



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS MINISTRO REIS VELOSO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

JOSÉ LOPES PEREIRA JÚNIOR

**ESTUDO DOS EFEITOS DO ALFA-BISABOLOS NA MUCOSITE
INTESTINAL EXPERIMENTAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL EM
CAMUNDONGOS**

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Santos Cerqueira
Co-orientador: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros

Parnaíba
2017

JOSÉ LOPES PEREIRA JÚNIOR

**ESTUDO DOS EFEITOS DO ALFA-BISABOOL NA MUCOSITE
INTESTINAL EXPERIMENTAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL EM
CAMUNDONGOS**

Defesa apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Reis Veloso como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

Área de concentração: Medicina I.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Santos Cerqueira
Co-orientador: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros

Parnaíba

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade Federal do Piauí

Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba

Serviço de Processamento Técnico

P436e Pereira Júnior, José Lopes.

Estudo dos efeitos do alfa-bisabolol na mucosite intestinal experimental induzida por 5-fluorouracil em camundongos [manuscrito] / José Lopes Pereira Júnior. – 2017.

98 f. : il. color.

Impresso por computador (printout).

Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) – Universidade Federal do Piauí, 2017.

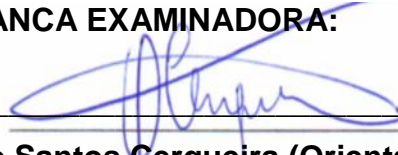
JOSÉ LOPES PEREIRA JÚNIOR

**ESTUDO DOS EFEITOS DO ALFA-BISABOLOL NA MUCOSITE
INTESTINAL EXPERIMENTAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL EM
CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Biomédicas-PPGCBM da
Universidade Federal do Piauí,
Campus Ministro Reis Velloso, como
requisito para a obtenção do título
de Mestre em Ciências Biomédicas.

APROVADA EM ___/___/___

BANCA EXAMINADORA:



Dr. Gilberto Santos Cerqueira (Orientador)
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas – UFPI

Dr. Felipe Cavalcante Carneiro da Silva (Membro externo)
Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas- UFPI

Dr. Jand Venes Rolim Medeiros (Membro interno)
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas - UFPI

Dr. Marcelo de Carvalho Figueiras (Membro interno)
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas - UFPI

“Bem sei que tudo Tu podes
e que nenhum de seus planos
podem ser frustrados” (Jó
42:2)

AGRADECIMENTOS

Á Deus pela oportunidade dada a mim em realizar este mestrado e pela força que me deste para enfrentar todas as dificuldades inerentes à vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Gilberto Santos Cerqueira, pela orientação, amizade, incentivo e compreensão no decorrer destes anos.

Ao grande professor e co-orientador prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros pela participação constante na pesquisa, pelas sugestões e por ter sido “meu pai” na orientação (afinal, pai é o que cria, o que oferece suporte).

Aos amigos e colegas do Laboratório FisiFarmacologia Experimental (LAFEX), Thiago Lopes, Nayara Alves, Beatriz, Luan Kelves, Ana Patrícia, Elenice, Ana Karolina, Natália, Iris, Simone, Kerolayne Melo, Bruno Illes, Matheus, Gabriela, Karol, Mariana e André, os quais se dispuseram em ensinar e ajudar na realização dos experimentos em todo decorrer do trabalho. Pelas horas de descontração, conversas paralelas e por tornarem o momento mais divertido e menos estressante. Por terem acolhido um indivíduo vindo de outra instituição e algumas vezes “atrapalhado”. Que DEUS abençoe a vida de cada um. Diva, Stefany, Jalles, Nayonara pelos bons momentos no laboratório em meio aos experimentos e boas conversas (vocês irão longe). À grande companheira Priscila Vieira por sempre compartilhar das idéias, bons e maus momentos da pesquisa.

Ao Núcleo de Microscopia e Processamento de Imagem (NEMPI) da Universidade Federal do Ceará (UFC), em nome da prof.^a Dra. Gerly Anne Brito pela realização de parte de meus experimentos. À Josy, Flávia, Deyse, Denise, Davyson e Júnior obrigado pelo suporte.

Ao meu pai, Sr. José Lopes que mesmo sem entender o “mundo da pesquisa” sempre me apoiou e alegrava-se por cada conquista de seu filho. Obrigado por compreender minhas ausências e por sempre dizer: “Cuidado. DEUS te acompanhe. Eu vou ficar bem”

À minha mãe Maria José, pelo apoio, compreensão e paciência. Obrigado por suas orações.

À minha irmã Marina que desde o início sempre apoiou minhas escolhas. Obrigado pela paciência comigo, obrigado por ter dado suporte aos nossos pais

em meus dias de ausência. Sempre lembrarei de você dizendo: “já vai ao laboratório novamente? “

À minha eterna turma de mestrado à quem carinhosamente batizei de “pelos olhos da fé”. Valeu por cada momento de estresse, medo, descontração, conversas acompanhadas de um bom café. Peço a DEUS que cuide de cada um, dando sabedoria para seguir nessa longa estrada chamada vida.

Aos meus alunos da Faculdade de Educação de Bacabal - FEBAC que sempre torceram por mim e estavam a perguntar: “professor como está seu mestrado? “ Acreditar no potencial de cada um faz com que cada vez mais busque aprimorar meus conhecimentos e assim repassar a vocês.

Aos professores de graduação e hoje colegas de pesquisa, em especial prof. Welington Alves (meu pai no mundo científico), prof.^a Fernanda Cerqueira, Carla Solange, Alessandra Camilo, Bernardo Melo por terem acreditado em meu potencial e por acompanharem meus primeiros passos na carreira de pesquisador e docente.

À congregação à qual faço parte o meu obrigado pelas orações, torcida e em especial ao meu dirigente por entender minhas ausências e correria.

À prof. Dr. Marcelo Filgueiras por ter aceito o convite em participar da banca de qualificação, tendo dado sugestões de grande valia ao trabalho.

Ao CNPq pelo suporte financeiro.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram em alguma etapa na execução de meu trabalho, o meu muito **OBRIGADO**, afinal, ninguém cresce sozinho.

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE QUADROS E TABELAS

1. INTRODUÇÃO	14
2.REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Câncer e quimioterapia	17
2.2.5-Fluorouracil	19
2.3. Intestino	22
2.4. Mucosite intestinal	24
2.5. Mediadores inflamatórios na mucosite intestinal	27
2.6. Produtos Naturais	29
2.7 Alfa-bisabolol	31
3. OBJETIVOS	35
3.1. Geral	35
3.2. Específicos	35
4.0 MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1. Animais	36
4.2. Drogas e Reagentes	36
4.3. Considerações Éticas	36
4.4. Indução da mucosite intestinal e protocolo de tratamento com α -bisabolol	37
4.5. Análise Ponderal	37
4.6. Análise morfométrica e histopatológica	38
4.7. Mieloperoxidase (MPO)	39
4.8.Determinação de grupos sulfidrilas (GSH)	39
4.9. Dosagem de nitrito	39
4.10. Imunohistoquímica para detecção de enzima iNOs)	40
4.11. Esvaziamento gástrico	40
4.12.Análise da concentração de mastócitos	42

4.13. Análise estatística.	42
5. RESULTADOS	43
5.1. Efeito do tratamento com α -bisabolol nas alterações histopatológicas em jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	43
5.2. Efeito do tratamento com α -bisabolol nos escores histopatológico de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.	45
5.3. Efeito do tratamento com α -bisabolol nas alterações morfológicas em vilos dos segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	447
5.4. Efeito do tratamento com α -bisabolol na profundidade das criptas dos segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	549
5.5. Efeito do tratamento α -bisabolol na relação vilo/cripta em segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	51
5.6. Efeito do tratamento com α -bisabolol na atividade de mieloperoxidase (MPO) em segmentos intestinais de jejuno íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	53
5.7. Efeito do tratamento com α -bisabolol na atividade de GSH nos segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzido por 5-FU.	55
5.8. Efeito do α -bisabolol sobre os níveis de nitrito em íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU	457
5.9. Efeito do α -bisabolol sobre a expressão de iNOs em segmentos de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	61
5.11. Efeito do tratamento com α -bisabolol na ação de mastócitos em jejuno de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.	63
5.12. Efeito do α -bisabolol no esvaziamento gástrico em camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	65
5.13. Efeito do tratamento com α -bisabolol na contagem de leucócitos de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU	67

5.14. Efeito do tratamento com α -bisabolol na variação de peso corporal dos animais tratados com 5-FU.....	69
6. DISCUSSÃO	71
7. CONCLUSÃO	80
REFERÊNCIAS	81
ANEXO.....	95

RESUMO

Estudo dos efeitos do α -bisabolol na mucosite intestinal experimental induzida por 5-Fluorouracil em camundongos

A mucosite intestinal é um dos efeitos colaterais mais debilitantes do tratamento com 5-Fluorouracil e está associada à dor, bacteremia e desnutrição. A destruição da mucosa intestinal leva à redução da absorção de nutrientes e maior vulnerabilidade à infecção. Na atualidade não há uma terapêutica eficiente para o tratamento dessa afecção. Sendo assim algumas estratégias terapêuticas vêm sendo testadas com o intuito de melhorar o quadro desses pacientes. Pesquisas apontam que o α -bisabolol, um álcool sesquiterpeno natural monocíclico encontrado nos óleos essenciais de camomila (*Matricaria chamomilla*), *Vanillosmopsis erythropappa* e outras plantas vem apresentando atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antinociceptivas e cicatrizante. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do α -bisabolol na mucosite intestinal experimental induzida por 5-FU. Para isso camundongos Swiss machos receberam 5-Fluorouracil (450 mg/Kg, i.p. dose única). Após a indução da mucosite os animais receberam por via orogástrica durante 3 dias α -bisabolol nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg e o grupo controle recebeu DMSO 2%. Quatro horas após o último dia de tratamento realizou-se o sacrifício dos animais para retirada dos segmentos intestinais de jejuno e íleo para a análise dos seguintes parâmetros: alterações histológicas, morfometria, dosagem dos níveis de nitrito/nitrato, GSH, mieloperoxidase, imunohistoquímica para iNOs e esvaziamento gástrico. Durante todo o experimento os animais foram pesados diariamente. Os resultados mostram que o 5-FU induziu comprometimento da barreira epitelial funcional com encurtamento das vilosidades intestinais, necrose parcial de criptas, vacuolização de células, presença de infiltrado neutrofílico e consumo de GSH. Animais tratados com α -bisabolol mostraram melhora na arquitetura intestinal com recuperação na altura das vilosidades e diminuição na profundidade das criptas em segmentos de jejuno e íleo, diminuição no infiltrado neutrofílico, aumento nos níveis de GSH e reverteu de forma significativa a mastocitose e leucopenia induzida por 5-FU, além de diminuir os níveis de nitrito. O α -bisabolol na dose de 100 mg/kg diminuiu a expressão de iNOs e o tempo de retenção gástrica. Em conclusão, nossos resultados evidenciam que a administração de α -bisabolol atenuou os danos inflamatórios através da diminuição de MPO e expressão de iNOs, além de reduzir o estresse oxidativo com diminuição de íons nitrito e aumento de GSH. O composto ainda diminuiu o encurtamento dos vilos e a profundidade das criptas.

Palavras-chave: 5-Fluorouracil, Mucosite, α -bisabolol, Trânsito gastrointestinal, Inflamação.

ABSTRACT

Study of the effects of α -bisabolol on experimental intestinal mucositis induced by 5-Fluorouracil in mice

Intestinal mucositis is one of the most debilitating side effects of 5-Fluorouracil treatment and is associated with pain, bacteremia and malnutrition. The destruction of the intestinal mucosa leads to reduced absorption of nutrients and greater vulnerability to infection. At present there is no effective treatment for this condition. Therefore, some therapeutic strategies have been tested with the aim of improving the clinical picture of these patients. Research has shown that α -bisabolol, a monocyclic natural sesquiterpene alcohol found in the essential oils of Chamomile (*Matricaria chamomilla*), *Vanillosmopsis erythropappa* and other plants has been shown to have antioxidant, anti-inflammatory, antinociceptive and cicatrizant activities. Thus, the objective of this work was to evaluate the effects of α -bisabolol on experimental intestinal mucositis induced by 5-FU. For this, male Swiss mice received 5-Fluorouracil (450 mg / kg, i.p. single dose). After induction of mucositis the animals received orogastric route for 3 days α -bisabolol at doses of 50, 100 and 200 mg / kg and the control group received DMSO 2%. Four hours after the last day of treatment the animals were sacrificed to remove the intestinal segments of jejunum and ileum for analysis of the following parameters: histological changes, morphometry, nitrite / nitrate levels, GSH, myeloperoxidase, immunohistochemistry for iNOs and gastric emptying. Throughout the experiment the animals were weighed daily. The results that 5-FU induced impairment of the functional epithelial barrier with intestinal villi shortening, partial cryptic necrosis, cell vacuolization, presence of neutrophil infiltrate and GSH consumption. Animals treated with α -bisabolol showed improvement in intestinal architecture with recovery at villus height and decrease in crypt depth in segments of jejunum and ileum, decrease in neutrophil infiltrate, increase in GSH levels and significantly reversed mastocytosis and induced leukopenia by 5-FU, in addition to reducing nitrite levels. α -bisabolol at the dose of 100 mg / kg decreased iNOs expression and gastric retention time. In conclusion, our results evidence that the administration of α -bisabolol attenuated the inflammatory damage through the reduction of MPO and iNOs expression, besides reducing the oxidative stress with decrease of nitrite ions and increase of GSH. The compound further decreased the shortening of the villi and the depth of the crypts.

Keywords: 5-Fluorouracil. Mucositis. α -bisabolol. Gastrointestinal tract. Inflammation.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AP-1- Proteína ativadora
CA- Câncer
CPT-11- Cloridrato de irinotecano
DIIs - Doenças Inflamatórias Intestinais
DMSO- Dimetilsufóxido
DNA- Ácido desoxirribonucleico
DTNB- 5,5-ditio-bi-2-nitrobenzóico
EDTA - Ácido etilenodiamino Tetra-Acético
EROs- Espécies Reativas de Oxigênio
FdUMP- Fluorodioxuridina monofosfato
FdUTP- Fluorodioxuridina trifosfato
FUTP -Fluorouridina trifosfato
GSH- Glutathiona
HE - Hematoxilina e Eosina
HTAB - Hexadecitrimetilamônio
H₂O₂ - Peróxido de hidrogênio
INCA- Instituto Nacional do Câncer
iNOs- Óxido nítrico sintase induzível
MDA- Malondialdeído
MPO- Mieloperoxidase
NO - Óxido nítrico
pH - Potencial hidrogeniônico
RNA- Ácido ribonucleico
SOD- Superóxido dismutase
TCA- Ácido tricloroacético
TNF-alfa- Fator de necrose tumoral
TRIS -Tampão tris-hidroximetilaminometano
TS- Timidilato sintase
EROs -Espécies reativas de oxigênio
RPM- Rotação por minuto
NaCl -Cloreto de sódio
NaOH- Hidróxido de sódio

NFκB - Fator nuclear Kappa beta

UFPI - Universidade Federal do Piauí

UFC - Universidade Federal do Ceará

5-FU - 5-Fluorouracil

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Classificação de agentes antineoplásicos de Calabresi e Chabner ..	18
Figura. 2 Estrutura de bases nitrogenadas pirimidinas.....	20
Figura 3. Mecanismo hepático do 5-FU.....	22
Figura 4. Representação esquemática das partes que compõem a porção intestinal animal.....	24
Figura 5 Fases da mucosite	25
Figura 6. Flores de <i>Matricharia chamomila</i>	32
Figura 7. Representação dos diastereoisômeros do alfa -bisabolol	32
Figura 8. Estrutura molecular do α -bisabolol (C ₁₅ H ₂₆ O).....	33
Figura 9. Delineamento experimental de indução da mucosite e tratamento com alfa-bisabolol	377
Figura 10. Sistema de escores histológicos de Macpherson e Pfeiffer	388
Figura 11. Efeito do tratamento com α -bisabolol nas alterações histopatológicas em segmentos de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	694
Figura 12. Efeito do tratamento com α -bisabolol nas alterações morfométricas em vilos dos segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU	678
Figura 13. Efeito do tratamento com α -bisabolol na profundidade das criptas em segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	50
Figura 14. Efeito do tratamento com α -bisabolol na relação vilo/cripta em segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	52
Figura 15. Efeito do tratamento com α -bisabolol na atividade de mieloperoxidase (MPO) em segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU	Erro! Indicador não definido. 4
Figura 16. Efeito do tratamento com α -bisabolol na atividade de GSH nos segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	56

Figura 17. Efeito do α -bisabolol sobre os níveis de nitrito em jejuno de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.	58
Figura 18. Efeito do tratamento com α -bisabolol sobre a expressão de iNOs em segmentos de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	60
Figura 19. Efeito do tratamento com α -bisabolol na contagem de mastócitos em jejuno de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	62
Figura 20. Efeito do tratamento com α -bisabolol na contagem de mastócitos em jejuno de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	64
Figura 21. Efeito do tratamento com α -bisabolol no esvaziamento gástrico em camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	66
Figura 22. Efeito do tratamento com alfa-bisabolol na contagem de leucócitos dos animais tratados com 5-FU.....	68
Figura 23. Efeito do tratamento com α -bisabolol na variação de peso corporal dos animais com mucosite intestinal induzida por 5-FU	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais efeitos tóxicos oriundos do uso dos antineoplásicos	19
Tabela 2. Efeito do tratamento com α -bisabolol nos escores histopatológicos de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.....	46

1. INTRODUÇÃO

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células, que invadem tecidos e órgãos. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores malignos, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo (INCA, 2016).

Apesar do tratamento farmacológico do câncer ter tido significativo avanço a partir de 1950, infelizmente mais de 50% de todos os pacientes não respondem à terapia inicial. Além disso, estes agentes farmacológicos não são específicos apenas para as células tumorais e, portanto, atingem todas as células gerando efeitos citotóxicos (CHEN *et al.*, 2016).

Tais efeitos colaterais são bastante comuns em pacientes portadores de câncer submetidos a tratamento com agentes quimioterápicos diversos, em especial, os antimetabólitos, como por exemplo, o metotrexato e 5-fluorouracil, além de outros agentes como cisplatina, doxorubicina e ifosfamida (CARDANI *et al.*, 2014; ALENCAR *et al.*, 2016). O quimioterápico antimetabolito 5-fluorouracil (5-FU) é uma das drogas mais prescritas no tratamento de diversos tipos de câncer, incluindo mama, pâncreas, cabeça, pescoço e gastrointestinal (CARDANI *et al.*, 2014; ABDELRAHMAN *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2016).

