados os sete dias receberam as respectivas dietas controle AIN-93M (REEVES, P.G; NIELSEN, F.H; FAHEY, G.C, 1993), a qual continha ou não a polpa de açaí na concentração de 2% como demonstrado na Tabela 2 (DE SOUZA, M.O; SILVA, M; SILVA, M., *et al.*, 2010), até o fim de um período de 14 dias consecutivos.

Desde o momento de seu recebimento até a eutanásia, os camundongos foram mantidos na sala para isogênicos do CCA, em um ambiente com a temperatura controlada (20°C e 25°C) e com 12 horas de ciclo claro-escuro. A água que foi ofertada aos animais passou pelo procedimento de autoclavagem e, juntamente com a dieta, os animais puderam acessá-las durante todo o dia. A polpa do açaí administrada foi previamente submetida ao processo industrial de pasteurização, era isenta de conservantes, congelada, e teve a sua aquisição realizada em um supermercado local.

Para análise da capacidade antioxidante da polpa de açaí, no estudo do qual essa pesquisa sucede foi realizada a avaliação da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Foi constatado que, embora não tenha sido observado aumento da CAT, que

normalmente está reduzida na MI devido à alta concentração de peróxido de hidrogênio, três dias após a indução da MI houve aumento a atividade da enzima SOD (CTL vs MUC) e o pré-tratamento com a polpa de açaí foi capaz de promover a redução da sua atividade (MUC vs MUC+Açaí) (MAGALHÃES, 2018).

**Tabela 2:** Composição nutricional das dietas experimentais AIN-93M padrão e dieta com açaí.

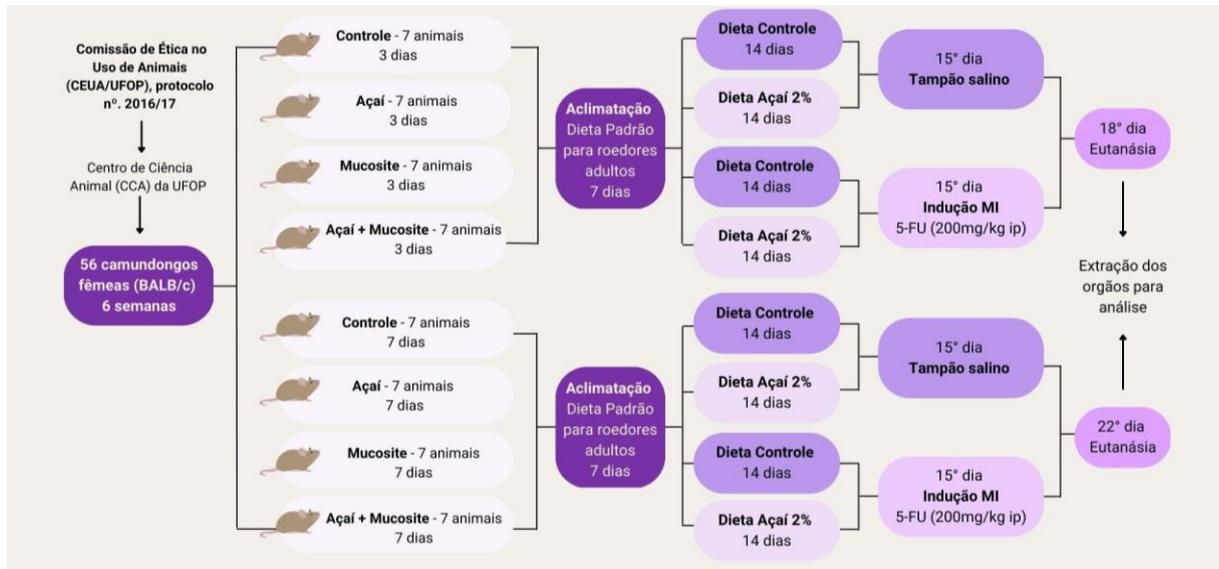
Ingredientes	Dietas (g/kg)	
	Controle	Açaí
Caseína	150 g	150 g
Amido de milho	710 g	690 g
Óleo de soja	40 g	40 g
Colina	2,5	2,5
Metionina	1,8 g	1,8 g
Mix de minerais	35 g	35 g
Mix de vitaminas	10 g	10 g
Celulose	50 g	50 g
Açaí	0 g	20 g

### 5.1.2 Delineamento experimental

Os camundongos foram alocados de forma aleatória em gaiolas próprias para camundongos, as quais contiveram grupos com, no máximo, 4 indivíduos. A distribuição dos grupos foi: CTL (dieta controle + tampão salino); CTL+Açaí (dieta açaí + tampão salino); MUC (dieta controle + 5-FU); MUC+Açaí (dieta açaí + 5-FU). Após o período de aclimação de sete dias recebendo a dieta padrão para roedores adultos, as dietas experimentais foram inseridas por um período de 14 dias consecutivos (RIBEIRO, J.C., *et al.*, 2010; MACHADO, F.S., *et al.*, 2015). Seguindo-se a distribuição dos grupos dos animais, na manhã do décimo

quinto dia (D0), após os animais terem se alimentado, a mucosite intestinal foi induzida. Os grupos CTL e CTL+Açaí receberam injeção intraperitoneal (ip) de tampão fosfato-salino (PBS - Phosphate-Buffered Saline) estéril. E executou-se a eutanásia três (D3) (1) (GENEROSO *et al.*, 2015) e sete (D7) (SONG, M. K.; PARK, M. Y.; SUNG, M. K., 2013) e sete (D7) (7) dias após a indução da mucosite (Figura 9).

**Figura 9:** Desenho esquemático do delineamento experimental.



Grupos: CTL (dieta controle + tampão salino); CTL+Açaí (dieta açaí + tampão salino); MUC (dieta controle + 5-FU); MUC+Açaí (dieta açaí + 5-FU); ip, intraperitoneal; D0, dia da indução da MI; D3, eutanásia 3 dias após a indução; D7, eutanásia 7 dias após a indução; n= 8 para os grupos controle e n= 12 para os grupos que receberam 5-FU. **Fonte: Elaboração própria.**

### 5.1.3 Indução da mucosite intestinal

O procedimento ocorreu a partir de uma injeção intraperitoneal, em dose única, de 5-FU (Fauldfluor®, Libbs), a 200 mg/kg (SONG, M. K., *et al.*, 2013), no quadrante inferior esquerdo, em cada indivíduo que pertencia aos grupos mucosite (MUC e MUC+Açaí). O quimioterápico foi veiculado em uma solução PBS estéril, em um volume total de 150µl. Os grupos CTL e o CTL+Açaí receberam, via injeção intraperitoneal (ip), tampão fosfato-salino (PBS - Phosphate-Buffered Saline) estéril.