O 5-Fluorouracil (5-FU) é um análogo da pirimidina, tendo seu uso como terapia de câncer realizado pela primeira vez em 1960. A droga atua inibindo de forma irreversível a enzima timidilato-sintase, que está envolvida na replicação e reparação do DNA (JONES *et al.*, 2015), além de incorporar os seus metabolitos tóxicos ao DNA e RNA, levando ao bloqueio do ciclo celular e apoptose (TUNG *et al.*, 2011).

Os principais efeitos colaterais do 5-FU incluem mielossupressão, diarreia, cardiotoxicidade, dermatite, mucosites oral e intestinal, sendo esta relatada em aproximadamente 80% dos pacientes que receberam o tratamento com 5-FU, além de gerar variações na morfologia intestinal, podendo perturbar barreiras físicas e favorecer a translocação de microorganismos, aumentando a possibilidade de sepse (YAMAMOTO *et al.*, 2013; YASUDA *et al.*, 2013; YOSHIDA *et al.*, 2014).

A mucosite é um processo complexo, multifatorial que afeta todas as camadas do trato gastrointestinal sendo caracterizada por apoptose, redução na proliferação de células epiteliais, diminuição nas criptas intestinais, atrofia das vilosidades e deposição de colágeno (WONG *et al.*, 2015). O quadro inclui ainda sintomas como dor, náuseas, vômitos, ulceração, diarreia, sangramento retal, formação de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) e aumento na secreção de citocinas pró-inflamatórias (LIU *et al.*, 2013). Estes sintomas podem levar a condições sistêmicas graves e associam-se com menor consumo de alimentos, perda de peso e estado nutricional diminuído (MAIOLI *et al.*, 2014).

Tais manifestações podem impedir a eficácia dos protocolos de tratamento quando em alguns casos há a necessidade de interrupção da quimioterapia, redução na dose de medicamento ou mudança para outras drogas antitumorais gerando em alguns casos ineficácia no tratamento (CARDANI *et al.*, 2014).

Sendo assim, uma variedade de estratégias têm sido pesquisadas objetivando diminuir os efeitos da mucosite, dentre as quais encontram-se medicamentos com atividade antiapoptóticas, antioxidantes, protetoras de mucosas, antimicrobianas, anti-inflamatórias e crioterapia (CALLAGHAN *et al.*, 2013; ARAS *et al.*, 2013; YEUNG *et al.*, 2015).

O α -bisabolol (BISA) é um álcool sesquiterpeno extraído a partir do óleo essencial de uma variedade de plantas, arbustos e árvores. Foi isolado pela primeira vez em 1951 do óleo essencial de *Matricaria chamomilla* (Asteraceae), popularmente conhecido como Camomila, que contém até 50% de α -bisabolol (SAMPAIO *et al.*, 2016). O composto vem apresentando diversas atividades tais como antiapoptóticas (UNO MASARONI *et al.*, 2016), antinociceptivas e anti-inflamatórias (NURULAIN *et al.*, 2015), e antileishmania (CORPAS-LÓPEZ *et al.*, 2015).

KIM e colaboradores (2011) ao estudar os efeitos do BISA sobre os parâmetros inflamatórios induzidos por LPS observaram diminuição na expressão dos níveis de COX-2, PGE-2 e iNOS, sendo tal mecanismo sugestivo de sua atividade anti-inflamatória. O composto foi capaz de reduzir lesões gástricas associadas à administração de etanol diminuindo o influxo de células inflamatórias, além de reduzir o estresse oxidativo (ROCHA *et al.*, 2011). A atividade anti-inflamatória de BISA é reforçada ainda por BARRETO *et al.*, (2016)

mostrando depleção nos níveis de TNF- α e IL-1 β em modelos de dor e inflamação. A diminuição de mediadores inflamatórios é sugestivo para o possível mecanismo de ação do alfa-bisabolol. Soma-se ainda a segurança do composto, sendo apontado na literatura que o mesmo não apresenta sinais de toxicidade através da administração oral até a dose de 5g/kg (BATHIA et al., 2008).

Nesse contexto, as diversas propriedades farmacológicas do composto somadas à sua larga janela terapêutica, o colocam como possível agente terapêutico podendo vir a ser utilizado no controle da mucosite intestinal, tendo características que o possibilitam tornar-se um medicamento disponível no mercado.

É importante salientar que na atualidade não existe um fármaco padrão para o tratamento da mucosite intestinal e vários pacientes em uso de quimioterápicos apresentam esse efeito colateral. Assim, há a necessidade de uma terapêutica alternativa, eficaz, segura e acessível que possa minimizar as manifestações no curso desse efeito colateral que limita o tratamento de pacientes oncológicos e causa aumento de custos, incluindo risco de morte aos pacientes.

Assim, a realização desse trabalho consiste no estudo da ação protetora do composto alfa-bisabolol na mucosite intestinal experimental induzida por 5-FU.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Câncer e quimioterapia

Atualmente, a definição científica de câncer refere-se ao termo neoplasia, especificamente aos tumores malignos, como sendo uma doença caracterizada pelo crescimento descontrolado de células transformadas determinando a formação de tumores malignos, que podem espalhar-se para outras regiões do corpo (INCA, 2016; SIEGEL *et al.*, 2016).

O câncer é considerado um dos maiores problemas de saúde pública na atualidade, sendo a segunda causa de morte em regiões mais desenvolvidas (INCA, 2016). Há uma projeção de 27 milhões de novos casos para o ano de 2030 em todo o mundo, e 17 milhões de mortes pela doença. Dentre os tipos mais incidentes estão os de pele não melanoma, próstata, mama, colorretal, pulmão e estômago (RIBEIRO, VALENCA, BONAN, 2015).

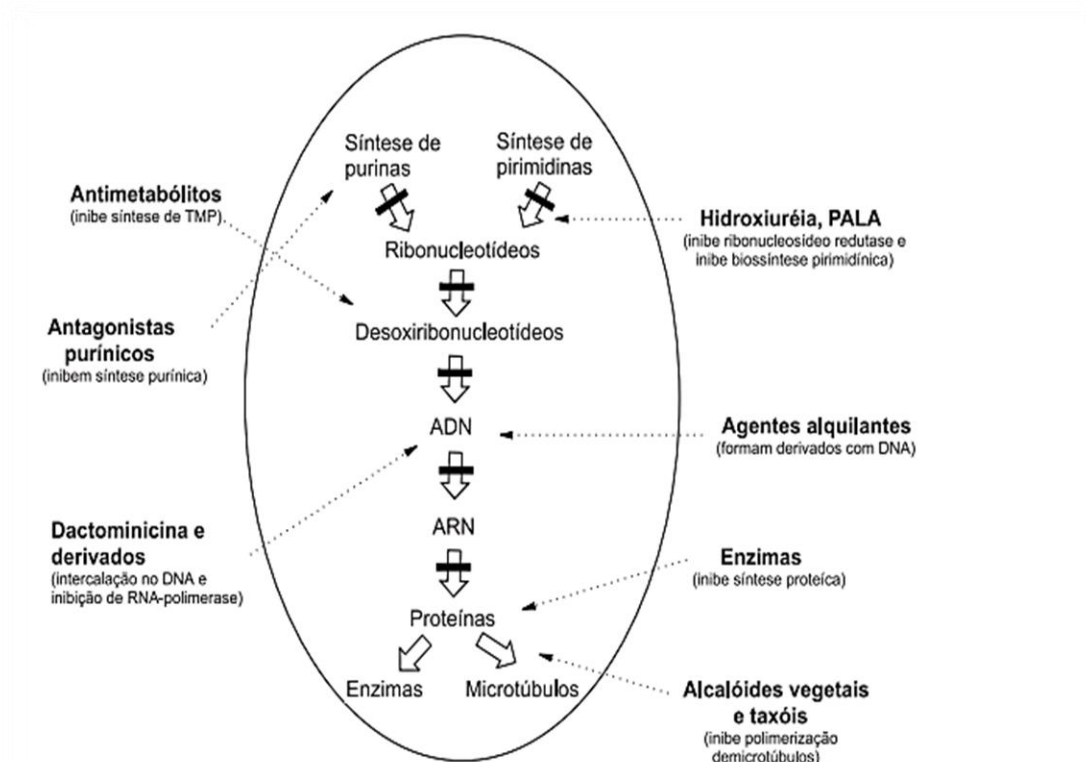
O câncer promove diversas consequências na vida dos pacientes e de seus familiares, os quais têm suas vidas alteradas nas diferentes fases de combate à doença, com perdas significativas na qualidade de vida, causado pela própria doença ou pelos efeitos colaterais do tratamento por meio da quimioterapia, sendo esta uma das principais formas de tratamento do câncer, a qual envolve a administração de uma ou mais drogas para eliminar células tumorais as quais em alguns casos não são alçadas por cirurgia ou estão além dos limites da radioterapia (RODRIGUES, PINHO, MANCERA, 2012; BOING *et al.*, 2016).

A quimioterapia constitui uma das modalidades de maior escolha para produzir cura, controle e palição, envolvendo o uso de substâncias citotóxicas, administradas principalmente por via sistêmica (endovenosa) e pode ser classificada de acordo com a sua finalidade: quimioterapia adjuvante, quimioterapia neoadjuvante, quimioterapia primária, quimioterapia paliativa, monoquimioterapia e poliquimioterapia (DE SOUZA RODRIGUES, 2012; NICOLUSSI *et al.*, 2014). A maior parte dos agentes antineoplásicos atuam sobre o DNA, impedindo a duplicação celular, atuando em todas as fases do

ciclo, em uma fase específica ou em células que não estão no ciclo celular (FUCHS, WANNMACHER, 2014).

A ilustração abaixo apresenta os principais mecanismos de ação dos antineoplásicos.

Figura 1. Classificação de agentes antineoplásicos de Calabresi e Chabner.



Fonte: ALMEIDA *et al.*, 2005

Por suas atividades antiproliferativas, os agentes antineoplásicos danificam o DNA e, portanto, desencadeiam o processo de apoptose. Além disso, afetam rapidamente as células normais em rápida divisão, produzindo então, em maior ou menor grau, os conhecidos efeitos colaterais de uma quimioterapia. Dentre tais células afetadas encontram-se as do sistema hematopoiético, mucosa do trato gastrointestinal, folículos capilares, medula óssea, levando à inúmeros efeitos, tais como comprometimento no processo de cicatrização, causar esterilidade, queda dos cabelos, mucosite e teratogenicidade (SUSPIRO, PRISTA, 2012; BERNARDI, JACQUES-SILVA, LENZ; 2013). Essa inespecificidade e a interação com tecidos com alta taxa

mitótica acarreta uma série de efeitos secundários, os quais podem apresentar-se de forma precoce ou tardia.

A Tabela 1 retrata os principais efeitos secundários oriundos do uso de antineoplásicos.

Tabela 1. Principais efeitos tóxicos oriundos do uso dos antineoplásicos

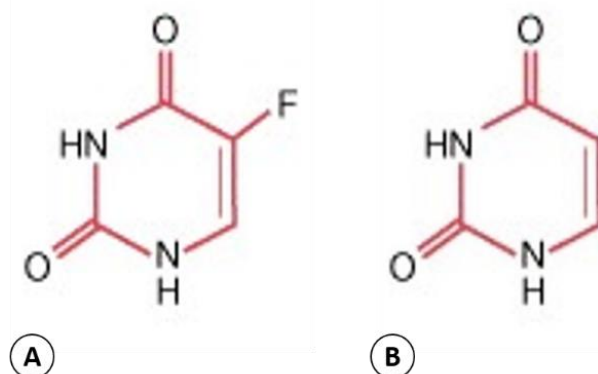
Precoces (0 a 3 dias)	Imediatos (7 a 21 dias)	Tardio (meses)	Ultra-tardio (meses ou anos)
Náuseas	Mielossupressão	Cardiomiopatia	Infertilidade
Vômitos	Mucosite	Alopecia	Carcinogênese
Adinamia	Cistite hemorrágica	Pneumonite	Distúrbios do crescimento
Artralgia	Imunossupressão	Neurotoxicidade	Sequelas no Sistema Nervoso Central
Exantema	Anemia	Nefrotoxicidade	Fibrose
Flebite	Granulocitopenia		Cirrose hepática

Fonte: Autoria própria, adaptado de INCA, 2016

2.2 .5-Fluorouracil

O 5-Fluorouracil (figura 2a) é uma droga classificada como antimetabólito desenvolvida em 1957 como tratamento potencial para cânceres avançados, sendo um dos agentes anti-neoplásicos mais eficazes no tratamento de diversos tipos de câncer, tais como: colo-retal, cabeça, pescoço, gastrointestinal, ginecológico, próstata, pâncreas, pele e carcinoma (KIM *et al.*, 2015; ELBELTAGY *et al.*, 2012; WENANDE *et al.*, 2016).). Apresenta-se como uma pirimidina fluorada, preparado a partir da substituição de um átomo de hidrogênio por outro mais estável de Flúor na posição 5 da molécula de uracila (figura 2b).

Figura 2. Estrutura de Bases Nitrogenadas Pirimidinas. **A:** 5-Flourouracil; **B:** Uracila. (Fonte: Adaptado de PIZZORNO et al., 2003).



A ação desse quimioterápico não se limita somente às células neoplásicas, com isso, essas drogas podem atuar em células normais tendo como resultado importantes efeitos colaterais que em determinadas situações podem determinar desde a redução do esquema terapêutico como a sua total interrupção, assim, podendo trazer grande prejuízo na eficácia do tratamento oncológico (JUSTINO *et al.*, 2011). Seus efeitos adversos variam consideravelmente de acordo com o tratamento, dose utilizada e via de administração e são mais evidentes em células com grande índice de mitoses, como tecidos de rápida proliferação (VANLANCKER *et al.*, 2016).

Devido sua toxicidade, o 5-FU gera inúmeros efeitos adverso, tais como: neurotoxicidade, através da redução da neurogênese e conseqüentemente problemas cognitivos (ELBELTAGY *et al.*, 2012), cardiotoxicidade, isquemia, infarto agudo do miocárdio, cardiomiopatia (FOCACCETTI *et al.*, 2015), hepatotoxicidade, mielosupressão (KUMAR *et al.*, 2010; KOBUCHI *et al.*, 2016), alopecia, fadiga (MINHAS *et al.*, 2016), reações cutâneas que incluem eritema, bolhas, prurido, necrose (HADDOCK; COHEN, 2016), Na medula óssea resulta em granulocitopenia e trombocitopenia além de distúrbios gastrointestinais como lesão da mucosa intestinal e oral, faringite, esofagite e colite (KAWASHIMA *et al.*, 2015).

Na região intestinal, o 5-FU pode levar à atrofia das vilosidades e necrose das criptas como resultado de danos no tecido da mucosa, devido à infiltração de células inflamatórias, liberação de citocina pró-inflamatória e formação de

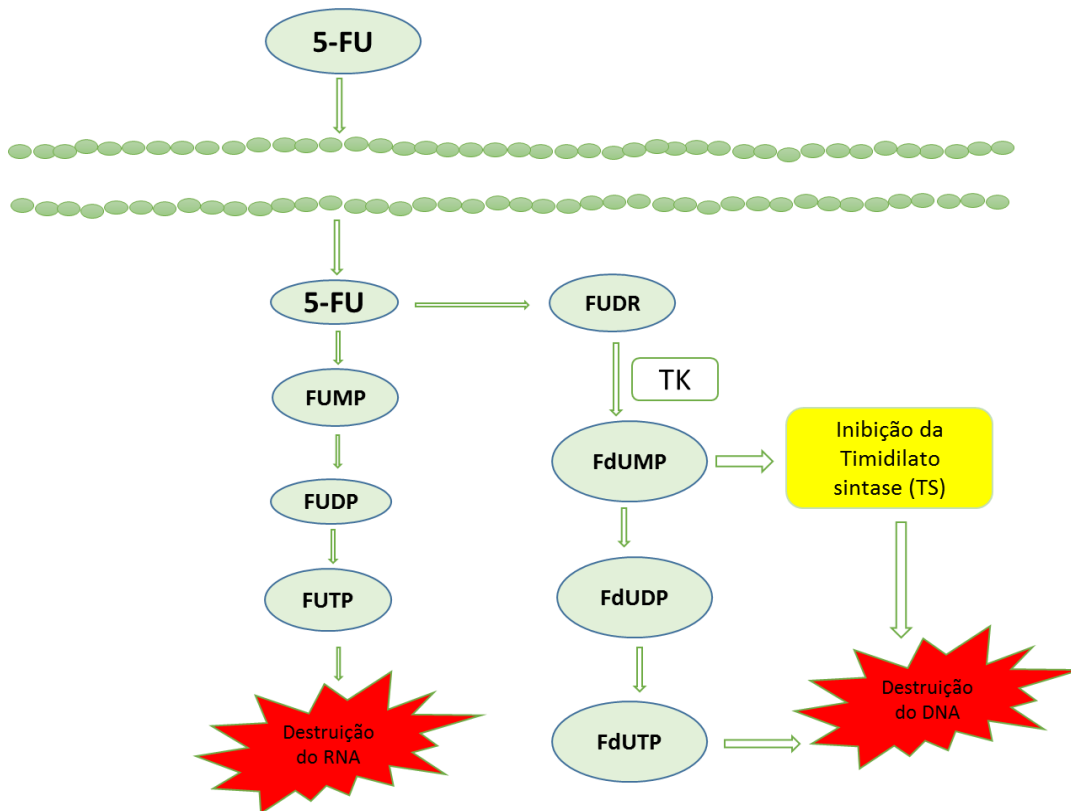
edema. Aumento da apoptose de células epiteliais e parada da divisão celular nas criptas intestinais podem levar a um colapso da barreira epitelial intestinal e translocação bacteriana luminal contínua (ARAÚJO *et al.*, 2015).

Comumente o 5-FU é administrado por injeção intravenosa (THOMAS *et al.*, 2015), entretanto, a depender do câncer, o 5-FU pode ser administrado por outras vias, como oral (PANGENI *et al.*, 2016) e tópica (RAJINIKANTH; CHELLIAN, 2016). Além da possibilidade de novas formulações com sistema de liberação controlada e continuada do 5-FU no tecido alvo (MINHAS *et al.*, 2014; UDOFOT *et al.*, 2015; WENANDE *et al.*, 2016), bem como da combinação do 5-FU com outros agentes antineoplásicos, por meio de administração concomitante das drogas, melhorando o efeito da quimioterapia contra as células cancerígenas, e reduzindo a toxicidade nas células normais (KOBUCHI *et al.*, 2014; GAO *et al.*, 2016; ITO *et al.*, 2016; SUZUKI *et al.*, 2016).

O 5-FU pode ser administrado na forma direta ou na forma de pró-droga, como exemplo a Capecitabina (N4-pentiloxicarbonil-5'-desoxi-5-fluorocitidina), uma solução administrada oralmente de fluoropirimidina carbamato 5-FU. A pró-droga é convertida em 5-FU através de uma cascata enzimática envolvendo três enzimas chaves, entre elas a timidina fosforilase (TP), culminando ao final, na liberação de 5-FU (FOCAC CETTI *et al.*, 2015; DERISSEN *et al.*, 2016).

5-FU é convertido em vários metabolitos ativos: o Trifosfato fluorouridina (FUTP), que é incorporada no RNA em vez de trifosfato de uridina (UTP); o Trifosfato fluorodesoxiuridina (FdUTP), que é incorporado no DNA ao invés de desoxitimidina-trifosfato (dTTP); e o monofosfato fluorodesoxiuridina (FdUMP), que forma um complexo estável com a timidilato sintase (TS), inibindo a produção de monofosfato de desoxitimidina (dTMP) (KUMAR *et al.*, 2010). A dTMP é essencial para a replicação e reparação do DNA, e sua depleção, por conseguinte, causa citotoxicidade (NOORDHUIS *et al.*, 2004; HOSKINS; BUTLER, 2007; MIURA *et al.*, 2010).

Figura 3. Mecanismo hepático do 5-FU



Fonte: Adaptado de LONGLEY, D. B.; HARKIN, D. P. JOHNSTON, 2003. O 5-FU entra nas células por meio de transporte facilitado. No meio intracelular, é convertido em três metabólitos ativos principais: (monofosfato de fluorodeoxiuridina (FdUMP), trifosfato de fluorodeoxiuridina (FdUTP) e trifosfato de fluorouridina (FUTP).

2.3 Intestino

O intestino é um dos órgãos mais complexos do corpo humano, tanto do ponto de vista anatômico quanto funcional. A função epitelial é realizada por quatro tipos de células: os enterócitos responsáveis pela absorção, e três tipos de células secretoras (células caliciformes produtoras de muco, células de Paneth produtoras de substâncias antibacterianas e por células enteroendócrinas que regulam saciedade, absorção intestinal e secreção de hormônios (MORAIS, 2016).

O epitélio intestinal, ocupa uma superfície de cerca de 400 m² com uma camada de células organizadas em criptas e vilosidades. Esse epitélio atua com uma barreira, prevenindo a perda de água e eletrólitos, além da entrada de antígenos e microorganismos para dentro do corpo (BISCHOFF *et al.*, 2014).

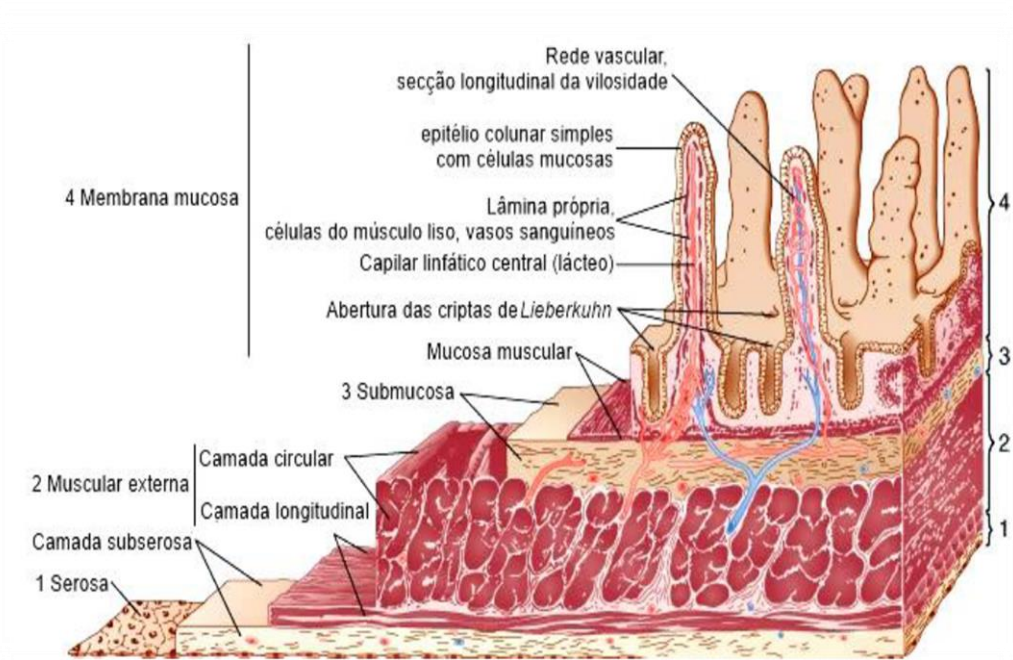
Esta superfície é continuamente renovada por células epiteliais intestinais pluripotentes que residem na base das criptas (PETERSON, ARTIS; 2014).

A camada mucosa de mamíferos, em geral apresenta uma alta capacidade de renovação, ocorrendo uma troca completa dos tipos celulares de revestimento a cada 24 a 96 hs. Desta forma, o perfeito equilíbrio entre a perda celular e a capacidade proliferativa permite que haja preservação estrutural e integridade funcional da superfície epitelial celular, processo este que faz-se importante em processos que levam à uma lesão da mucosa (BARKER, 2014).

A função da barreira intestinal é altamente susceptível aos efeitos causados pelas drogas antineoplásicas devido à sua rápida taxa de *renovação* celular, de cerca de três a quatro dias, e essas drogas podem afetá-la de diferentes formas, como rompimento da barreira epitelial, reações inflamatórias da mucosa e translocação bacteriana (DUNCAN; GRANT, 2003; BOWEN *et al.*, 2006). Estima-se que a contagem de células total de bactérias em nosso corpo excede dez vezes o número total de células humanas, com mais de um milhão de espécies alojadas no trato gastrointestinal (MICHIELAN, D'INCÀ; 2015).

A perda da barreira epitelial pode ocorrer como resultado de danos em células epiteliais direta ou através de alterações mais sutis na permeabilidade. Estas formas de perda de barreira intestinal, quando desreguladas, contribuem para a iniciação e propagação de doenças inflamatórias do intestino (DIIs), doença de Crohn e colite ulcerativa (NALLE, TURNER; 2015)

Figura. 4. Representação esquemática das partes que compõem a porção intestinal animal.



Fonte: SANTOS-FILHO adaptado de MISADOR, 2004

2.4. Mucosite intestinal

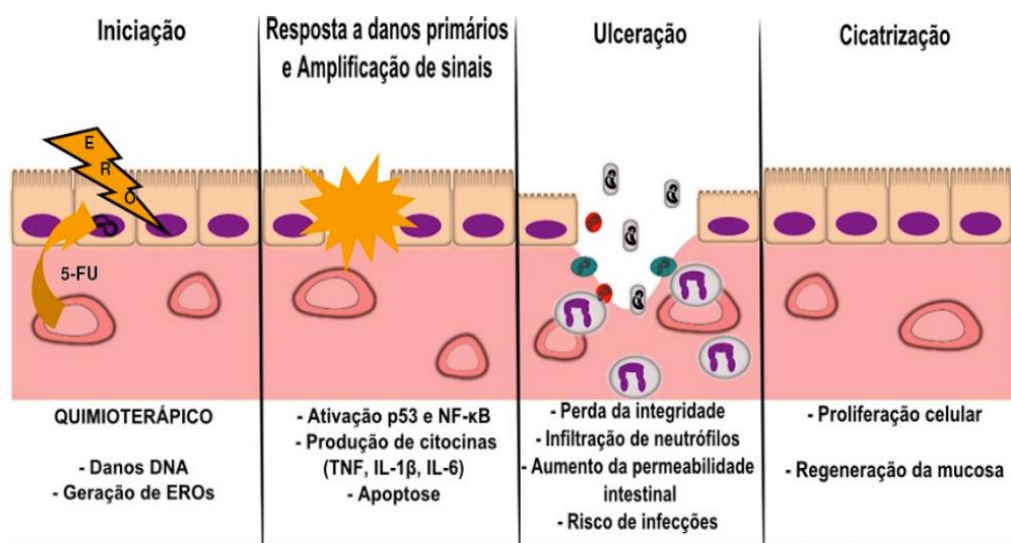
A mucosa que reveste o trato gastrointestinal (TGI) forma uma barreira seletiva entre o meio interno e externo. Da boca ao reto, a terapia citotóxica para o câncer (radiação e quimioterapia) pode levar à disfunção e ruptura deste revestimento mucoso com uma fisiopatologia envolvendo morte celular epitelial e endotelial, bem como a ativação do sistema imune da mucosa (CIORBA, 2017)

A mucosite induzida por antineoplásicos é um fator limitante na terapia anticâncer. Mucosite é um termo clínico utilizado para caracterizar ulcerações da mucosa de todo o trato digestivo, e sintomas pertinentes (SONIS, 2004; LALLA *et al.*, 2014; TANG *et al.*, 2016). Mucosite constitui-se uma das complicações mais comuns da quimioterapia, em especial com as drogas que afetam a síntese de DNA (agentes específicos da fase S, tais como fluorouracil, metotrexato e citarabina). Ocorre em 40% dos pacientes após a quimioterapia de dose padrão, e em 100% dos pacientes submetidos à quimioterapia de dose elevada e

transplante de células estaminais ou medula óssea e não só contribui para a morbidade do tratamento, mas também ao seu custo (SUKHOTNIK *et al.*, 2014).

A mucosite intestinal conduz à atrofia das vilosidades, dificultando a absorção de nutrientes necessários para o funcionamento normal do corpo que conduz à má absorção de nutrientes (KARBELKAR *et al.*, 2016).

Figura 5. Fases da mucosite



Fonte: SONIS, 2014

A patogênese da mucosite induzida por quimioterapia gastrointestinal inclui cinco fases (figura. 5): iniciação pela quimioterapia, a sobre-regulação e geração de sinais de mensageiro, a sinalização por citocinas pró-inflamatórias e amplificação de lesão da mucosa, ulceração da mucosa e, finalmente, a cura (SONIS, 2014; BASTOS *et al.*, 2016).

De início, a aplicação de radiação e/ou quimioterapia danifica diretamente o DNA e causa quebras nas fitas, resultando em morte das células basais epiteliais. Dano ainda mais significativo a nível tecidual é a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) com o aumento nos níveis de citocinas pró-inflamatórias, os quais atuam como um marcador para células do sistema imunológico (SUKHOTNIK *et al.*, 2014; SONIS, 2009).

O excesso de espécies reativas de oxigênio geradas nas fases iniciais e de indução da mucosite e, conseqüentemente o consumo de grandes quantidades de antioxidantes gera um desequilíbrio no estado redox com instalação do estresse oxidativo (MONDIN *et al.*, 2016; YOSHINO *et al.*, 2016). Arifa e colaboradores (2016) em estudo realizado relatam presença de estresse oxidativo em mucosite intestinal induzida por irinotecano.

Na segunda fase, denominada resposta a danos primários, ocorrem diversos eventos simultâneos (figura 5). Os danos causados ao DNA pelo quimioterápico, EROs e espécies reativas de nitrogênio promovem ativação de fatores de transcrição como p53 relacionado à regulação do ciclo celular e apoptose e NF-κB envolvido na regulação da expressão de citocinas inflamatórias e moléculas de adesão (SONIS *et al.*, 2010; BOWEN *et al.*, 2006; MAEDA *et al.*, 2010).

O acúmulo de sucessivas alterações biológicas induzidas por radiação e/ou quimioterapia resulta em uma cascata de eventos que culmina com a destruição da mucosa intacta. No decorrer da fase de sinalização e amplificação, muitas das moléculas induzidas pela resposta primária podem (através de *feedback* positivo ou negativo) alterar a resposta do tecido local (SONIS *et al.*, 2007; SONIS, 2010). Produtos de parede celular, como lipopolissacarídeos, ácido lipoteicoico, antígenos de parede celular penetram na submucosa rica em macrófagos para estimular as células a continuar secretando citocinas pró-inflamatórias (SONIS, 2009; SONIS, 2010).

A fase ulcerativa é o maior evento associado com mucosite. Sua evolução se dá como consequência direta ou indireta dos mecanismos acima citados, causando danos e alterações apoptóticas ao epitélio da mucosa. As ulcerações provenientes da mucosite são profundas e rapidamente colonizadas por bactérias (SONIS, 2011; LEOCÁDIO, 2013).

Após a fase ulcerativa ocorre a fase de cicatrização, onde a mesma ocorre espontaneamente. A cura das ulcerações é o resultado de um processo biológico ativo em que sinalizadores da matriz extracelular da submucosa guiam a proliferação, migração e diferenciação do epitélio ao redor da úlcera (DOS SANTOS FILHO *et al.*, 2016).

2.5 Mediadores inflamatórios na mucosite intestinal

Evidências crescentes sugerem que nos processos inflamatórios ocorre intensa participação de citocinas pró-inflamatórias, que incluem interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-1 β e citocinas anti-inflamatórias, tais como Interleucina-10 (IL-10), as quais estão envolvidas neste processo (MONDIN *et al.*, 2016).

O TNF- α , produzido principalmente por macrófagos, é uma citocina pró-inflamatória que interage com uma variedade de sinais resultando em uma estimulação indireta de inflamação e agindo em diferentes partes do corpo promovendo uma resposta imune e inflamatória por meio do recrutamento de neutrófilos e monócitos para o local da infecção, além de ativá-los (VITALLE, RIBEIRO, 2007; HAAGEN *et al.*, 2009). O TNF- α é o principal fator presente no processo de regulação da função da barreira intestinal sobre os processos inflamatórios, sendo uma citocina evidente na doença inflamatória intestinal (KANAREK *et al.*, 2014)

Alvarenga e colaboradores, (2016) encontraram níveis aumentados de TNF- α em segmentos intestinais de animais tratados com antineoplásico irinotecano. De Araújo Júnior *et al.*, (2014) encontraram níveis elevados de TNF- α em modelos de mucosite intestinal decorrente do uso de metotrexato. Freitas e colaboradores (2011) estudando modelos de mucosite oral em hamster tratados com 5-FU mostraram por imunohistoquímica um aumento na expressão de TNF- α . Junto com TNF- α , IL-1 β é uma citocina importante que está envolvida na ativação da via de NF- κ B.

A interleucina-1 (IL-1 β) é um mediador pró-inflamatório presente na inflamação aguda e crônica e um poderoso indutor da resposta imune inata. A IL-1 β é produzida por células hematopoiéticas tais como monócitos sanguíneos, macrófagos teciduais e células dendríticas em respostas à diversos estímulos. A produção de IL-1 β pode ser estimulada por fatores microbiológicos e não microbiológicos, tais como outras citocinas e irradiação. A mesma pode ainda induzir sua própria produção e processamento, sendo este um passo fundamental na patogênese de muitas doenças inflamatórias. A IL-1 β é conhecida por desempenhar um papel chave na inflamação e tem relevância específica na inflamação intestinal, podendo estar envolvida no processo de

apoptose das células de criptas produzindo perda na arquitetura do intestino (CHANG *et al.*, 2012; GARLANDA, DINARELLO, MANTOVANI, 2013; VAN TASSELL *et al.*, 2013).

IL-1 β e TNF- α apresentam efeito sinérgico, por exemplo causando indução de moléculas de adesão endotelial, tais como as I-CAMs (moléculas de adesão intracelular) que são essenciais nas fases iniciais da resposta inflamatória (MATEOS, MARTINEZ, CASTILLA, 2000; LOGAN *et al.*, 2007). A regulação positiva da IL-1 β após dano ao DNA é observada em pacientes com câncer com mucosite e que o tratamento com anti-IL-1 β pode melhorar a mucosite assim como os múltiplos distúrbios associados à permeabilidade da barreira (KANAREK *et al.*, 2014). Aumento nos níveis de IL-1 β foram encontrados em linhagens de células tratadas com metotrexato (OLSEN, SPURLOCK, AUNE; 2014).

Ativação de NF-kB é induzida por uma variedade de agentes, incluindo bactérias, vírus, citocinas, estresse oxidativo, além de radiação ionizante e quimioterapia. Uma vez ativado, NF-kB regula positivamente uma quantidade elevada de genes, muitos dos quais são potencialmente importantes em doenças e lesões da mucosa, além de genes associados à expressão de citocinas pró-inflamatórias, fatores de crescimento, moléculas de adesão. NF-kB também tem como alvo uma variedade de genes relacionado à apoptose (CURRA *et al.*, 2015). Outros genes os quais são ativados pela expressão positiva de NF-kB são os da cicloxigenase.

A COX-2 é uma forma indutível da enzima cicloxigenase e é expressa principalmente em resposta a estímulos inflamatórios e medeia a produção de prostaglandinas que intensificam o processo inflamatório. A expressão de COX-2 é estimulada por citocinas pró-inflamatórias, tais como interleucina-1 e TNF- α em muitas células, incluindo células endoteliais, macrófagos e fibroblastos. Recentemente, observou-se aumento da expressão de COX-2 em fibrose de alguns tecidos, como fígado, mucosa oral e coração (GUNTER *et al.*, 2006).

Estudos indicam que a COX-2 tem um papel importante na patogênese da mucosite. Descobriu-se que o aumento na expressão de COX-2 apresentou-se paralelo ao desenvolvimento de mucosite ulcerativa, contribuindo com o aumento na duração do quadro inflamatório e/ou aumentando a gravidade

das úlceras formadas (SONIS *et al.*, 2009). Mucosite oral em hamster que receberam 5-FU apresentaram forte marcação imunohistoquímica para COX-2 evidenciando severidade significativa no curso da mucosite quando comparado ao grupo controle (FREITAS *et al.*, 2011). Tratamento com irinotecano aumenta a expressão de COX-2 em segmentos intestinais de camundongos (WONG *et al.*, 2015; ALVARENGA *et al.*, 2016; ALENCAR *et al.*, 2016).

Em resposta ao aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias ocorre durante o processo à nível transcricional elevação na atividade da enzima óxido nítrico sintase indutível resultando em maior produção de óxido nítrico, sendo este um dos mediadores tóxicos durante a patogênese da mucosite (LEITÃO *et al.*, 2011).

O NO apresenta efeitos biológicos complexos, desempenhando papéis benéficos e prejudiciais. Os efeitos prejudiciais podem incluir uma ação citotóxica para tecidos hospedeiros adjacentes, resultando em dor e lesões nos tecidos. A produção de grandes quantidades de NO pela iNOS foi evidenciada por desempenhar um papel importante nas reações imunes e em muitos processos inflamatórios, incluindo a mucosite (SKEFF *et al.*, 2014). Bastos Moura *et al.*, (2015) em modelos de mucosite oral por radioterapia evidencia aumento na expressão de iNOs.

Pesquisas mostram que o quadro de mucosite induzida por antineoplásicos pode ser modulado negativamente pela inibição da óxido nítrico sintase induzível, sugerindo um papel prejudicial do óxido nítrico na patogênese (MEDEIROS *et al.*, 2011; LIMA JÚNIOR *et al.*, 2012; LIMA JÚNIOR *et al.*, 2014).