#### **5.1.4 Eutanásia e coleta de material biológico**

Após dezoito (D3) e vinte e dois dias (D7) da administração das dietas, e três (D3) e sete (D7) dias após a indução da MI, os camundongos foram anestesiados a partir de uma solução de 100µL a base de PBS, cloridrato de ketamina (25%) e cloridrato de xilazina (25%), e foram submetidos ao deslocamento cervical. Logo após, o intestino delgado foi extraído por meio de uma laparotomia e foi dissecado. O jejuno foi disposto sobre uma placa de gelo e, em seguida, foi dissecado. Teve-se como parâmetro 20% da porção inicial (duodeno) a partir do piloro e 20% da porção final até a válvula ileocecal (íleo) (FERRARIS.; VINNAKOTA, 1995). Os 60% restantes correspondiam às duas metades; jejuno proximal (JP) e jejuno distal (JD).

Em seguida, lavou-se internamente o intestino delgado com 10mL de uma solução de cloreto de sódio 0,9%, estéril e gelada (2,5ml para cada secção). Desta lavagem, o fluido intestinal que foi obtido e coletado em um tubo cônico do tipo Falcon de 15mL foi centrifugado a 1200 rpm, por 20 minutos (SOUZA; FIORINI; GONÇALVES, *et al.*, 2017), e o seu sobrenadante foi armazenado a -80°C. Os fragmentos do intestino utilizados posteriormente nos experimentos foram fragmentados e acondicionados a -80°C, em criotubos de 2 mL, submersos em nitrogênio líquido.

## **5.2 Variáveis avaliadas**

Estas variáveis foram avaliadas visto que alterações do peso corporal, aparecimento de diarreia e a alteração da ingestão alimentar são indicadores bem fenotípicos da inflamação da mucosa intestinal.

### **5.2.1 Ingestão alimentar, peso corporal e registro da sobrevivência**

Todos os dias, no período matutino, desde a administração das dietas até o momento da eutanásia, todo o conteúdo alimentar das gaiolas e o peso dos animais foram documentados. O consumo alimentar diário dos animais foi obtido por meio da subtração das sobras do dia subsequente, da quantidade de dieta fornecida em cada dia e, em seguida, dividindo pelo número de animais de cada grupo.

O registo de sobrevivência também foi realizado diariamente, por meio da observação dos sinais de debilidade (pelo arrepiado, prostração e isolamento) de cada animal.

### **5.2.2 Avaliação da diarreia**

A partir do dia zero (D0) até o dia da eutanásia (D3 e D7), a ausência ou a presença de diarreia foi documentada diariamente.

## **5.3 Dosagens bioquímicas e imunoenzimáticas**

### **5.3.1 Extração de proteínas**

A princípio, uma solução tampão para ensaio de radioimunoprecipitação (RIPA) foi preparada, com o objetivo de proporcionar rápida lise celular e solubilização das proteínas das células. Além disso, a solução visou impedir a degradação proteica e quaisquer interferências, como formação de ligações proteicas não específicas, atividade biológica e imunorreatividade. A solução RIPA continha: tris-(hidroximetil) -aminometano (TRIS 0,05M), cloreto de sódio (NaCl 0,15M), EDTA 0,0013 M, deoxicolato de sódio 1%, dodecil sulfato de sódio (SDS 0,1%) e inibidores de protease na proporção 1:1000.

Em seguida, os órgãos foram descongelados e pesados, a fim de atingir a alíquota de 100 mg de tecido. Após a pesagem, a solução tampão RIPA foi utilizada na proporção de 100 mcL de solução para 10 mg de tecido (10:1). Na sequência, a amostra de tecido foi processada no homogeneizador elétrico, sob baixa rotação, por 30 segundos, e mantida no gelo, em descanso, por 1 minuto. Este procedimento foi repetido três vezes. Ao final da completa homogeneização, as amostras foram colocadas na centrífuga a 10.000 rpm por 10 minutos a 4 °C e coletou-se o sobrenadante. Por fim, foi pipetada uma alíquota de 50 mcL da amostra, o qual foi armazenado a temperatura de -80° C.

### 5.3.2 Determinação da concentração de IL-1 $\beta$ nos tecidos: Linfonodos Mesentéricos e íleo

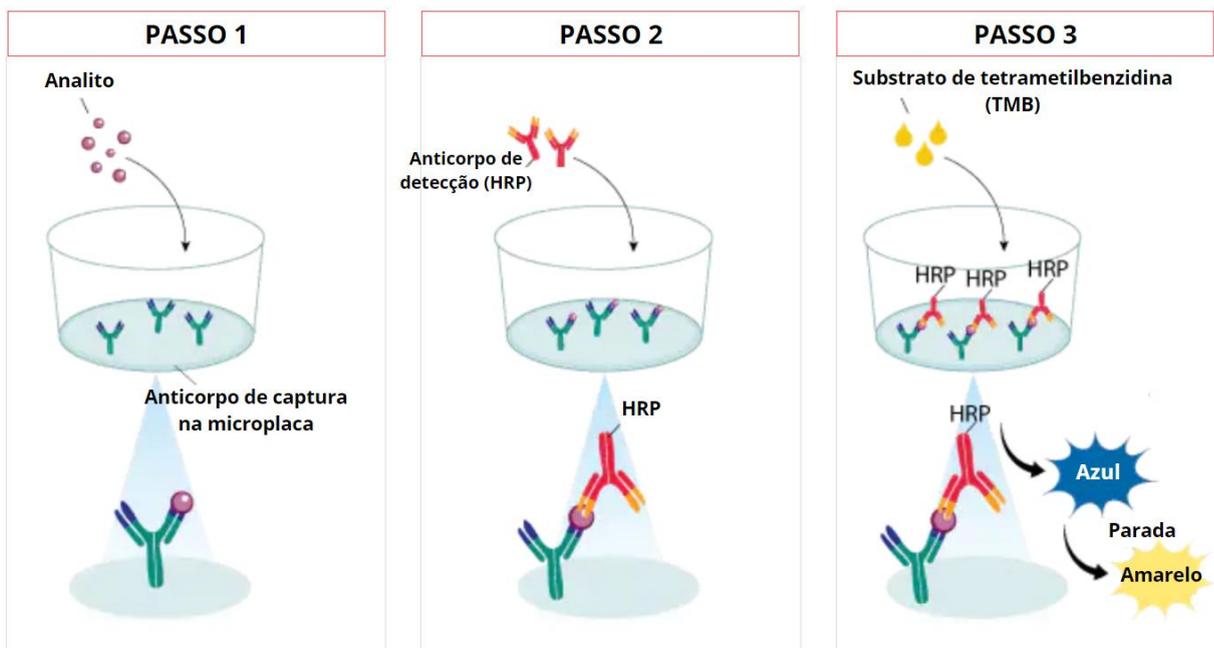
Para se quantificar a concentração IL-1 $\beta$  nos tecidos coletados dos animais, foi realizado um Ensaio de imunabsorbância ligado à enzima (ELISA) utilizando os kits R&D Systems® para IL-1 $\beta$  (ref.: DY401), utilizando placas de poliestireno com 96 poços cada. Todos os ensaios foram realizados de acordo com as instruções do fabricante.