2.6. Produtos Naturais

Durante os últimos 20 anos, observou-se um notável desenvolvimento no estudo e pesquisa de produtos naturais. Isto está ligado a uma nova tendência do mercado para a ecologia e também devido as novas regulamentações. Geralmente, no campo do sabor e da fragrância, a criatividade foi impulsionada pela chegada de novas moléculas sintéticas (LAVOINE-HANNEGUELLE *et al.*, 2014).

Os primeiros registros sobre a utilização de plantas medicinais é datado de 500 a. C., no texto Chinês que relata nomes, doses e indicações de uso de plantas para tratamento de doenças. Outros registros foram encontrados no manuscrito Egípcio “Ebers Papyrus”, de 1.500 a. C., em que continham informações sobre 811 prescrições e 700 drogas, sendo que algumas dessas plantas ainda são utilizadas na atualidade como *Ginseng (Panax spp.)*, *Ephedra spp.*, *Cassia spp.* e *Rheum palmatum L.*, inclusive como fontes para indústrias farmacêuticas (COSTA, 2015).

Devido ao intenso uso das plantas na medicina popular, desde as épocas mais remotas, estas têm sido valorizadas como produtos naturais importantes para a manutenção da saúde humana, especialmente na última década, com a realização de muitos estudos sobre terapias naturais (ATANASOV *et al.*, 2015).

No Brasil, a primeira descrição sobre o uso de plantas com finalidade terapêutica foi feita por Gabriel Soares de Souza, autor do Tratado Descritivo do Brasil, de 1587. Esse tratado descrevia os produtos medicinais utilizados pelos índios de “as árvores e ervas da virtude”. Diante da escassez, na colônia, de remédios empregados na Europa, os primeiros médicos portugueses perceberam a importância das plantas utilizadas pelos indígenas como medicamento (ARGENTA *et al.*, 2011).

O BRASIL possui uma farmacopeia popular muito diversa baseada em plantas medicinais, resultando de uma miscigenação cultural envolvendo africanos, europeus e indígenas, com introdução de espécies exóticas pelos colonizadores e escravos. Como consequência da grande difusão e utilização das plantas medicinais, as indústrias vêm produzindo produtos à base de espécies vegetais, de diversas formas farmacêuticas, que têm sido comercializadas em farmácias, supermercados e casas de produtos naturais (OLIVEIRA, 2011)

Diversos metabólitos secundários produzidos pelas plantas possuem funções de defesa contra herbívoros, pragas e patógenos (BENNETT; WALLSGROVE, 1994). Moléculas complexas como terpenóides, alcalóides e compostos fenólicos são sintetizados pelo metabolismo secundário das plantas e são de grande importância nas relações ecológica planta/planta, planta/animal e, inclusive, planta/microrganismo fitopatogênico. Tais substâncias são consideradas como produtos naturais e representam uma fonte alternativa quase

inesgotável de novas moléculas, com potencial para serem utilizados no controle químico de doenças (DOMINGUES *et al.*, 2011).

Terpenoides, também conhecidos como isoprenóides, são uma das maiores e mais diversas classes de produtos que ocorrem naturalmente. Em animais, os terpenóides desempenham papéis cruciais como constituintes da membrana (por exemplo, colesterol) e componentes da cadeia de transporte de elétrons respiratórios (por exemplo, ubiquinona), enquanto que nos micróbios e plantas são encontrados como metabólitos secundários que têm sido usados como fármacos (Por exemplo, paclitaxel e artemisinina), sabores e fragrâncias (por exemplo, mentol e patchoulol). Os terpenoides, incluindo monoterpenos, sesquiterpenos e diterpenos, são sintetizados por terpeno sintases (TPSs) com unidades de construção universais de cinco átomos de carbono (HAN *et al.*, 2016)

Em um contexto geral, a utilização de extratos de plantas para propósitos medicinais tem suscitado maior interesse nos últimos anos. No Brasil, encontram-se registrados diversos medicamentos fitoterápicos os quais começam a ganhar cada vez mais espaço no tratamento de doenças. Profissionais usuários da fitoterapia revelam bons resultados em tratamento de parasitoses, enfermidades infecciosas e doenças inflamatórias (CARVALHO *et al.*, 2008; OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; FREITAS *et al.*, 2011; FREITAS *et al.*, 2011).

2.7 Alfa-bisabolol

O α -bisabolol é um álcool sesquiterpeno natural monocíclico encontrado nos óleos essenciais de camomila (*Matricaria chamomilla*) (figura 5), *Vanillosmopsis erythropappa* e outras plantas. Esse composto tem sido usado por centenas de anos em cosméticos devido às suas propriedades de cura percebidos na pele, sendo extraído atualmente da “camomila alemã” (*Chamomilla recutita* L. *Rausehert*; *Syn matricaria Chamomila* L.) (HAN *et al.*, 2016).

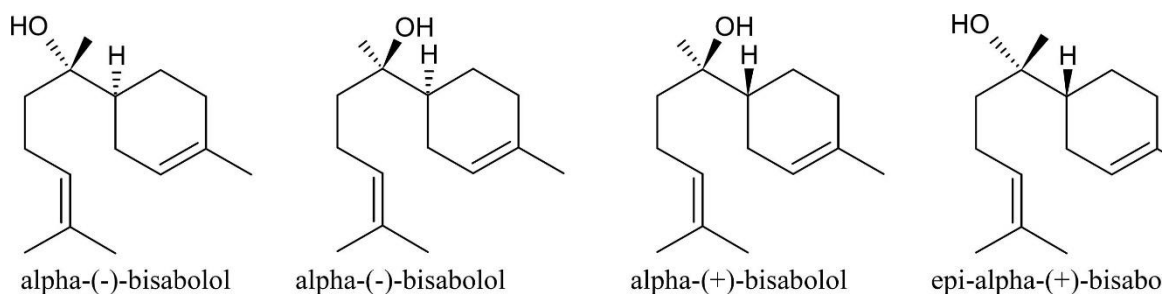
Figura 6. Flores de *Matricharia chamomila*



Fonte: www.botany.wisc.edu

O óleo apresenta-se como um composto lipofílico, praticamente insolúvel em água, mas solúvel em etanol e outros solventes. Tem um peso molar de 222,37 g/mol, densidade de 0,93 g/mL e ponto de ebulição de 314,5 °C a 1 atm. Este composto existe sob a forma de quatro diastereoisômeros (Figura 7). A forma mais comum é o alfa - (-) - bisabolol ou levomenol, que é o principal responsável pela atividade biológica geral do composto, enquanto o isômero alfa - (+) - bisabolol é de natureza rara (SOUZA, SOUZA, MORAES; 2016).

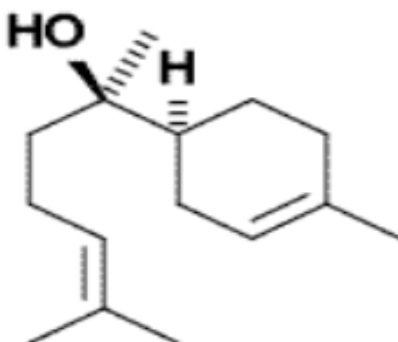
Figura 7. Estrutura química dos quatro diastereoisômeros do alfa-bisabolol



Fonte: KAMATOU, VILJOEN, 2010

Comercialmente, α -bisabolol (figura 8) é usado como um ingrediente de fragrância em cosméticos decorativos, perfumes finos, sabonetes, artigos de higiene, agente calmante em cosméticos para bebês entre outros, bem como em não cosméticos, tais como produtos de limpeza domésticos e detergentes (MARCO *et al*, 2015).

Figura 8. Estrutura molecular do α -bisabolol (C₁₅H₂₆O).



Fonte: CAVALIERI *et al.*, 2004

Diversos estudos, demonstram que α -bisabolol possui uma variedade de atividades biológicas, tais como despigmentadora (KIM *et al*, 2008.), atividade anti-fúngica (VILA *et al.*, 2010.), antinociceptiva (LEITE *et al.*, 2011; ROCHA *et al.*, 2011.; INOCÊNCIO LEITE *et al.*, 2014), anti-tumoral (CAVALIERI *et al.*, 2004; PIOCHON *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2010; DA SILVA *et al.*, 2010; RIGO, VINANTE, 2016), gastroprotetora (BEZERRA *et al.*, 2009) e anti-inflamatória.

Os efeitos anti-inflamatório do α -bisabolol foram demonstrados e sugere-se que o mesmo está relacionado à inibição em mediadores pró-inflamatórios tais como iNOS e COX-2 através da via de sinalização dos fatores de transcrição AP-1 e NF-Kb os quais estão envolvidos na síntese de citocinas pró-inflamatórias NF-kB. Estudos indicam ainda seus efeitos decorrentes da inibição parcial na síntese de leucotrienos (LEITE *et al.*, 2011; KIM *et al.*, 2011).

O α -bisabolol demonstrou propriedades relaxantes sobre a musculatura lisa traqueal de ratos, através da inibição dos canais de cálcio voltagem dependentes (SIQUEIRA *et al.*, 2012).

Além disso, a administração *in vivo* do α -bisabolol atenuou as respostas aumentadas pelo carbacol em anéis de traquéia de ratos sensibilizados e desafiados com ovalbumina. Dessa forma observa-se que o α -bisabolol é biologicamente ativo em músculo liso (SIQUEIRA *et al.*, 2012).

O alfa bisabolol se mostrou capaz de reduzir as lesões gástricas associadas a administrações de etanol, provavelmente pela redução do estresse oxidativo e da atividade da mieloperoxidase no estômago (OLIVEIRA, 2011).

Em estudo realizado por Oliveira e colaboradores (2011), avaliou-se a atividade antioxidante do α -bisabolol, tendo o mesmo mostrado grande capacidade, relacionada principalmente à inibição da geração de superóxidos e diminuindo a atividade da catalase.

Hernández-Ceruelos e colaboradores (2002), verificaram a ausência de genotoxicidade e efeito mutagênico de um óleo de camomila, com um elevado teor de α -bisabolol e seus óxidos em ensaio *in vivo* com medula óssea de rato.

Estudos realizados em modelos experimentais de mutagenicidade indicaram que α -bisabolol não foi mutagênico no teste *Salmonella*, bem como, o α -bisabolol também mostrou inibir os efeitos da aflatoxina B1 e alguns outros efeitos de ação indireta de mutagênicos no teste *Salmonella*, o mecanismo de antimutagenicidade seria explicado pelos seus efeitos inibidores sobre a atividade de algumas isoformas do CYP (CYP1A e 2B subfamílias) envolvidas na ativação metabólica mutagênica (GOMES-CARNEIRO *et al.*, 2005). Em estudo de MAZOKOPAKIS *et al.*, (2003) no qual pacientes com mucosite oral em decorrência de quimioterapia por metotrexato foram tratados com bochechos de infuso de “camomila” (*Matricaria recuttia* Asteraceae “camomilla” indica melhoras no quadro inflamatório dos indivíduos.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

- Avaliar os efeitos do alfa-bisabolol na mucosite intestinal experimental induzida por 5-FU em camundongos.

3.2. Específicos

- Avaliar o efeito do α -bisabolol sobre a perda ponderal de camundongos no modelo de mucosite intestinal induzida por 5-FU
- Identificar os efeitos do α -bisabolol sobre as alterações histológicas em vilos e criptas induzidas por 5-FU na mucosa intestinal
- Analisar os efeitos do α -bisabolol na prevenção da inflamação e estresse oxidativo no modelo de mucosite intestinal induzida por 5-FU
- Descrever os efeitos do α -bisabolol sobre o esvaziamento gástrico na mucosite intestinal induzida por 5-FU em camundongos
- Analisar o efeito do α -bisabolol sobre a contagem de mastócitos na mucosite intestinal induzida por 5-FU em camundongos

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Animais

Foram utilizados camundongos Swiss machos e/ou fêmeas pesando entre 25-30g, provenientes do Biotério Setorial da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno, à temperatura ambiente, com ciclos de claro/escuro de 12 em 12h, recebendo ração padrão e água “ad libitum”.

4.2 Drogas e Reagentes

O 5-fluorouracil foi obtido do laboratório industrial farmacêutico Eurofarma (25 mg/ml). O alfa-bisabolol (BISA) foi obtido a partir da *Sigma Chemical Company*. O α -bisabolol foi dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO 2%). Todos os outros reagentes e produtos químicos eram de grau analítico e obtidos a partir de fornecedores comerciais padrão.

4.3 Considerações Éticas

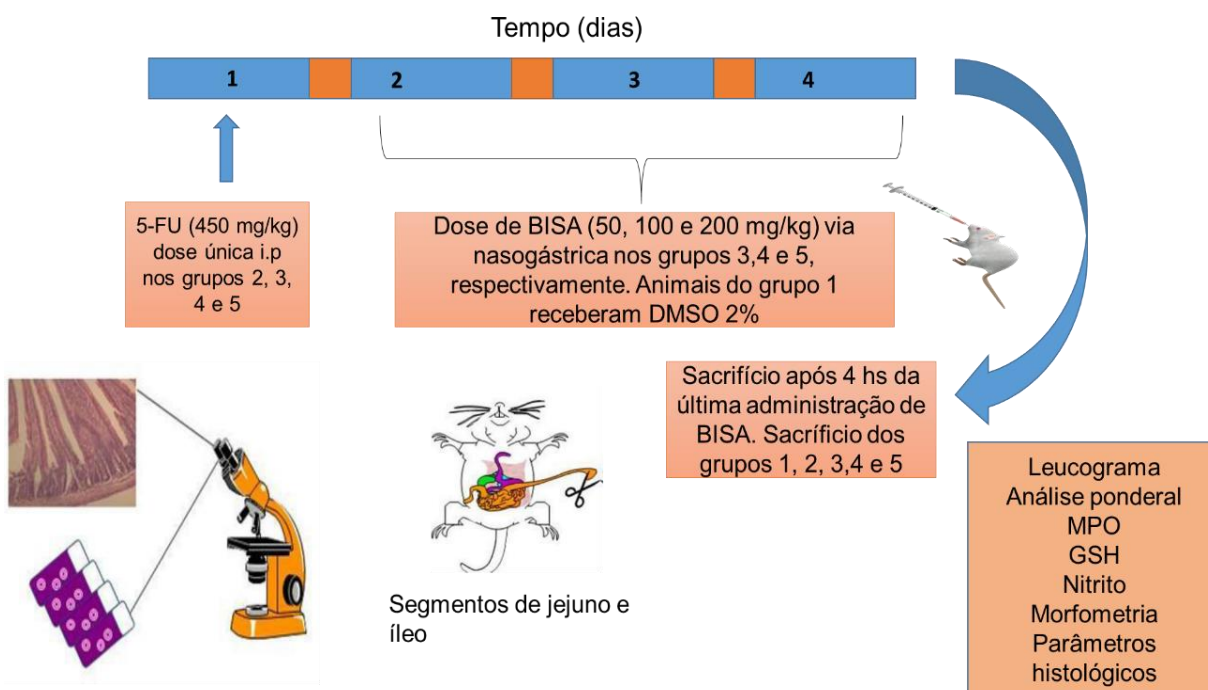
Os procedimentos e protocolos experimentais usados nesse estudo foram aprovados pela Comissão de Ética em Pesquisa animal (CEPA) da Universidade Federal do Piauí sob número 080/15.

4.4 Indução da mucosite intestinal e protocolo de tratamento com alfa-bisabolol

A indução da mucosite intestinal deu-se baseado no modelo de CARNEIRO-FILHO, 2004, a qual deu-se por administração de 5-FU (450 mg/kg) Como mostrado na figura 9 os animais foram divididos aleatoriamente em cinco grupos (n= 6, por grupo). Animais dos grupos 2,3,4 e 5 receberam 5-FU (450 mg/kg) dose única via intraperitoneal para indução da mucosite. Os animais dos grupos 3,4 e 5 receberam após 24, 48, 72 horas da indução da mucosite doses de alfa bisabolol (BISA) (50, 100, 200 mg/kg, respectivamente) via nasogástrica

(adaptado de ROCHA *et al.*, 2010). Durante os 3 dias de tratamento, o grupo 1 recebeu DMSO (2%). No 4º dia, todos os animais foram anestesiados com éter, amostras de sangue periférico foram coletadas por punção cardíaca para a contagem total de leucócitos plasmáticos. Posteriormente fragmentos de jejuno e íleo foram retirados para análise morfológica e histopatológica, além da dosagem na atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), da concentração de grupos sulfidrílicos (GSH), dosagem de nitrito (SOARES *et al.*, 2008; JUSTINO *et al.*, 2011).

Figura 9. Delineamento experimental de indução da mucosite e tratamento com alfa-bisabolol



Fonte: autoria própria

4.5. Análise Ponderal

Os animais foram pesados diariamente durante todo o período experimental. Os valores encontrados foram expressos em variável de peso, em relação ao peso inicial.

4.6. Análise morfométrica e histopatológica

Os segmentos obtidos do jejuno e íleo foram fixados em formol a 10%. Decorridas 24 horas, os fragmentos foram retirados do formol e colocados em álcool 70% e posteriormente parafinizados. A seguir, foram realizados cortes histológicos de 5 µm de espessura e fixados em hematoxilina e eosina para posterior análise. As análises foram feitas em estudo-cego.

As características histopatológicas foram realizadas através de microscópios bem como a presença e a intensidade do infiltrado inflamatório. Os escores descritos abaixo foram usados:

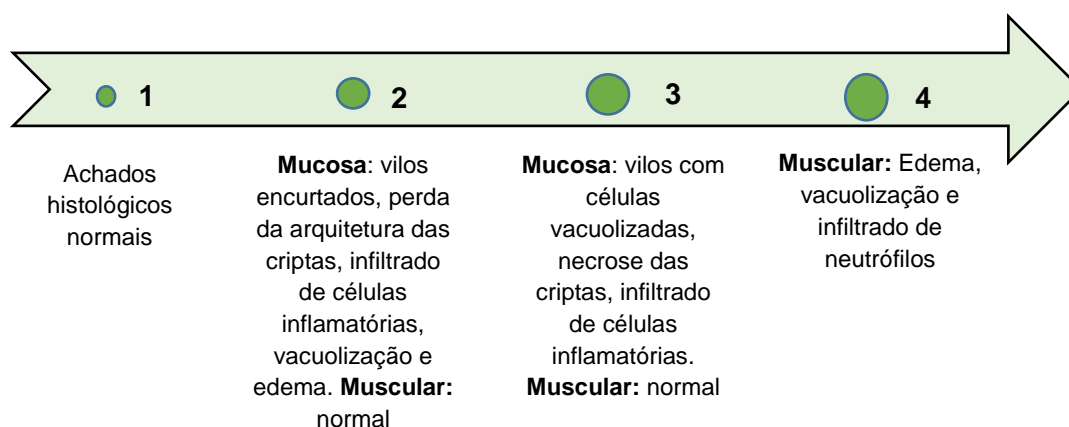
0: Ausência de lesão

1: Menos de 10 % das criptas contém células necróticas

2: Mais de 10 % das células contém células necróticas, mas a arquitetura permanece intacta.

3: Mais de 10 % das células contém células necróticas com perda de arquitetura (20%). Os vilos encontram-se encurtados e ocorre variável hipertrofia e hiperbasofilia.

Figura 10. Sistema de escores histológicos de Macpherson e Pfeiffer, 1978.



Fonte: Elaborado pelo autor

As variáveis morfométricas avaliadas incluíram altura dos vilos (topo à base), além da profundidade das criptas (invaginação entre os vilos). Tal metodologia foi realizada com auxílio de um microscópio óptico acoplado ao

sistema de aquisição de imagens (LEICA), onde foram medidas as alturas de 10 vilosidades e a profundidade das criptas intestinais, ambas em μm , sendo a análise feita por campo.

4.7. Mieloperoxidase (MPO)

Foram retirados 50 a 100 mg dos segmentos intestinais (jejuno e íleo) os quais foram colocados em tampão fosfato de potássio com 0,5% de brometo de hexadecitrimetilamônio (pH 6,0; 50 mg de tecido por ml) e posteriormente homogeneizados em um macerador de tecido. A seguir, o homogenato foi centrifugado a 5000 rpm por 2 minutos. A unidade da atividade de MPO foi definida como aquela capaz de converter 1 mmol de peróxido de nitrogênio em água em 1 minuto (BRADLEY et al., 1982).

4.8. Determinação de grupos sulfidrilas (GSH)

As amostras obtidas dos segmentos intestinais (100mg/ml) foram homogeneizadas em EDTA 0,02. Alíquotas de 400 μl do homogenato foram misturadas com 320 μl de H_2O destilada e 80 μl de ácido tricloroacético (TCA) a 50% para precipitação das proteínas. Depois dessa etapa o material foi centrifugado por 15 min em rotação de 3000 rpm à uma temperatura de 4°C . Em seguida, novas alíquotas de 400 μl do sobrenadante foram misturadas com 800 μl de tampão TRIS 0,4 M, pH 8.9 e com 20 μl 5,5-ditiobis-(ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) e agitadas por 3 min. A absorbância usada foi de 412 nm. A concentração de GSH foi expressa por $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido a partir de uma curva padrão. A substância usada para o branco foi o tampão Tris (SEDLAK, LINDSAY, 1968)

4.9. Dosagem de nitrito

Para determinar os teores de nitrito nos grupos experimentais foi utilizado 7 mg de NaNO_2 que foram dissolvidos em 10 mL de água bidestilada. Foram feitas diluições em série, ficando 1mM, 100 mM, 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, 1,25

mM, 0,625 mM, 0,312 mM. Em seguida foi feita uma equação da reta para o cálculo das concentrações (GREEN et al., 1981).

Em um tubo branco foi adicionado 500 µL do reagente mais 500 µL de água destilada, em outro tubo teste será adicionado 500 µL do reagente mais 500 µL do homogenato a 10%. A leitura foi feita em espectrofotômetro a 560 nm. A concentração de nitrito será determinada a partir de uma curva padrão de nitrito produzido usando NaNO_2 e os resultados foram expressos em mM.

4.10. Imunohistoquímica para detecção de enzima iNOs)

Na detecção da atividade da enzima óxido nítrico sintase induzível usou-se o método da estreptavidina-biotina peroxidase (HSU; RAINE, 1981). No 4º dia, os animais foram sacrificados e tiveram segmentos de jejuno e íleo removidos e fixados em formol 10% por 24 hs para confecção das lâminas. Os cortes foram desparafinizados, hidratados em xilol e álcool e imersos em tampão citrato 0,1 M (pH=6), sob aquecimento em forno microondas por 15 minutos para recuperação antigênica. Após, o resfriamento obtido em temperatura ambiente durante 20 minutos foram feitas lavagens com solução tamponada de fosfato (PBS), intercaladas com bloqueio de peroxidase endógena com solução de H_2O_2 a 3% (15 minutos). Os cortes foram incubados "overnight" (4°C) com anticorpo primário de coelho anti-NOSi diluído 1:1200 em PBS com albumina sérica bovina 5% (PBS-BSA). Após a lavagem no dia seguinte, foi feita a incubação com anticorpo (secundário) de detecção biotilado anti-igG de coelho diluído 1:1200 em PBS-BSA por 30 minutos. Depois, de lavado, os cortes foram incubados com o complexo estrepto-avidina peroxidase (conjugada) por 30 minutos. Após nova lavagem com PBS, seguiu-se coloração com o cromógeno 3,3 diaminobenzidine-peróxido (DAB), seguida por contra-coloração com hematoxilina de Mayer. Por fim, realizou-se a desidratação das amostras e montagem das lâminas

4.11. Esvaziamento gástrico

Inicialmente, camundongos (n= 6 por grupo) foram tratados com a dose única de 450 mg/kg de 5-FU (i.p.) para indução da mucosite. Após 24, 48 e 72

horas animais foram tratados com alfa-bisabolol (50, 100, 200 mg/kg) seguindo o protocolo experimental (Fig.9). Do 3º para o 4º dia experimental, foram mantidos em jejum de sólidos por 18 horas, mas com livre acesso a água até momentos antes do início do experimento. Após 4 hs do último dia de tratamento com alfa-bisabolol cada animal recebeu, por gavagem, 300 µL da solução glicosada (5%) contendo vermelho de fenol (0,75 mg/ml), com um intervalo de 5 minutos de um animal para o outro. Após 20 minutos da administração do corante, os animais foram eutanasiados e submetidos a uma laparotomia mediana. Para tanto, foi aberto o abdômen por uma incisão mediana na parede abdominal desde o apêndice xifóide. A seguir as junções esôfago- gástrica, gastroduodenal e íleo- cólica foram rapidamente isolados e o estômago e o intestino delgado foram retirados, estendidos e divididos em quatro segmentos consecutivos: Estômago e Intestino. Com o auxílio de uma proveta contendo uma solução de NaOH (100ml, 0,1N) os volumes de cada segmentos foram determinados. Depois de medir o volume, os segmentos foram homogeneizados em uma solução de NaOH 0,1N com o auxílio de um misturador por 30 s. Após 20 minutos da homogeneização foram retirados 1000 µL de cada amostra e levado para centrifugação por 10 min a 2800 rpm. Foram retirados 500 µL do sobrenadante e a este adicionado ácido tricloroacético (TCA) (20% peso/volume) e centrifugado novamente por 20 min com a finalidade de obter a precipitação de proteínas. Por fim, uma placa de 96 poços foi montada com 150 µl da amostra e 200µl de NaOH (0,5 N), a placa foi lida numa leitora de ELISA sob um comprimento de onda de 540 nm. Uma curva padrão foi obtida em cada experimento a partir de uma concentração conhecida de vermelho fenol após a adição da solução de NaOH (0,5 N). O coeficiente linear da curva padrão foi estabelecido e utilizado para determinação da concentração do corante (C) da solução e em seguida foi calculada a quantidade de vermelho fenol recuperada em cada segmento.

A retenção gástrica do vermelho fenol foi expressa em porcentagem, de acordo com a seguinte fórmula: Retenção gástrica= Quantidade de vermelho fenol recuperada do estômago/ Quantidade total de vermelho fenol recuperada nos segmentos estômago mais intestino).

4.12. Análise da concentração de mastócitos

Os blocos de parafina com amostra de pele foram selecionados para a coloração com azul de toluidina. A mesma foi utilizada para evidenciar a presença de mastócitos no tecido, tal como determinado por. A contagem de mastócitos foi realizada na pele utilizando a objetiva de 40 vezes, em um microscópio óptico. Para a análise computacional imagens digitais foram capturadas em microscópio binocular acoplado a uma câmera, ligada a um computador (PERUSSOLO, 2015). A contagem foi realizada usando-se 10 campos em cada lâmina.

4.13. Análise estatística.

Os resultados foram expressos como média \pm EPM ou como mediana \pm mínimo e máximo. A análise estatística foi realizada usando o teste de análise de variância ANOVA seguido do teste de Newman-Keuls. Os escores histológicos foram avaliados pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de múltiplas comparações de Dunns. Significância estatística foi considerada para valores que apresentaram $p < 0,05$. Para realização dos testes estatísticos foi utilizado o software Prism versão 5 da GraphPad Software.

5. RESULTADOS

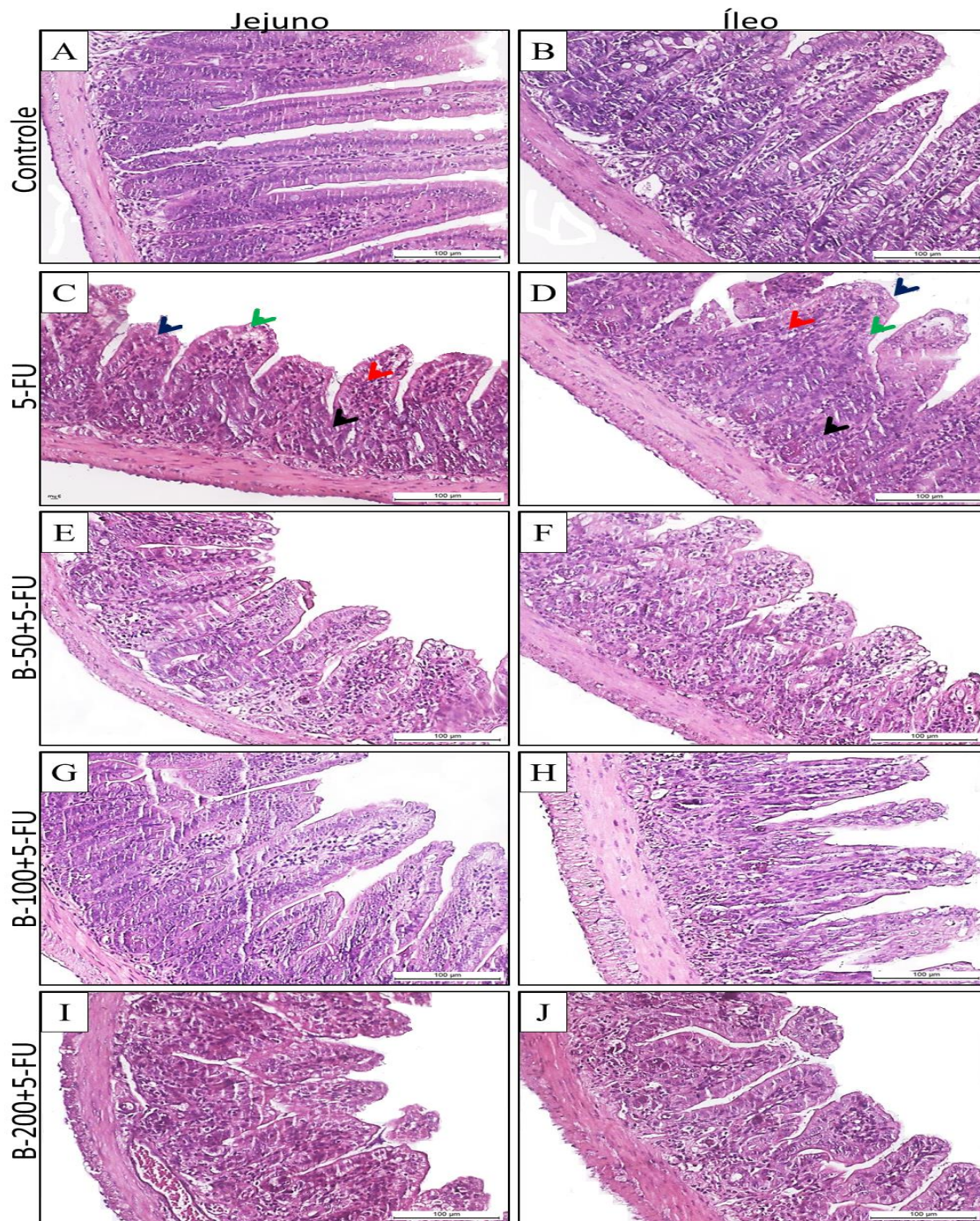
5.1 Efeito do tratamento com α -bisabolol nas alterações histopatológicas em jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.

A coloração de segmentos intestinais com hematoxilina e eosina propiciou visualizar microscopicamente a arquitetura tecidual e analisar as alterações morfológicas induzidas por 5-FU no intestino delgado (jejuno e íleo).

Em condições normais, conforme demonstrado neste estudo pelo grupo controle DMSO (11 A e B), as criptas intestinais do intestino delgado (jejuno e íleo) encontram-se preservados, isto é, sem alterações morfológicas. Enquanto que a administração de 5-FU induziu alterações da mucosa intestinal, evidenciadas pela redução da altura das vilosidades do intestino delgado e do comprimento das criptas intestinais, vacuolização de células da mucosa intestinal, bem como intenso infiltrado de células inflamatórias (11 C e D).

O 5-FU induziu infiltrado de células inflamatórias (setas vermelhas), diminuição nas vilosidades intestinais (setas azuis), perda de arquitetura das criptas intestinais (setas pretas), vacuolização de células epiteliais (setas verdes) em segmentos de jejuno e íleo. Observou-se que o tratamento com α -bisabolol nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg diminuiu infiltrado inflamatório, preveniu o encurtamento das vilosidades e a aumento nas profundidades das criptas.

Figura 11. Efeito do tratamento com α -bisabolol nas alterações histopatológicas em segmentos de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.



5-FU induziu infiltrado de células inflamatórias (setas vermelhas), diminuição nas vilosidades intestinais (setas azuis), perda de arquitetura das criptas intestinais (setas pretas), vacuolização de células epiteliais (setas verdes) em segmentos de jejuno e íleo (painéis C e D). Observa-se que o tratamento com BISA nas doses de 50 (painéis E e F), 100 (G e H) e 200 mg/kg (I e J) diminuiu infiltrado inflamatório, preveniu o encurtamento das vilosidades e o aumento nas profundidades das criptas.

5.2. Efeito do tratamento com α -bisabolol nos escores histopatológico de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU

A tabela 2 mostra que os animais que receberam apenas 5-FU apresentaram nos dois segmentos estudados as seguintes características: mucosa com vilos encurtados, necrose das criptas, intenso infiltrado inflamatório, vacuolização, mas camada muscular normal, o que conferiu valores de escore mais alto que o do grupo controle DMSO 2%. O grupo que recebeu tratamento com BISA na dose de 100 mg/kg apresentou significativa melhora nos escores microscópicos.

Tabela 2. Efeito do tratamento com α -bisabolol nos escores histopatológicos de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.

Segmentos intestinais	Grupos Experimentais				
	DMSO 2%	5-FU	BISA-50	BISA-100	BISA-200
Jejuno	0 (0-0)	2,5(2-3) [#]	2(1-3)	1(1-2) [*]	2(1-3)
Íleo	0 (0-0)	2,5(2-3) [#]	2(1-3)	1(1-2) [*]	2(1-3)

5-FU aumenta de forma significativa os escores histopatológicos quando comparado ao grupo DMSO. BISA na dose de 100 mg/kg diminui os escores de forma significativa quando comparados ao grupo 5-FU.

[#] p<0,01, comparado ao grupo DMSO

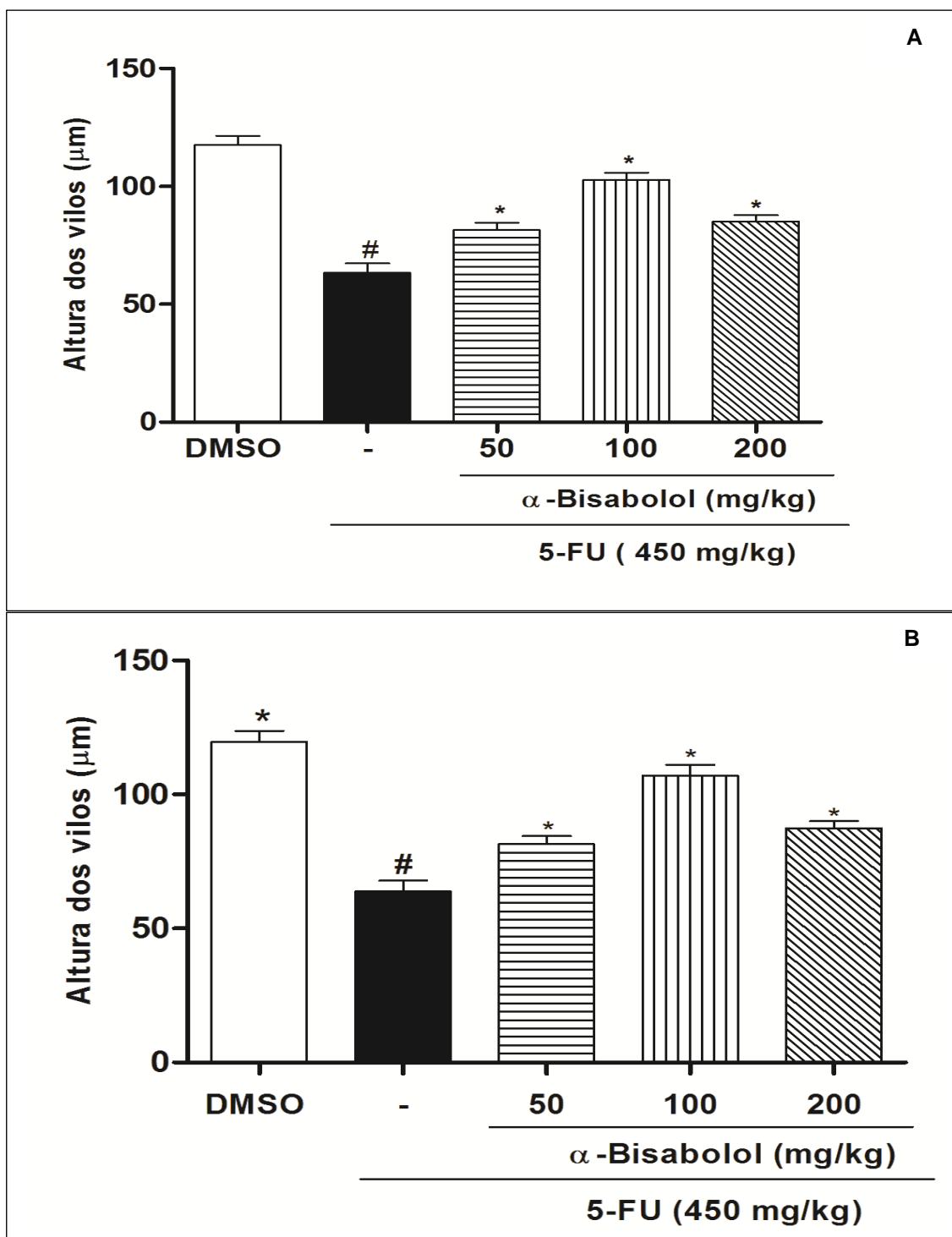
^{*} p<0,01 comparado ao grupo 5-FU

5.3.Efeito do tratamento com α -bisabolol nas alterações morfométricas em vilos dos segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.