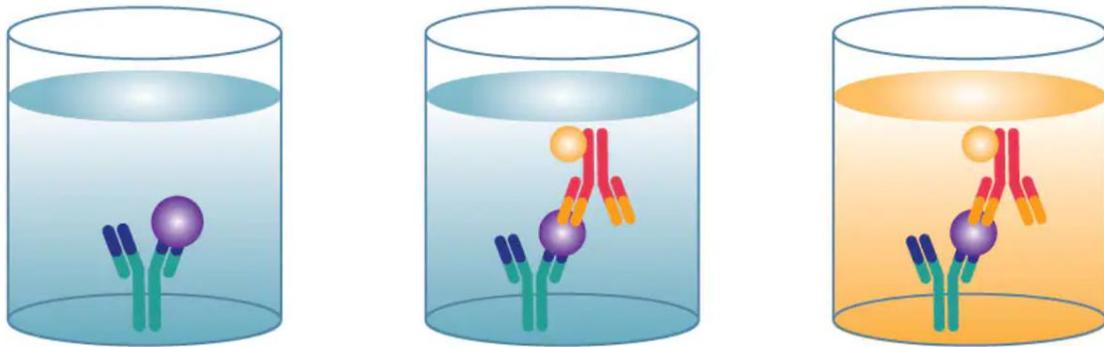
Inicialmente, as placas foram sensibilizadas a partir da adição de uma solução de anticorpo de captura, 100 $\mu$ L por poço, e em seguida foram incubadas, em overnight, a 25°C. No dia seguinte, decorridas aproximadamente 13-15 horas, as placas foram lavadas 2 vezes com solução tampão salina fosfato - PBS (Phosphate-Buffered Saline) adicionada do tensoativo hidrofílico Tween 20 a 0,05%. Em seguida, em cada poço das placas foram adicionados 100 $\mu$ L de solução PBS, solução albumina de soro bovino em concentração de 1% (BSA 1%) (Solução bloqueio e diluente de padrão e amostras) e foram incubadas por um período de 1 hora, a 25°C. Ao findar o período, as placas foram lavadas por 2 vezes em solução detergente (PBS + Tween 20 0,05%) e, para que ao final fosse possível realizar a relação gráfica entre os valores de absorbância (A) e os de concentração, verificar a linearidade da reação e calcular um fator de conversão de valores de absorbância em concentração, foi realizada a adição da solução padrão em 14 poços definidos da placa. Primeiramente, em cada poço do padrão foram adicionados 100 $\mu$ L de solução PBS e, em seguida, foram adicionados 200 $\mu$ L do padrão no primeiro poço, dos 14 poços, e diluído de forma seriada nos demais poços, resultando um total de 7 pontos da curva e em duplicata. Os últimos 2 poços seguintes ao padrão foram destinados ao “branco” e só receberam a solução PBS em duplicata. Nos demais poços das placas, aqueles referentes às amostras, foram adicionados 100 $\mu$ L do sobrenadante, em duplicata, e elas foram incubadas por 2 horas, a 25°C. Posteriormente, foi procedida a lavagem das com solução detergente (PBS + Tween 20 0,05%), por 4 vezes, e adicionou-se 100 $\mu$ L por poço da solução de detecção (PBS e BSA 1%), e as placas foram incubadas por 2 horas, a 25°C. Após as 2 horas, elas foram lavadas com solução detergente (PBS + Tween 20 a 0,05%), por 2 vezes, e foram adicionadas a Streptavidina conjugada a peroxidase 1:40, descansando por aproximadamente 20 minutos. Após esse intervalo, as placas foram lavadas com solução detergente (PBS + Tween 20 0,05%), por 6 vezes. Para interrupção da reação, adicionou-se, como substrato das soluções anteriores, 100 $\mu$ L de solução tampão fosfato citrato pH 4,0: 2,1 g Ácido cítrico (anidro: 1,92 g) em água milli-Q com volume final de 100 mL, 4,02 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (anidro: 2,13 g) em água milli-

Q com volume final de 150 mL, as quais foram preparadas separadamente e adicionadas até atingir pH 4,0 (solução 2 à solução 1), a solução Cromogênica de Tetrametilbenzidina (TMB) e o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 30 volumes. Após aproximadamente 20 minutos da reação, ela foi interrompida por meio da adição de ácido sulfúrico 2N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N). Ao final, foi realizada a leitura das placas em um espectrofotômetro de microplacas (Bio-Rad, Modelo: 450, Leitor de Microplacas), controlado pela interface do Software Gen5. A reação enzimática foi quantificada por absorbância medida a 450 nm e o resultado expresso em pg/mL.

A forma como ocorre a reação imunoenzimática pode ser observada no desenho esquemático (Figura 10) a seguir.

Figura 10 - Método do Ensaio Imunoenzimático (ELISA) do tipo sanduíche.





O ensaio ELISA do tipo sanduíche é um dos mais comuns tipos de ELISA, sendo útil na determinação da concentração do analito em uma amostra biológica. No ensaio, dois anticorpos específicos são usados para intercalar o antígeno. O anticorpo de captura é revestido em uma microplaca, a amostra é adicionada e a proteína de interesse se liga e é imobilizada na placa. Um anticorpo de detecção conjugado é então adicionado e se liga a um epítipo adicional na proteína alvo. O substrato é adicionado e produz um sinal de cor azul proporcional à quantidade de analito presente na amostra. Em seguida a reação é interrompida por meio da adição de ácido sulfúrico 2N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N) e sua cor é alterada para o amarelo. Os ELISAs sanduíche são altamente específicos, pois são necessários dois anticorpos para se ligar à proteína de interesse. (Traduzido). **Fonte:** <https://www.rndsystems.com/resources/what-is-an-elisa-and-elisa-types>.