De acordo com a figura 12A observa-se que a administração do 5-FU diminuiu de forma significativa a altura dos vilos ($63,28 \pm 4,03 \mu\text{m}$) no segmento de jejuno quando comparado ao grupo DMSO ($117,54 \pm 3,90 \mu\text{m}$) ($p < 0,05$). BISA nas doses de 50 mg/kg ($81,39 \pm 3,10 \mu\text{m}$), 100 ($102,70 \pm 3,15 \mu\text{m}$) μm e 200 ($85,24 \pm 2,59 \mu\text{m}$), reverteram de forma significativa o encurtamento dos vilos quando comparado ao grupo lesivo 5-FU ($p < 0,05$).

Em segmento de íleo a figura 12B mostra que o uso de 5-FU ($63,80 \pm 4,00 \mu\text{m}$) diminuiu de forma significativa a altura dos vilos quando comparado ao grupo DMSO ($119,57 \pm 4,06 \mu\text{m}$) ($p < 0,05$). BISA nas doses de 50 ($81,37 \pm 3,10 \mu\text{m}$), 100 ($107,10 \pm 3,94 \mu\text{m}$) e 200 ($87,41 \pm 2,64 \mu\text{m}$) mg/kg, reverteram de forma significativa o encurtamento dos vilos quando comparado ao grupo lesivo 5-FU ($p < 0,05$).

Fig. 12 . Efeito do tratamento com α -bisabolol nas alterações morfométricas em vilos dos segmentos intestinais de jejuno (A) e íleo (B) de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU



5-FU diminuiu de forma significativa a altura dos vilos no segmento de jejuno e íleo quando comparado ao grupo DMSO. BISA nas doses de 50 ,100 e 200 mg/kg, reverteu de forma significativa o encurtamento dos vilos quando comparado ao grupo lesivo 5-FU.Os valores foram expressos como média \pm E.P.M, pelo teste ANOVA seguido de Newman-Keuls.

$p < 0,001$, quando comparado ao grupo DMSO

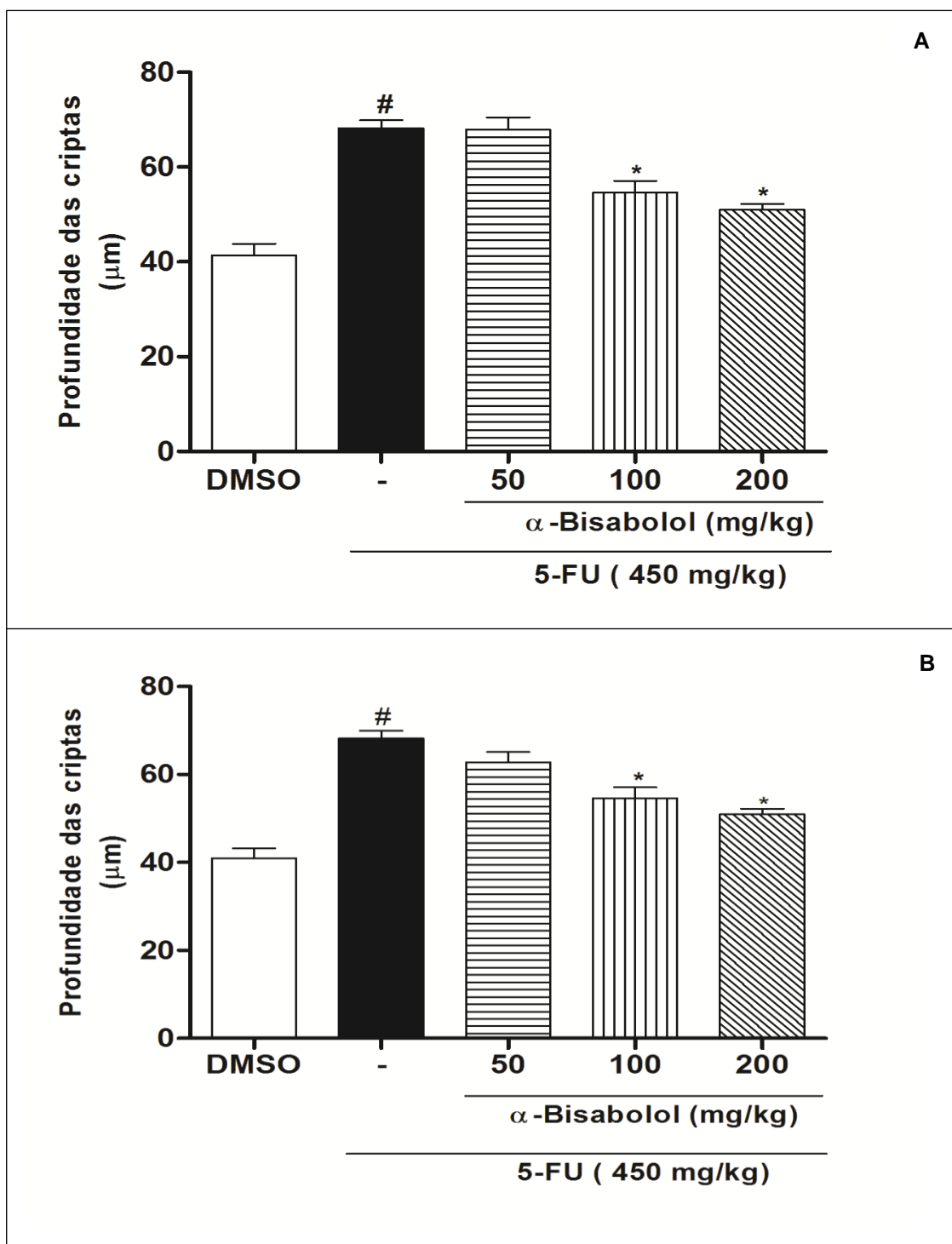
* $p < 0,01$ quando comparado ao grupo 5-FU

** $p < 0,001$ quando comparado ao grupo 5-FU.

5.4. Efeito do tratamento com α -bisabolol na profundidade das criptas dos segmentos intestinais de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU

A figura 13 mostra aumento na profundidade das criptas em segmentos de jejuno (13A) tratados com 5-FU ($68,21 \pm 1,69 \mu\text{m}$). O tratamento com BISA nas doses de 100 mg/kg ($54,62 \pm 2,47 \mu\text{m}$) e 200 mg/kg ($50,93 \pm 1,29 \mu\text{m}$) reverteu de forma significativa tal aumento ($p < 0,05$). Observou-se de acordo com a figura 13B que o 5-FU aumenta de forma significativa a profundidade das criptas em segmentos de íleo ($68,23 \pm 1,69 \mu\text{m}$) quando comparado ao grupo DMSO ($40,98 \pm 2,27 \mu\text{m}$) ($p < 0,05$). BISA nas doses de 100 ($54,62 \pm 2,27 \mu\text{m}$) e 200 mg/kg ($50,93 \pm 1,29 \mu\text{m}$), reverteu de forma significativa o aumento quando comparado ao grupo lesivo 5-FU ($p < 0,05$).

Figura 13. Efeito do tratamento com α -bisabolol na profundidade das criptas em segmentos intestinais de jejuno (A) e íleo (B) de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.



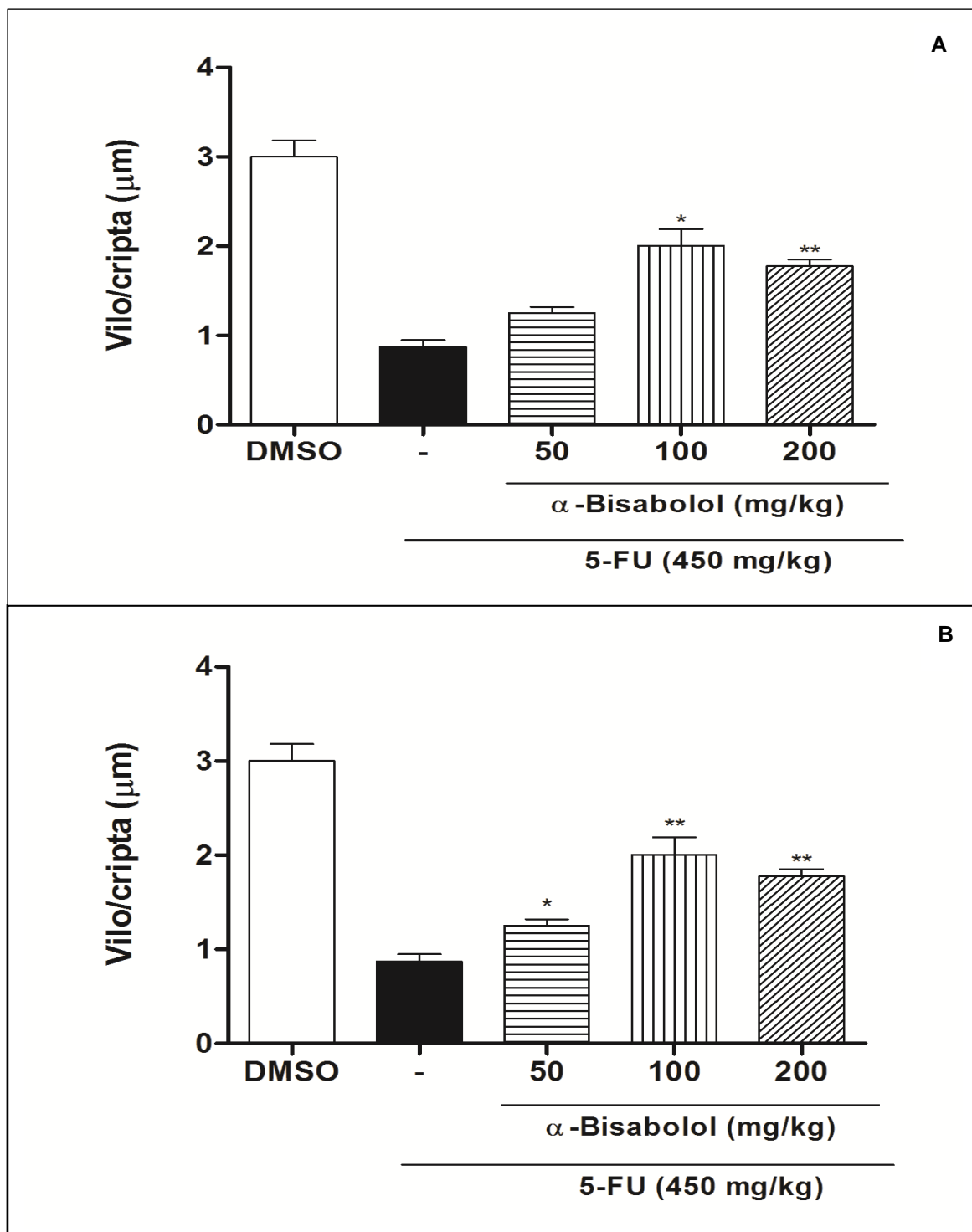
5-FU aumentou de forma significativa a profundidade das criptas nos segmentos de jejuno e íleo quando comparado ao grupo DMSO. BISA nas doses de 100 e 200 mg/kg, reverteu de forma significativa o aumento na profundidade das criptas quando comparado ao grupo lesivo 5-FU. Os valores foram expressos como média \pm E.P.M, pelo teste ANOVA seguido de Newman-Keuls
[#] $p < 0,001$, quando comparado ao grupo DMSO
^{*} $p < 0,001$ quando comparado ao grupo 5-FU

5.5 Efeito do tratamento α -bisabolol na relação vilo/cripta em segmentos intestinais de jejuno (A) e íleo (B) de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.

A figura 14A demonstra que os animais nos quais foram administrado apenas 5-FU ($0,73 \pm 0,04 \mu\text{m}$) mostraram uma diminuição na relação vilo/cripta nos segmentos de jejuno quando comparado ao grupo DMSO 2 % ($2,09 \pm 0,16 \mu\text{m}$). No entanto, os animais quando tratados com alfa-bisabolol nas doses de 50 ($1,35 \pm 0,06 \mu\text{m}$), 100 ($1,88 \pm 0,24 \mu\text{m}$) e 200 mg/kg ($1,73 \pm 0,06 \mu\text{m}$) apresentaram um aumento em tal relação quando comparado ao grupo 5-FU ($0,73 \pm 0,04 \mu\text{m}$).

No segmento de íleo (fig. 14 B) observa-se que no grupo 5-FU ($0,87 \pm 0,07 \mu\text{m}$) encontra-se uma diminuição na relação vilo/cripta quando comparado ao grupo controle negativo DMSO 2% ($3,00 \pm 0,07 \mu\text{m}$). Porém os animais que receberam BISA nas doses de 50 ($1,25 \pm 0,06 \mu\text{m}$), 100 ($2,00 \pm 0,18 \mu\text{m}$) e 200 mg/kg ($1,75 \pm 0,06 \mu\text{m}$) apresentaram um aumento na relação quando comparado ao grupo 5-FU ($0,87 \pm 0,07 \mu\text{m}$).

Figura 14. Efeito do tratamento com α -bisabolol na relação vilo/cripta em segmentos intestinais de jejuno (A) e íleo (B) de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.



5-FU diminui de forma significativa a relação vilo/cripta nos segmentos de jejuno e íleo quando comparado ao grupo DMSO 2%. BISA nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg, reverteu de forma significativa tal relação quando comparado ao grupo lesivo 5-FU. Os valores foram expressos como média \pm E.P.M, pelo teste ANOVA seguido de Newman-Keuls

$p < 0,001$, quando comparado ao grupo DMSO

* $p < 0,01$ quando comparado ao grupo 5-FU

** $p < 0,001$, quando comparado ao grupo 5-FU

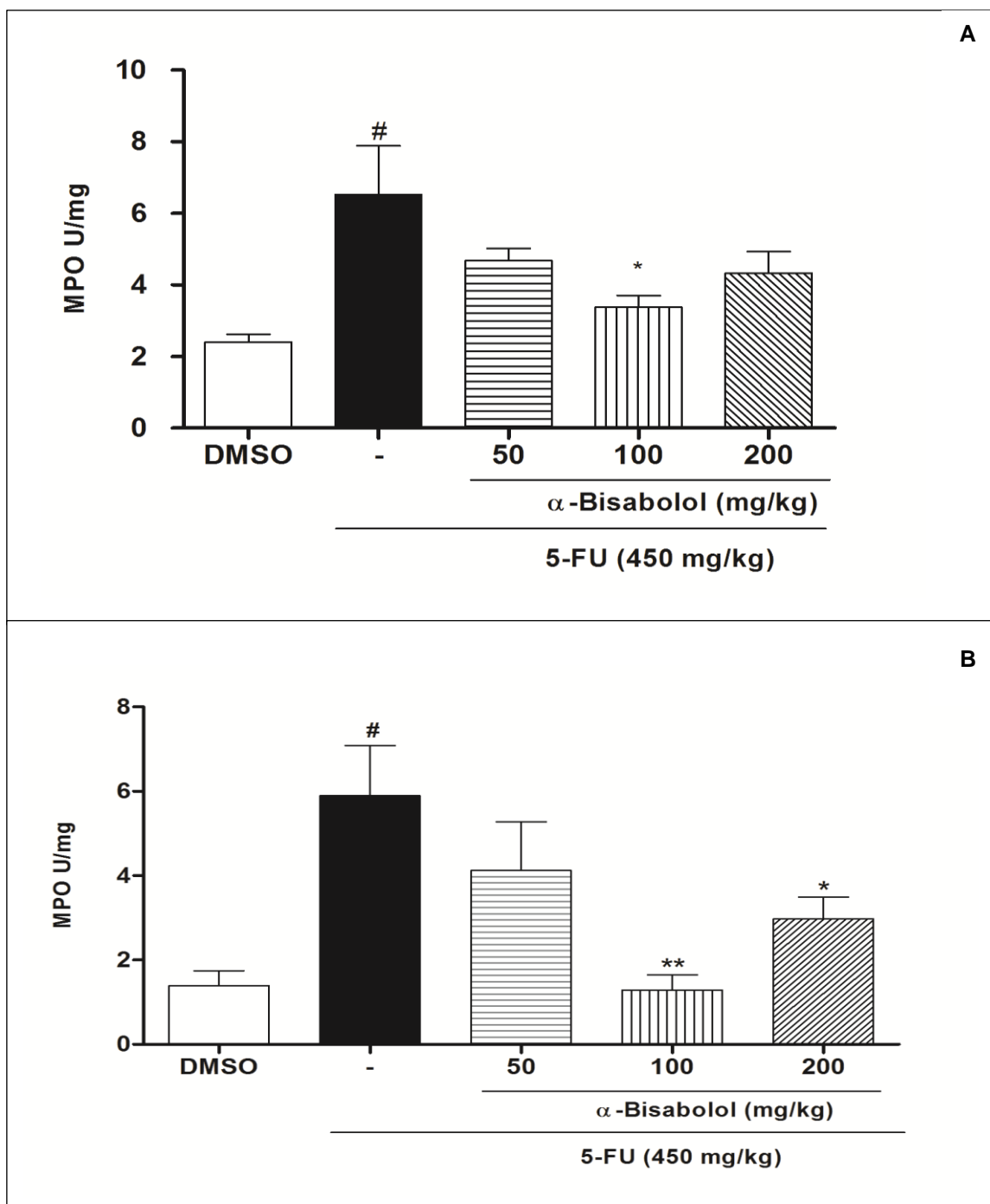
5.6. Efeito do tratamento com α -bisabolol na atividade de mieloperoxidase (MPO) em segmentos intestinais de jejuno (A) íleo (B) de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU

A enzima mieloperoxidase está presente nos grânulos azurófilos de neutrófilos e usados como marcador de neutrófilos.

De acordo com a figura 15A observou-se que o grupo 5-FU aumenta de forma significativa os níveis de mieloperoxidase (MPO) nos segmentos de jejuno ($6,53 \pm 1,35$ UMPO/mg) em relação ao grupo DMSO ($2,40 \pm 0,21$ UMPO/mg). O tratamento com BISA na dose de 100 mg/kg diminuiu significativamente os níveis de mieloperoxidase ($3,38 \pm 0,32$ UMPO/mg) quando comparado ao grupo 5-FU ($6,53 \pm 1,35$ UMPO/mg) enquanto que o tratamento nas doses de 50 mg/kg e 200 mg/kg não demonstra diferença estatisticamente quando comparado ao grupo 5-FU ($p > 0,05$).