#### 5.4 Análise estatística

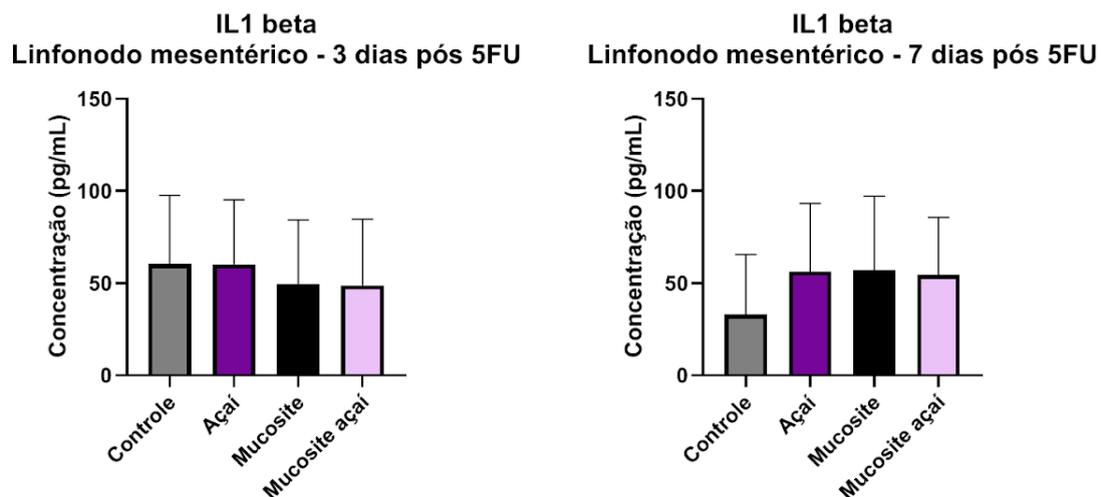
A partir dos valores obtidos da absorbância dos poços e da equação obtida a partir da curva padrão, foram obtidos os valores de média  $\pm$  desvio padrão da média (DP) e a diferença estatística acerca da avaliação da concentração do mediador pró-inflamatório IL-1 $\beta$  no D3 e no D7 entre os grupos controle (CTL e CTL+Açaí) e que receberam 5-FU (MUC e MUC+Açaí) foi determinada por meio de análise de variância (ANOVA), utilizando Two-way ANOVA. A análise estatística foi realizada no programa GraphPad Prism versão 6.01. A significância estatística foi considerada quando  $p < 0,05$ .

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Linfonodo Mesentérico

Os linfonodos mesentéricos, também conhecidos popularmente como “ínguas”, são gânglios linfáticos presentes no mesentério, o qual reveste a cavidade abdominal, e eles participam do sistema linfático e imune, tendo como função remover as ameaças ao organismo, acionar células de defesas e amadurecer os linfócitos. Na dosagem da citocina pró-inflamatória IL-1 $\beta$  nos linfonodos mesentéricos, por meio do método ELISA, não foi possível, entretanto, demonstrar alterações séricas estatisticamente significativas entre os grupos analisados nos dois momentos (D3 e D7), conforme demonstrado na Figura 11.

**Figura 11** - Avaliação da concentração do mediador pró-inflamatório IL-1 $\beta$  no órgão linfonodo mesentérico, entre os grupos controle, açai, mucosite e mucosite+açaí, nos tempos D3 e D7.

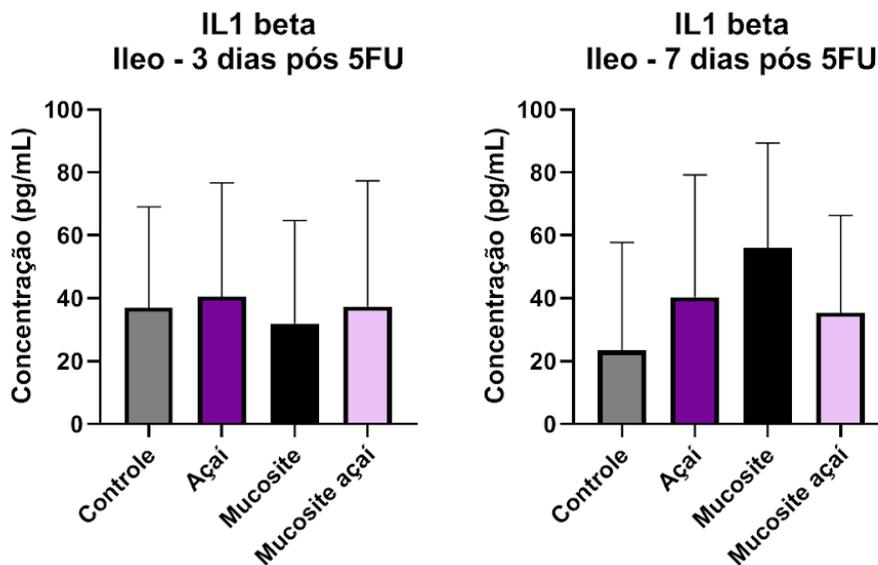


Camundongos fêmeas BALB/c foram divididas em 8 grupos distintos: Controle 3 dias: durante 18 dias recebeu dieta controle; Controle 7 dias: durante 22 dias recebeu dieta controle; Açai 3 dias: durante 18 dias recebeu dieta suplementada com açai; Açai 7 dias: durante 22 dias recebeu dieta suplementada com açai; Mucosite 3 dias: durante 18 dias recebeu dieta controle e teve a mucosite intestinal induzida por 5-FU; Mucosite 7 dias: durante 22 dias recebeu dieta controle e teve a mucosite intestinal induzida por 5-FU; Açai Mucosite 3 dias: durante 18 dias recebeu dieta suplementada com açai e teve a mucosite intestinal induzida por 5-FU; Açai Mucosite 7 dias: durante 22 dias recebeu dieta suplementada com açai e teve a mucosite intestinal induzida por 5-FU. O Homogenato de linfonodo mesentérico foi testado pelo método ELISA sanduíche para IL-1 $\beta$ . A diferença estatística acerca da avaliação da concentração do mediador pró-inflamatório IL-1 $\beta$  no D3 e no D7 entre os grupos controle e intervenção foi determinada por meio de análise de variância (ANOVA), utilizando Two-way ANOVA, para comparações múltiplas. Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão, os valores de  $p \leq 0,05$  foram considerados significantes.

## 6.2 Íleo

No íleo, segmento final do intestino delgado, o qual compõe o sistema digestório do ser humano e atua de forma crucial na absorção de nutrientes, não houve alterações séricas estatisticamente significativas entre os grupos analisados nos dois momentos (D3 e D7) na dosagem da citocina pró-inflamatória IL-1 $\beta$ , por meio do método ELISA, demonstrado na Figura 12.

**Figura 12** - Avaliação da concentração do mediador pró-inflamatório IL-1 $\beta$  no órgão íleo, entre os grupos controle, açai, mucosite e mucosite+açaí, nos tempos D3 e D7.



Camundongos fêmeas BALB/c foram divididas em 8 grupos distintos: Controle 3 dias: durante 18 dias recebeu dieta controle; Controle 7 dias: durante 22 dias recebeu dieta controle; Açai 3 dias: durante 18 dias recebeu dieta suplementada com açai; Açai 7 dias: durante 22 dias recebeu dieta suplementada com açai; Mucosite 3 dias: durante 18 dias recebeu dieta controle e teve a mucosite intestinal induzida por 5-FU; Mucosite 7 dias: durante 22 dias recebeu dieta controle e teve a mucosite intestinal induzida por 5-FU; Açai Mucosite 3 dias: durante 18 dias recebeu dieta suplementada com açai e teve a mucosite intestinal induzida por 5-FU; Açai Mucosite 7 dias: durante 22 dias recebeu dieta suplementada com açai e teve a mucosite intestinal induzida por 5-FU. O Homogenato do íleo foi testado pelo método ELISA sanduíche para IL-1 $\beta$ . A diferença estatística acerca da avaliação da concentração do mediador pró-inflamatório IL-1 $\beta$  no D3 e no D7 entre os grupos controle e intervenção foi determinada por meio de análise de variância (ANOVA), utilizando Two-way ANOVA, para comparações múltiplas. Os resultados estão expressos em média  $\pm$  erro padrão, os valores de  $p \leq 0,05$  foram considerados significantes.

**Figura 13** – Placas após o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) utilizando os kits R&D Systems® para IL-1 $\beta$  (DY401), utilizando placas de poliestireno com 96 poços cada. Todos os ensaios foram realizados de acordo com as instruções do fabricante.



**Placa 1 (ELISA) amostras em duplicata** - Poços: 1 e 2 (LnM - Controle 3D); Poços: 3 e 4 (LnM - Açai 3D); Poços: 5 e 6 (LnM - Mucosite 3D); Poços: 7 e 8 (LnM - Mucosite+Açai 3D); Poços: 9 e 10 (Íleo - Controle 3D); Poços: 11 e 12 (Padrão)

**Placa 2 (ELISA) amostras em duplicata** - Poços: 1 e 2 (Íleo - Açai 3D); Poços: 3 e 4 (Íleo - Mucosite 3D); Poços: 5 e 6 (Íleo - Mucosite+Açai 3D); Poços: 7 e 8 (LnM - Controle 7D); Poços: 9 e 10 (LnM - Açai 7D); Poços: 11 e 12 (LnM - Mucosite 7D)

**Placa 1 (ELISA) amostras em duplicata** - Poços: 3 e 4 (LnM - Mucosite+Açai 7D); Poços: 5 e 6 (Íleo - Controle 7D); Poços: 7 e 8 (Íleo - Açai 7D); Poços: 9 e 10 (Íleo - Mucosite 7D); Poços: 11 e 12 (Íleo - Mucosite+Açai 7D);

**Placas de Elisa a partir dos kits R&D Systems® para IL-1 $\beta$  (DY401)**, utilizando placas de poliestireno com 96 poços cada. Os ensaios foram realizados de acordo com as instruções do fabricante. A coloração azul dos poços deve-se à solução Cromogênica de Tetrametilbenzidina (TMB) e o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 30 volumes. Após aproximadamente 20 minutos da reação, foi realizada a adição de ácido sulfúrico 2N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N) para interrupção. Ao final, foi realizada a leitura das placas em um espectrofotômetro de microplacas (Bio-Rad, Modelo: 450, Leitor de Microplacas) e a absorbância foi lida em um comprimento de onda de 450 nanômetros (nm), controlado pela interface do Software Gen5.

## 7. DISCUSSÃO

A toxicidade intestinal induzida por terapia oncológica é uma grave e frequente reação adversa que acomete a maioria dos pacientes em tratamento oncológico e culmina em inflamação e ulceração do revestimento gastrointestinal, gerando diversos sintomas (ARAÚJO, 2013).

A MI, além de ser um processo doloroso, compromete a função do TGI, o estado nutricional e a continuidade do tratamento do paciente, o que justifica e requer mais compreensão acerca dos seus mecanismos e complexos processos biológicos, a fim de se proporcionar profilaxias e tratamentos mais eficazes e seguros, além de possibilitar a manutenção da terapia (CHANG, 2020).

No entanto, a complexidade da MI e as singularidades de cada fase durante a sua ocorrência, torna a sua avaliação inflamatória uma tarefa desafiadora e imprevisível. Conforme tem sido demonstrado no acervo científico, uma ampla gama de mediadores está envolvida na resposta inflamatória no contexto experimental, como  $TNF\alpha$ , família IL-1, IL-18, fator ativador de plaquetas (PAF), IL-6, óxido nítrico sintase (iNOS) e COX-2, e caracterizam, de forma clara e consistente, a MI induzida por quimioterapia (GIFONI, 2012).

Sabe-se, contudo, que a IL-1 $\beta$  é uma citocina pró-inflamatória que atua nas primeiras respostas do sistema imune inato, estando presente em diversos processos inflamatórios, sendo produzida e secretada rapidamente por diversos tipos de células do sistema imune, atuando na amplificação das reações e visando a resolução de inflamações agudas. Entretanto, sabe-se também que a produção da IL-1 $\beta$  é regulada por diversas vias de sinalização e fatores de transcrição, e depende de processos como a ativação da proteína pró-IL-1 $\beta$  por meio da clivagem proteolítica (RIBEIRO, 2016).

Diante disso, embora já tenha sido demonstrado que os sintomas indesejáveis da quimioterapia, como a mucosite, estão relacionados ao aumento da produção de citocinas inflamatórias, como a IL-1 $\beta$ , a partir dos resultados obtidos no presente estudo, em que os níveis de IL-1 $\beta$  não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, sugere-se que, possivelmente, neste modelo animal experimental alguma dessas condições para indução da secreção de IL-1 $\beta$  não tenha sido cumprida, para que os seus níveis fossem superexpressos.

Ademais, com base nos resultados obtidos e em outras pesquisas, infere-se que, embora durante a reação imunoenzimática (ELISA) tenha havido a geração de cor, como demonstrado no Figura 13, sugerindo a presença de IL-1 $\beta$ , é possível que o método ELISA não tenha sido sensível o suficiente para detectar a concentração presente na amostra ou, provavelmente, o modelo experimental utilizado não modulou a inflamação por meio da IL-1 $\beta$ , mas sim por outras vias não identificadas presentes na inflamação.