A figura 15B, observa-que o grupo 5-FU aumenta de forma significativa os níveis de mieloperoxidase nos segmentos de íleo ($5,89 \pm 1,19$ UMPO/mg) em relação ao grupo DMSO 2% ($1,39 \pm 0,35$ UMPO/mg). O tratamento com BISA nas doses de 100 mg/kg ($1,28 \pm 0,36$ UMPO/mg) e 200 mg/kg ($2,97 \pm 0,52$ UMPO/mg), diminui os níveis de MPO de forma significativa, quando comparado ao grupo 5-FU ($p < 0,05$).

Figura 15. Efeito do tratamento com α -bisabolol na atividade de mieloperoxidase (MPO) em segmentos intestinais de jejuno (A) e íleo (B) de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU



5-FU aumenta de forma significativa os níveis de mieloperoxidase (MPO) nos segmentos de jejuno e íleo em relação ao grupo DMSO. BISA nas doses de 100 e 200 mg/kg, diminui os níveis de MPO de forma significativa em segmento de íleo, quando comparado ao grupo lesivo 5-FU. Os valores foram expressos como média \pm E.P.M, pelo teste ANOVA seguido de Newman-Keuls.

$p < 0,01$, quando comparado ao grupo DMSO

* $p < 0,05$ quando comparado ao grupo 5-FU

** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo 5-FU

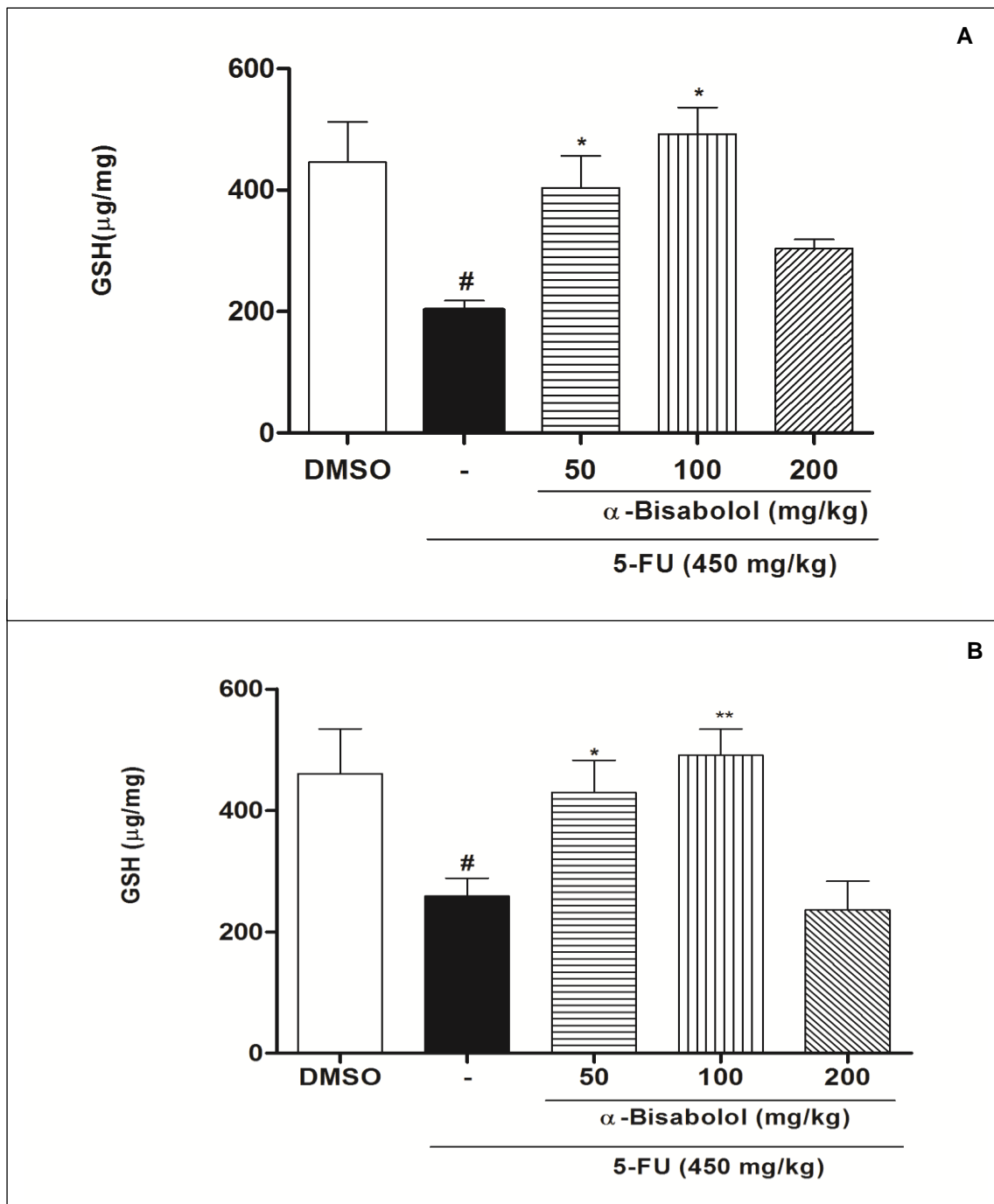
5.7. Efeito do tratamento com α -bisabolol na atividade de GSH nos segmentos intestinais de jejuno (A) e íleo (B) de camundongos com mucosite intestinal induzido por 5-FU.

A enzima glutathiona (GSH) é um antioxidante fisiológico, o qual é armazenado nas células e consumido durante processos inflamatórios, devido à alta produção de espécies reativas de oxigênio, tendo o papel de neutralizar a ação de tais agentes.

A figura 16 A observa-se que 5-FU diminui em segmento de jejuno os níveis de GSH ($202,49 \pm 15,46 \mu\text{g/g}$) de forma significativa quando comparado ao grupo DMSO ($445,61 \pm 66,83 \mu\text{g/g}$). BISA nas doses de 50 ($403,75 \pm 52,54 \mu\text{g/g}$) e 100 mg/kg ($492,55 \pm 43,36 \mu\text{g/g}$), elevou os níveis de Glutathiona reduzida (GSH) de forma significativa, quando comparado ao grupo lesivo 5-FU ($p < 0,05$).

Na figura 16B observa-se que os segmentos intestinais de íleo dos animais submetidos à mucosite intestinal por 5-FU demonstraram níveis de GSH diminuídos ($258 \pm 29,74 \mu\text{g/g}$) quando comparados ao grupo 5-FU ($460,6 \pm 73,98 \mu\text{g/g}$). O tratamento com BISA nas doses de 50 mg/kg ($429,77 \pm 53,01 \mu\text{g/g}$) e 100 mg/kg ($491,12 \pm 42,72 \mu\text{g/g}$) aumentaram significativamente os níveis de GSH quando comparado ao grupo 5-FU ($p < 0,05$).

Figura 16. Efeito do tratamento com α -bisabolol na atividade de GSH nos segmentos intestinais de jejuno (A) e íleo (B) de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.



5-FU diminui os níveis de GSH de forma significativa quando comparado ao grupo DMSO. BISA nas doses de 50 e 100 mg/kg, mantém os níveis de Glutathiona reduzida (GSH) de forma significativa, quando comparado ao grupo lesivo 5-FU. Os valores foram expressos como média \pm E.P.M, pelo teste ANOVA seguido de Newman-Keuls.

$p < 0,05$, quando comparado ao grupo DMSO

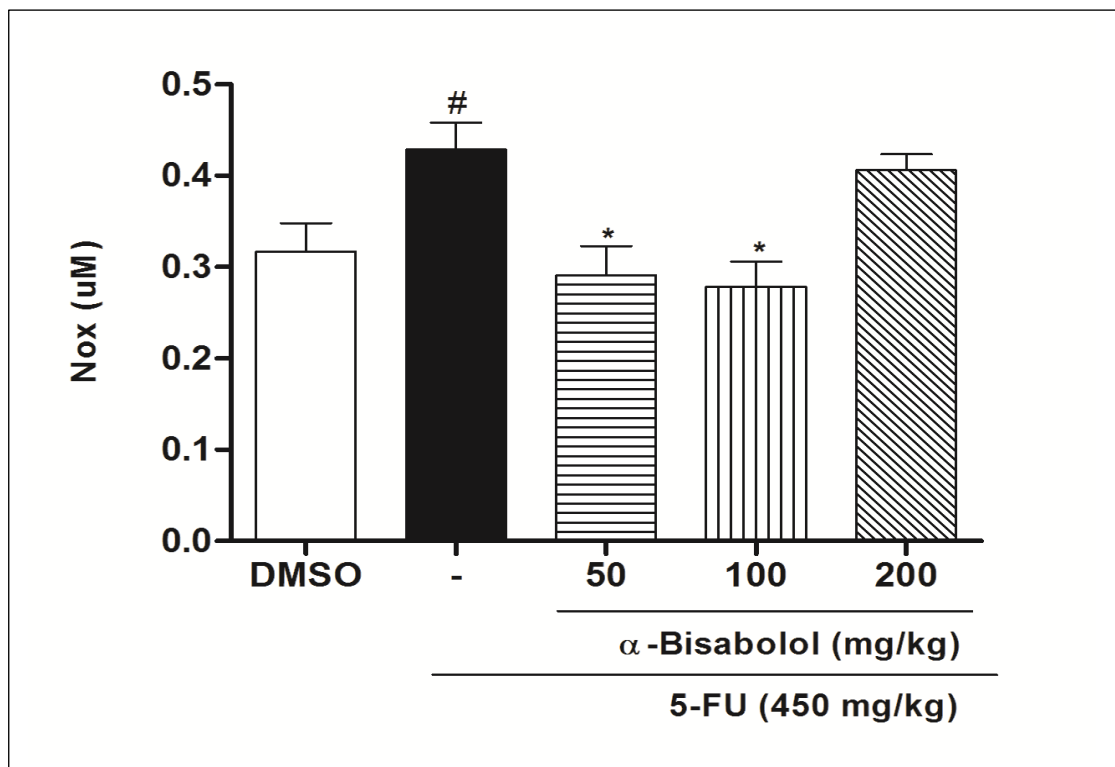
* $p < 0,05$ quando comparado ao grupo 5-FU

** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo 5-FU

5.8. Efeito do α -bisabolol sobre os níveis de nitrito em íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU

Na figura 17, observa-se que no íleo dos animais que receberam somente 5-FU, houve um aumento estatisticamente significativo das concentrações de nitrito ($0,42 \pm 0,02 \mu\text{M}$) quando comparados ao grupo DMSO ($0,31 \pm 0,03 \mu\text{M}$). O tratamento com BISA na dose de 100 ($0,27 \pm 0,02 \mu\text{M}$) mg/kg diminuiu de forma estatisticamente significativa os níveis de nitrito ($p < 0,05$).

Figura 17. Efeito do tratamento com α -bisabolol sobre os níveis de nitrito em íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU



5-FU aumentou de forma significativa os níveis de nitrito no segmento de íleo quando comparado ao grupo DMSO. BISA nas doses de 50 e 100 mg/kg, reverteram de forma significativa o aumento quando comparado ao grupo lesivo 5-FU. Os valores foram expressos como média \pm E.P.M, pelo teste ANOVA seguido de Newman-Keuls

$p < 0,01$, quando comparado ao grupo DMSO

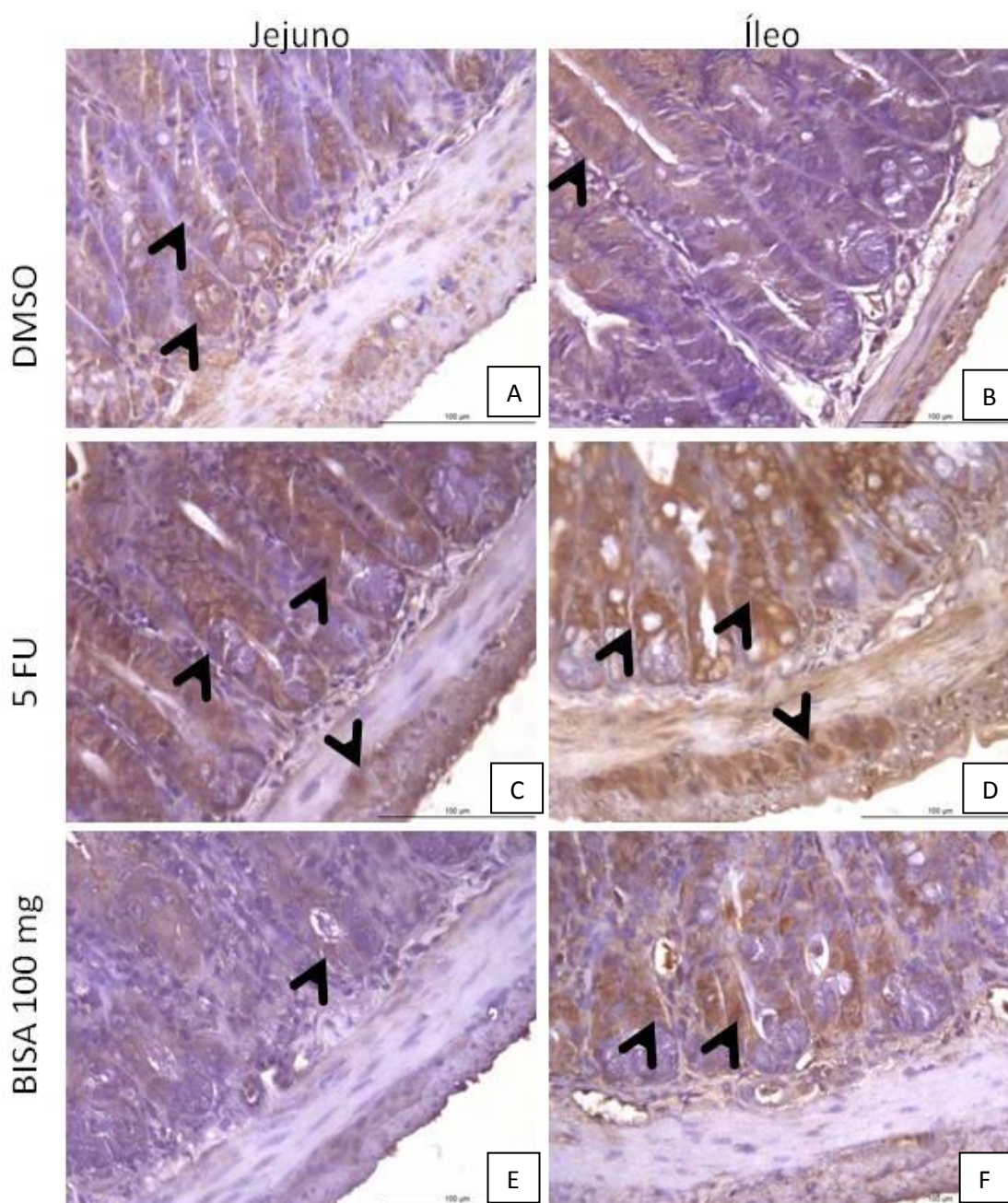
* $p < 0,01$ quando comparado ao grupo 5-FU

5.9. Efeito do tratamento com α -bisabolol sobre a expressão de iNOs em segmentos de jejuno (A) e íleo (B) de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU

O papel do óxido nítrico no processo inflamatório pode ser mensurado pela expressão da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOs), à qual é manifestada em uma multidão de células diferentes, incluindo macrófagos, células endoteliais, células da musculatura lisa vascular.

A figura 18 mostra evidente imunomarcção para iNOs em segmentos de jejuno e íleo nos animais que receberam apenas 5-FU (painéis C e D), enquanto que a expressão da enzima encontra-se diminuída nos segmentos de animais que receberam alfa-bisabolol na dose de 100 mg/kg (painéis E e F).

Figura 18. Efeito do tratamento com α -bisabolol sobre a expressão de iNOs em segmentos de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.

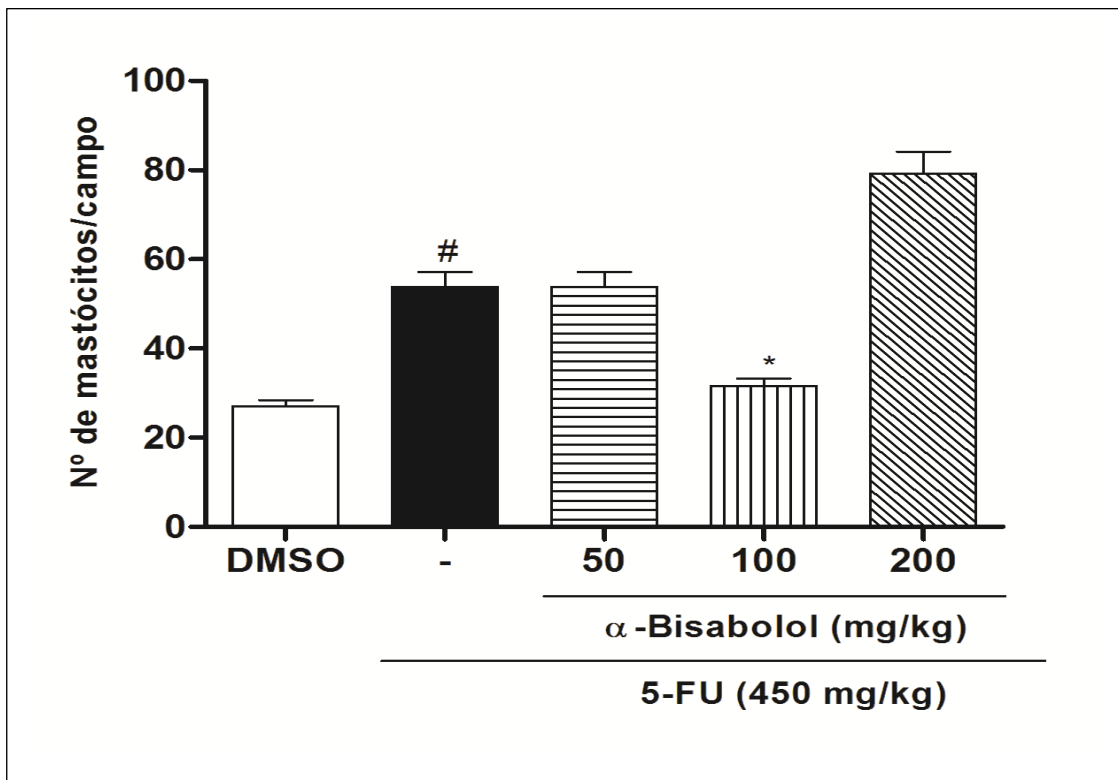


5-FU aumenta a expressão da enzima iNOs em segmentos de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU (painéis C e D) quando comparado ao grupo controle DMSO 2% (painéis A e B). BISA na dose de 100 mg/kg diminui a expressão da enzima nos dois segmentos (painéis A e F)

5.10. Efeito do α -bisabolol na contagem de mastócitos em jejuno de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.