Outras vias que modulam a inflamação são descritas por Sonis (2004), como durante a etapa de amplificação dos sinais, os tratamentos, quimioterápico ou radioterápico, são responsáveis pela ativação de alguns fatores, como o (NF- $\kappa$ B), o qual regula, positivamente, genes que influenciam na secreção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$  que, por sua vez, amplificam o sinal e podem ativar o NF- $\kappa$ B, resultando na transcrição de genes que codificam a proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), ciclooxigenase 2 (COX2) e moléculas sinalizadoras de tirosina-quinase, levando à ativação da metaloproteinases de matriz (MMPs) 1 e 3, provocando, por fim, a inflamação.

Além da ativação do TNF- $\alpha$ , em um estudo experimental realizado por Logan *et al.* (2008), alterações morfológicas na mucosa foram caracterizadas juntamente com a hiperexpressão de NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , TNF-alfa e IL-6 após a administração de tratamento quimioterápico, corroborando com a presunção da existência de mais mecanismos orquestradores da MI.

Como supracitado, além das citocinas, outros mecanismos estão descritos na patologia da mucosite intestinal induzida por quimioterapia, como a ciclooxigenase induzida ou ciclooxigenase 2 (COX-2), culminando em uma cascata inflamatória de prostaglandinas, amplificando a inflamação (YEOH *et al.* 2007; LOPES *et al.* 2009; LALLA *et al.* 2010)

O desfecho deste estudo, a manutenção dos níveis de IL-1 $\beta$  avaliados nos momentos de 3D e 7D, corrobora com os achados de Gifoni (2012), em seu estudo sobre a mucosite causada por 5-FU, no qual ele não encontrou resultados estatisticamente significativos entre os grupos a respeito desta citocina.

Segundo um outro estudo realizado por com Gomes (2022), o tratamento de camundongos BALB/c com a polpa de açaí (2%) foi capaz de reduzir os níveis da citocina anti-inflamatória IL-10. Indicando que o quimioterápico 5-FU induziu a mucosite juntamente com

---

respostas inflamatórias significativas, mas que no grupo dos animais suplementados com a polpa do açaí a 2%, o organismo aparentou ser capaz de se recuperar e mitigar alguns efeitos da doença. Diante disso, como presumido, é possível observar a participação ativa de outra citocina na MI induzida por 5-FU.

Uma outra possibilidade acerca dos resultados poderia ser baseada nos achados de Logan *et al.* (2009). Para avaliar a patobiologia da MI induzida por 5-FU, com dose semelhante à do presente estudo, em um modelo murino, em períodos de 0 a 72 horas, Logan *et al.* obtiveram que, após a administração do quimioterápico, a intensidade da expressão tecidual da IL-1 $\beta$  no intestino atingiu o pico em 90 minutos, retornando aos níveis basais em até 72h. Isso poderia indicar que, quando a IL-1 $\beta$  foi avaliada, 3 e 7 dias pós-quimioterápico, os seus níveis já estavam entrando em uma fase de normalização, justificando os níveis semelhantes de IL-1 $\beta$  entre os grupos nos momentos 3d e 7d.

Além das citocinas e os fatores de transcrição, alguns genes têm papel fundamental na apoptose e no ciclo celular, como por exemplo o gene p53. Codificador de uma fosfoproteína nuclear, o gene supressor de tumor p53, atua controlando o ciclo celular, reparando o DNA e induzindo a apoptose. Em uma situação de indução de dano no DNA por estresse, a p53 bloqueia o ciclo celular, o que poderia promover o reparo do DNA ou a apoptose (JUNIOR *et al.*, 2002).

Visando avaliar o papel do óxido nítrico como um outro mecanismo envolvido na mucosite induzida por quimioterapia, Leitão (2007) demonstrou, em um modelo murino, que os danos causados pelo 5-FU a mucosa intestinal advieram do conjunto de efeitos da proliferação celular e da apoptose, e que os mecanismos relacionados a esse dano foram dependentes da P53.

Além de tudo, é imprescindível salientar que o sistema imunológico é muito dinâmico e integrativo, não devendo ser limitado a análise da inflamação e de todo o contexto por meio da perspectiva de um único mediador pró-inflamatório. Além disso, o risco de desenvolvimento da MI e os mecanismos de ação envolvidos, em relação aos processos inflamatórios e a secreção de citocinas são extremamente complexos, podendo ser afetados por diversos fatores, desde a dose e o tipo do quimioterápico, até a fatores intrínsecos ao paciente, como idade, doença sistêmica, a microbiota intestinal e os fatores protetores locais (WANG, 2021)

Tais circunstâncias justificam a necessidade de mais estudos acerca dos efeitos dos compostos fenólicos presentes no *Euterpe oleracea* Martius (Açaí) em intestino e linfonodos mesentéricos de camundongos Balb/c com MI induzida por 5-FU e os mediadores inflamatórios que orquestram o processo. Pois a previsão desses eventos subclínicos facilitariam um gerenciamento mais eficaz da patologia, permitindo o direcionamento de um tratamento adequado, além de se mitigar e deter os efeitos colaterais do tratamento.

Durante a pesquisa alguns fatores limitaram um estudo mais aprofundado, como, por exemplo, a falta no acervo científico de estudos semelhantes que instituisse o açaí como forma de tratamento da MI causada pelo 5-FU, visto que o tipo de quimioterápico influencia na resposta inflamatória. Além disso, poucos estudos evidenciaram resultados similares, no qual a citocina IL-1 $\beta$  tenha respondido da mesma forma e nos mesmos órgãos. Contudo, visto a importância da IL-1 $\beta$  no início da inflamação, a qual pode preceder o dano tecidual, e também a importância dos tecidos, principalmente o linfonodo mesentérico, por ser tratar de um órgão linfóide do sistema imunológico, além dos fatores que afetam a saúde e a vida do paciente, é válido salientar que a escolha da hipótese neste estudo foi de grande pertinência.

## 8. CONCLUSÃO

O presente estudo evidenciou que a suplementação da dieta de camundongos BALB/c com polpa do açaí a 2%, previamente à indução da mucosite intestinal por quimioterápico 5-Fluorouracil, não alterou significativamente os níveis teciduais de IL-1 $\beta$  entre os grupos de 3D e entre os grupos de 7D, tanto no linfonodo mesentérico quanto no íleo. Embora tenha havido alteração da cor durante a reação imunoenzimática do método ELISA, não houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

Entretanto, é importante reafirmar que os mecanismos que orquestram o processo inflamatório durante a MI é multifacetado e sofre influência de diversos fatores, endógenos e exógenos, o que culmina vias distintas e em desfechos diversos. Além disso, cada fase da MI exige um mecanismo diferente, o qual tem um momento de ação, bem como, cada citocina tem um momento de expressão, o que pode influenciar nas vias e nos desfechos.

Diante disso, necessita-se de pesquisas mais aprofundadas sobre cada fase da MI e seus mecanismo, além de estudos acerca da ação das citocinas na mucosite intestinal, principalmente na mucosite intestinal induzida por quimioterápico 5-Fluorouracil.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ALEGRE, P. et al. Euterpe Oleracea Mart. (Açaí) Reduces Oxidative Stress and Improves Energetic Metabolism in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Arquivos Brasileiros De Cardiologia*, v. 114, n. 1, p. 78–86, 1 jan. 2020.

ALESSANDRA-PERINI, J. et al. Anticancer potential, molecular mechanisms and toxicity of Euterpe oleracea extract (açaí): A systematic review. *PLoS ONE*, v. 13, n. 7, p. e0200101, 2 jul. 2018.

APTE, R. N. et al. Effects of micro-environment- and malignant cell-derived interleukin-1 in carcinogenesis, tumour invasiveness and tumour-host interactions. *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)*, v. 42, n. 6, p. 751–759, 1 abr. 2006.

ARAÚJO, C. V. DE. Efeitos da alanil-glutamina na mucosite intestinal induzida pelo 5-fluorouracil em camundongos deficientes da apolipoproteína-E. *repositorio.ufc.br*, 2013.

BATISTA, V. L. Efeito de *Lactobacillus delbrueckii* CIDCA 133 e seus produtos secretados na mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil. *repositorio.ufmg.br*, 31 mar. 2021.

BATISTA, V. L. *et al.*, (2020). Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Paraprobiotics as a Therapeutic Alternative for Intestinal Mucositis. *Frontiers in Microbiology*, v. 11. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.544490>. 2020.

BENT, R. et al. Interleukin-1 Beta—A Friend or Foe in Malignancies? *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 8, p. 2155, 24 jul. 2018.

CAVALCANTE, G. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação. [s.l: s.n.]. Disponível em: [https://bvsm.sau.de.gov.br/bvs/publicacoes/mucosite\\_alteracoes\\_permeabilidade\\_intestinal.pdf](https://bvsm.sau.de.gov.br/bvs/publicacoes/mucosite_alteracoes_permeabilidade_intestinal.pdf). Acesso em: 28 nov. 2022.

CAVALCANTI, J., G. B.; KLUMB, C. E.; MAIA, R. C. p53 e as hemopatias malignas. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 48, n. 3, p. 419–427, 30 set. 2002.

CHANG, C. *et al.* “Fecal Microbiota Transplantation Prevents Intestinal Injury, Upregulation of Toll-Like Receptors, and 5-Fluorouracil/Oxaliplatin-Induced Toxicity in Colorectal Cancer.” *International journal of molecular sciences* vol. 21,2 386. 8 Jan. 2020, doi:10.3390/ijms21020386.

DENG, S. et al. "TBHQ attenuates ferroptosis against 5-fluorouracil-induced intestinal epithelial cell injury and intestinal mucositis via activation of Nrf2." *Cellular & molecular biology letters* vol. 26,1 48. 18 Nov. 2021, doi:10.1186/s11658-021-00294-5

DE SOUZA MACHADO, F. et al. Carbon Tetrachloride Increases the Pro-inflammatory Cytokines Levels in Different Brain Areas of Wistar Rats: The Protective Effect of Acai Frozen Pulp. *Neurochemical Research*, v. 40, n. 9, p. 1976–1983, 1 set. 2015.

ELAD, S. et al. MASCC/ISOO clinical practice guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. *Cancer*, v. 126, n. 19, p. 4423–4431, 28 jul. 2020.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - (org.). Açai Euterpe oleracea Mart. 2008. Disponível em:  
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/173039/1/Informativo-da-RSA-000gbz50dd802wx5ok01dx9lc8peulnc.pdf>.2008.

FIORIO, B. DE C. Extrato hidroalcolico de Euterpe oleracea MART. (açai) modula a mucosite intestinal induzida por 5-Fluorouracil em camundongos por meio da sinalização TIR-4/MyD88/PI3Ka/mTORr/NF-kBp65. *repositorio.ufc.br*, 3 nov. 2020.

GENEROSO, S. DE V. et al. Dietary supplementation with omega-3 fatty acid attenuates 5-fluorouracil induced mucositis in mice. *Lipids in Health and Disease*, v. 14, p. 54, 12 jun. 2015.

GREEN AND JOHN C. REED, D. R. Mitochondria and Apoptosis. *Science*, v. 281, n. 5381, p. 1309–1312, 28 ago. 1998.

GOMES, L. C. M. Efeitos da suplementação da polpa do Açai (Euterpe oleracea Martius) na resposta reguladora dos linfonodos mesentéricos de camundongos BALB/c com mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil. *www.monografias.ufop.br*, 2022.

IMPELLIZZERI, D. et al. Açai Berry Mitigates Vascular Dementia-Induced Neuropathological Alterations Modulating Nrf-2/Beclin1 Pathways. *Cells*, v. 11, n. 16, p. 2616, 22 ago. 2022.

KAMINSKY, L. W.; AL-SADI, R.; MA, T. Y. IL-1 $\beta$  and the Intestinal Epithelial Tight Junction Barrier. *Frontiers in Immunology*, v. 12, 25 out. 2021.

KASHYAP, D. et al. Fisetin and Quercetin: Promising Flavonoids with Chemopreventive Potential. *Biomolecules*, v. 9, n. 5, p. 174, 6 mai. 2019.

KEEFE, D. M. K. Chemotherapy for cancer causes apoptosis that precedes hypoplasia in crypts of the small intestine in humans. *Gut*, v. 47, n. 5, p. 632–637, 1 nov. 2000.

LALLA, R. V. et al. Role of the cyclooxygenase pathway in chemotherapy-induced oral mucositis: a pilot study. *Supportive Care in Cancer*, v. 18, n. 1, p. 95–103, 29 abr. 2009.

LEITÃO, R. F. C. et al. Role of nitric oxide on pathogenesis of 5-fluorouracil induced experimental oral mucositis in hamster. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, v. 59, n. 5, p. 603–612, 1 abr. 2007.

LI, G. et al. Flavonoids Regulate Inflammation and Oxidative Stress in Cancer. *Molecules*, v. 25, n. 23, p. 5628, 30 nov. 2020.

LOGAN, R. M. et al. Is the pathobiology of chemotherapy-induced alimentary tract mucositis influenced by the type of mucotoxic drug administered? *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, v. 63, n. 2, p. 239–251, 20 mar. 2008.

LOPES, N. N. F. et al. Cyclooxygenase-2 and vascular endothelial growth factor expression in 5-fluorouracil-induced oral mucositis in hamsters: evaluation of two low-intensity laser protocols. *Supportive Care in Cancer: Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, v. 17, n. 11, p. 1409–1415, 1 nov. 2009.

MACHADO, D. E. et al. Euterpe oleracea Extract (Açaí) Is a Promising Novel Pharmacological Therapeutic Treatment for Experimental Endometriosis. *PLOS ONE*, v. 11, n. 11, p. e0166059, 16 nov. 2016.

MARKUS A. H., S. M. et al. Antitumour activity of XR5944 in vitro and in vivo in combination with 5-fluorouracil and irinotecan in colon cancer cell lines. *British Journal of Cancer*, v. 92, n. 4, p. 722–728, fev. 2005.

MONTEIRO, C. E. DA S. et al. Euterpe oleracea Mart. (Açaí) attenuates experimental colitis in rats: involvement of TLR4/COX-2/NF-κB. *Inflammopharmacology*, v. 29, n. 1, p. 193–204, 1 fev. 2021.

OLIVEIRA, V. P. DE; ESPESCHIT, A. C. R.; PELUZIO, M. DO C. G. Flavonóides e doenças cardiovasculares: ação antioxidante. *Rev. méd. Minas Gerais*, p. 234–238, 2006.

PANDOLFO, Mércia et al. Farmacogenoma do Fluorouracil. Análise de Polimorfismo no Gene da Diidropirimidina Desidrogenase. *Infarma - Ciências Farmacêuticas*, [S.l.], v. 17, n. 3/4, p. 62-65, jan. 2013. ISSN 2318-9312. Disponível em: <<https://revistas.cff.org.br/?journal=infarma&page=article&op=view&path%5B%5D=280>>. Acesso em: 28 nov. 2022.

PARK, B.-S. et al. Crosstalk between Fisetin-induced Apoptosis and Autophagy in Human Oral Squamous Cell Carcinoma. *Journal of Cancer*, v. 10, n. 1, p. 138–146, 1 jan. 2019.  
PONTE, L. G. S. et al. The Hallmarks of Flavonoids in Cancer. *Molecules (Basel, Switzerland)*, v. 26, n. 7, p. 2029, 2 abr. 2021.

POULOSE, S. M. et al. Modulation of oxidative stress, inflammation, autophagy and expression of Nrf2 in hippocampus and frontal cortex of rats fed with açai-enriched diets. *Nutritional Neuroscience*, v. 20, n. 5, p. 305–315, 11 jan. 2016.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *The Journal of Nutrition*, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, 1 nov. 1993.

RIBEIRO, R. 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, 1 nov. 2016.

RIBEIRO, J. C. et al. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with açai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.) on mice using the erythrocytes micronucleus test and the comet assay. *Mutation Research*, v. 695, n. 1-2, p. 22–28, 1 jan. 2010.

RIBEIRO, R., et al. Mucosite Oral: patogênese e manuseio clínico. *Revista Brasileira de Oncologia Clínica*, Ceará, v. 5, n. 15, p. 1-7, set. 2008. Disponível em: <https://www.sbec.org.br/sbec-site/revista-sbec/pdfs/15/artigo3.pdf>. Acesso em: 04 out. 2022.

SILVA, M. A de A. O 5-Fluorouracilo como agente quimioterapêutico : mecanismo de ação, associações terapêuticas e resistências ao tratamento. Trabalho Final de Mestrado Integrado - Ciências Farmacêuticas. Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia, Portugal. 2015. Disponível em: <https://repositorio.ul.pt/handle/10451/26909>

SILVA, M. A. de A. Avaliação do consumo de açai (*Euterpe oleracea* mart.) na modulação da resposta inflamatória na artrite reumatóide experimental. 2021. Dissertação (Graduação em

Nutrição) - Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2021.

SHEN, N. *et al.* Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, v. 383, p. 132531, jul. 2022.

SOARES, P. M. G. *et al.* Gastrointestinal dysmotility in 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis outlasts inflammatory process resolution. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, v. 63, n. 1, p. 91–98, 1 dez. 2008.

SONG, M.-K.; PARK, M.-Y.; SUNG, M.-K. 5-Fluorouracil-induced changes of intestinal integrity biomarkers in BALB/c mice. *Journal of Cancer Prevention*, v. 18, n. 4, p. 322–329, 1 dez. 2013.

SONIS, S. T. The pathobiology of mucositis. *Nature Reviews Cancer*, v. 4, n. 4, p. 277–284, abr. 2004.

SOUGIANNIS, A. T. *et al.* Understanding chemotherapy-induced intestinal mucositis and strategies to improve gut resilience. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, v. 320, n. 5, p. G712–G719, 1 maio 2021.

SOUZA, A. L. *et al.* Consumption of Diet Containing Free Amino Acids Exacerbates Colitis in Mice. *Frontiers in Immunology*, v. 8, 20 nov. 2017.

SOUZA-MONTEIRO, J. R. *et al.* Anticonvulsant properties of Euterpe oleracea in mice. *Neurochemistry International*, v. 90, p. 20–27, 1 nov. 2015.

VEZZA, T. *et al.* Flavonoids in Inflammatory Bowel Disease: A Review. *Nutrients*, v. 8, n. 4, p. 211, 9 abr. 2016.

VISHVAKARMA, N. K.; NAGARAJU, G. P.; SHUKLA, D. *Colon Cancer Diagnosis and Therapy: Volume 2.* [s.l.] Springer Nature, 2021.

WANG, L. *et al.* “Puerarin Ameliorates 5-Fluorouracil-Induced Intestinal Mucositis in Mice by Inhibiting JAKs.” *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* vol. 379,2 (2021): 147-155. doi:10.1124/jpet.121.000677

YEOH, A. S. J. *et al.* A novel animal model to investigate fractionated radiotherapy-induced alimentary mucositis: the role of apoptosis, p53, nuclear factor- $\kappa$ B, COX-1, and COX-2. *Molecular Cancer Therapeutics*, v. 6, n. 8, p. 2319–2327, ago. 2007.

ZHANG, L. et al. Synergistic inhibition of lung cancer cells by EGCG and NF- $\kappa$ B inhibitor BAY11-7082. *Journal of Cancer*, v. 10, n. 26, p. 6543–6556, 21 out. 2019.

ZHEN, Y.; ZHANG, H. NLRP3 Inflammasome and Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Immunology*, v. 10, 28 fev. 2019.