De acordo com a figura 19, observou-se que 5-FU aumentou de forma estatisticamente significativa o número total de mastócitos em segmentos de jejuno ($53,8 \pm 3,42$). BISA na dose de 100 mg/kg ($31,6 \pm 1,19$), diminuiu de forma estatisticamente significativa o número de mastócitos ($p < 0,05$).

Figura 19. Efeito do tratamento com α -bisabolol na contagem de mastócitos em jejuno de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU



5-FU aumenta de forma significativa a contagem total de mastócitos em segmentos de jejuno quando comparado ao grupo DMSO. BISA na dose de 100 mg/kg, reverteu de forma significativa o aumento quando comparado ao grupo lesivo 5-FU. Os valores foram expressos como média \pm E.P.M, pelo teste ANOVA seguido de Newman-Keuls

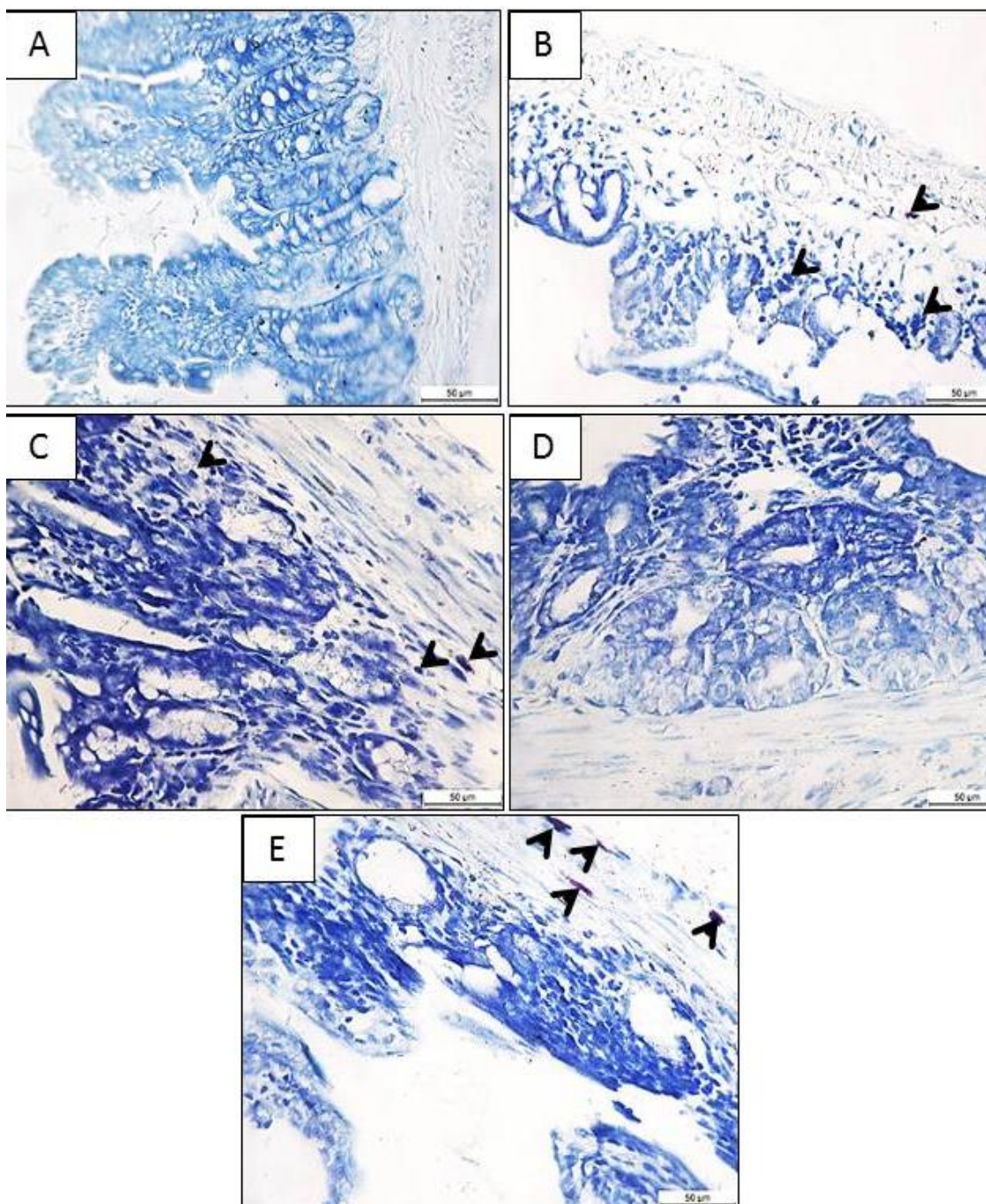
$p < 0,01$, comparado ao grupo DMSO

* $p < 0,01$ comparado ao grupo 5-FU

5.11. Efeito do tratamento com α -bisabolol na ação de mastócitos em jejuno de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.

A coloração de segmentos intestinais com azul de toluidina propiciou visualizar microscopicamente a presença de mastócitos em segmentos de jejuno. De acordo com a figura 20, observa-se que o 5-FU induziu aumento na contagem de mastócitos quando comparado ao grupo DMSO. Observou-se que o tratamento com α -bisabolol nas dose de 100 mg/kg diminuiu a presença de tais células.

Fig. 20. Efeito do tratamento com α -bisabolol na contagem de mastócitos em jejuno de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.

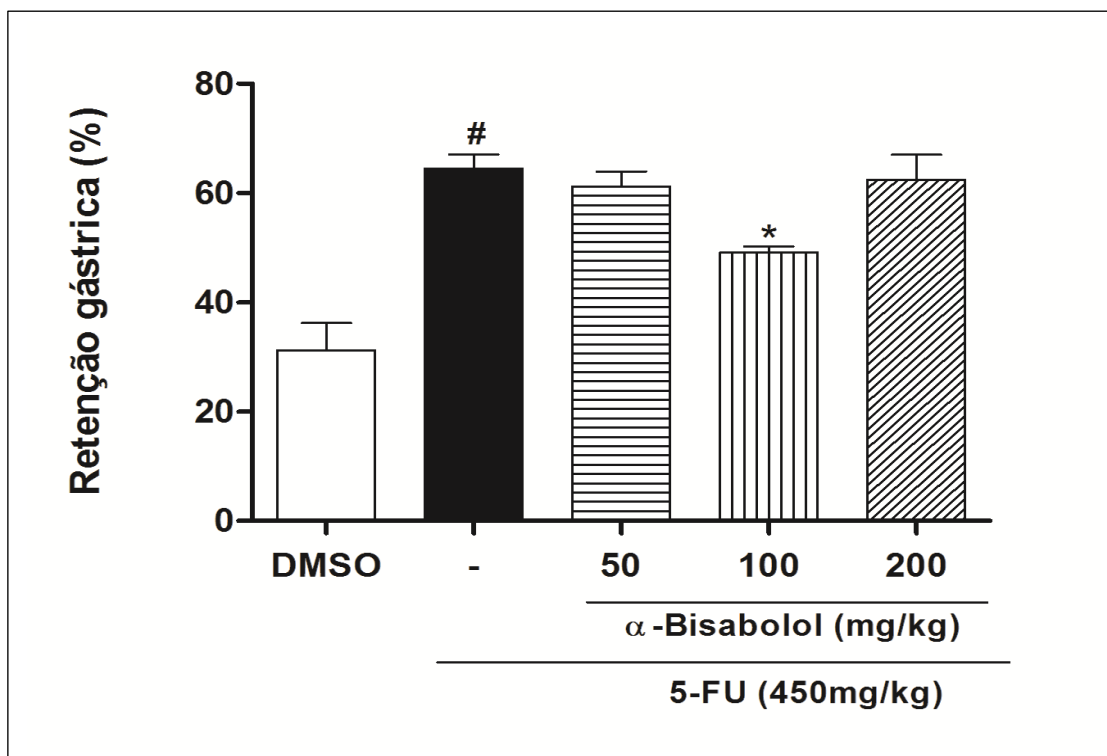


5-FU induziu infiltrado de células mastocitárias (painel B) quando comparado ao grupo DMSO (painel A). Observa-se que o tratamento com BISA na dose de 100 mg/kg (painel D) diminuiu de forma significativa o infiltrado de mastócitos quando comparado ao grupo 5-FU (painel B).

5.12. Efeito do α -bisabolol no esvaziamento gástrico em camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.

O Esvaziamento gástrico constitui-se parâmetro importante quanto às alterações de motilidade envolvidas em diversos processos. De acordo com a figura 21. observou-se que a administração do 5-FU aumentou a atividade permanecida no estômago ($64,50 \pm 2,54\%$) aumentando a retenção gástrica. O tratamento com BISA na dose de 100 mg/kg reverteu o retardo decorrente do uso de 5-FU ($49,08 \pm 1,13\%$).

Figura 21. Efeito do tratamento com α -bisabolol no esvaziamento gástrico em camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.



5-FU aumenta de forma significativa a retenção gástrica quando comparado ao grupo DMSO. BISA na dose de 100 mg/kg diminui a retenção.

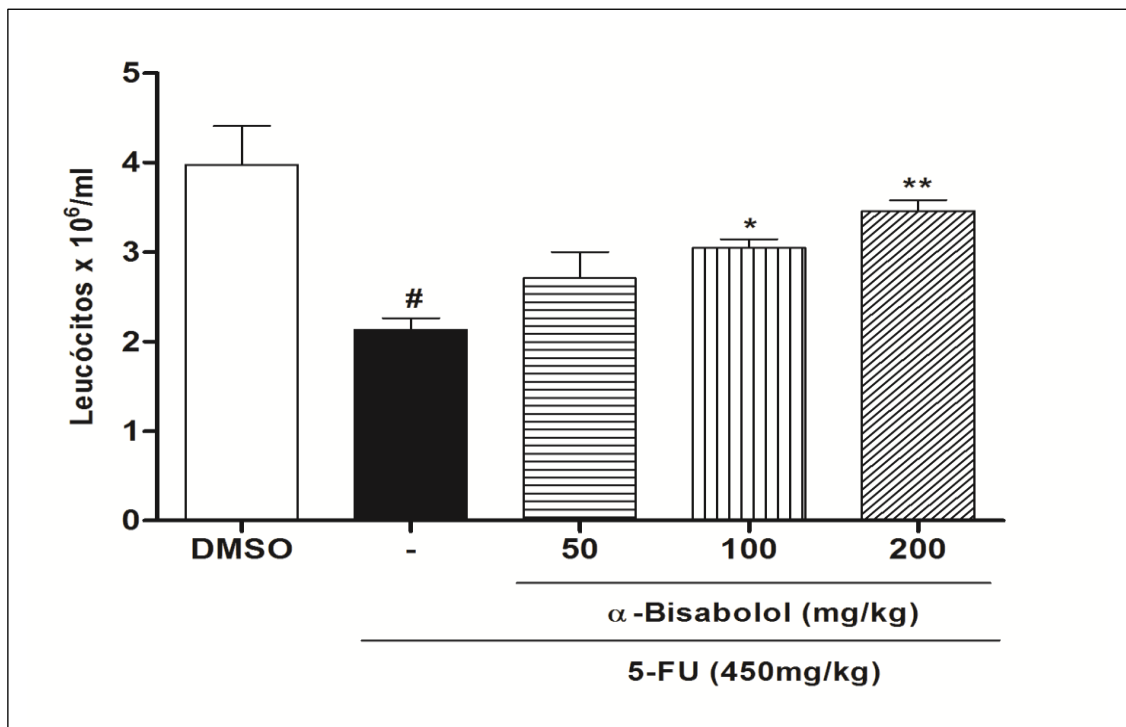
$p < 0,01$, comparado ao grupo DMSO

* $p < 0,01$ comparado ao grupo 5-FU

5.13.Efeito do tratamento com α -bisabolol na contagem de leucócitos de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU

De acordo com a figura 22 observa-se que o 5-FU diminuiu de forma significativa a contagem de leucócitos ($2,13 \pm 0,13 \times 10^6/\text{ml}$) quando comparado ao grupo DMSO ($3,97 \pm 0,43 \times 10^6/\text{ml}$). O α -bisabolol nas doses de 100 mg/kg ($3,04 \pm 0,09 \times 10^6/\text{ml}$) e 200 mg/kg ($3,46 \pm 0,12 \times 10^6/\text{ml}$) reestabeleceu de forma significativa a contagem total de leucócitos quando comparado ao grupo lesivo 5-FU ($p < 0,05$).

Figura 22. Efeito do tratamento com α -bisabolol na contagem de leucócitos em camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU



5-FU diminui de forma significativa contagem de leucócitos quando comparado ao grupo DMSO. BISA nas doses de 100 e 200 mg/kg reestabelece de forma significativa contagem total de leucócitos quando comparado ao grupo lesivo 5-FU. Os valores foram expressos como média \pm E.P.M, pelo teste ANOVA seguido de Newman-Keuls.

$p < 0,001$, quando comparado ao grupo DMSO

* $p < 0,05$ quando comparado ao grupo 5-FU

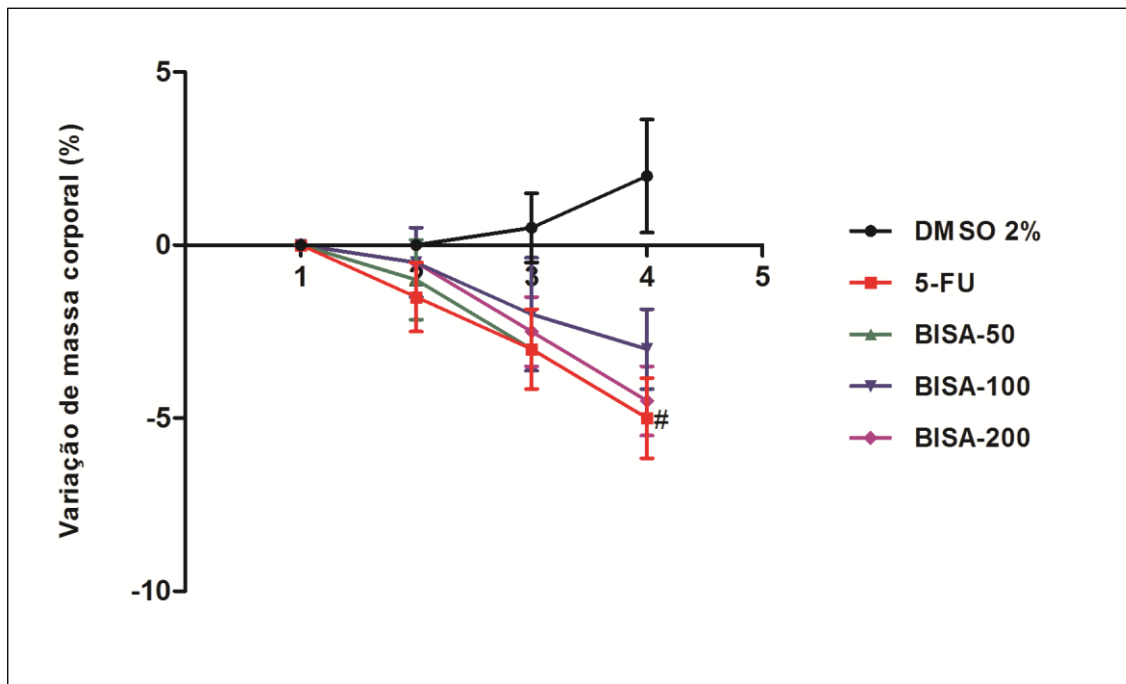
** $p < 0,01$ quando comparado ao grupo 5-FU

5.14.Efeito do tratamento com α -bisabolol na variação de peso corporal dos animais tratados com 5-FU

A variação de peso corporal dos camundongos mostrou-se evidente após a administração do 5-FU. A figura 23 mostra que houve perda de massa corporal nos animais tratados somente com 5-FU ($-2,50 \pm 0,57\%$) quando comparados ao grupo controle que ganhou massa corporal ($0,91 \pm 0,51\%$) em relação ao peso inicial.

Os animais tratados com α -bisabolol (50, 100 e 200 mg/kg) tiveram uma perda de peso reduzida em relação ao grupo tratado somente com 5-FU.

Figura 23. Efeito do tratamento com α -bisabolol na variação de peso corporal de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU.



5-FU provoca perda de peso nos animais quando comparado ao grupo DMSO 2%. Tratamento com BISA diminui a perda de peso. Os valores foram expressos como média \pm E.P.M., pelo teste ANOVA seguido de Newman-Keuls.

$p < 0,05$ comparados com o grupo DMSO 2%

DISCUSSÃO

A quimioterapia é uma das principais opções de tratamento usada em pacientes com câncer. No entanto, a maioria dos quimioterápicos utilizados atualmente estão associados com efeitos adversos substanciais sobre pacientes submetidos ao tratamento quimioterápico agindo principalmente em tecidos com alta taxa de proliferação como o intestino, levando ao quadro tóxico de mucosite intestinal. Esta toxicidade podem aumentar substancialmente o risco de redução da dose dos agentes quimioterapêuticos e da frequência de infecção, o que por sua vez interfere com o tempo e conseqüentemente os resultados do tratamento do câncer. O interesse na realização do presente trabalho deu-se em decorrência do impacto ocasionado pela mucosite intestinal oriunda do tratamento quimioterápico (NASCIMENTO *et al.*, 2014).

A mucosite, também conhecida como lesão da barreira mucosa, é um dos efeitos secundários mais debilitantes da radioterapia e do tratamento quimioterápico. Clinicamente, a mucosite está associada à dor, bacteremia e desnutrição. Além disso, a mucosite é uma razão freqüente para adiar o tratamento de quimioterapia, levando em última análise a uma maior mortalidade em pacientes com câncer. De acordo com o modelo introduzido por Sonis, tanto a inflamação como a apoptose da barreira mucosa resultam na sua descontinuidade, promovendo assim a translocação bacteriana (VAN VLIET *et al.*, 2010).

Sonis (2004) classifica a patogênese da mucosite em cinco fases, sendo: iniciação, resposta primária ao dano, amplificação de sinais, ulceração e cicatrização. Na fase inicial ocorre agressão tanto às células epiteliais e do tecido conjuntivo por meio de dano ao DNA e formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), o que diminui a renovação celular, afetando, em especial, epitélio e vasos sanguíneos. Na etapa seguinte ocorre a ativação dos fatores nucleares de transcrição da família Kappa-B (NF- κ B), que atua induzindo centenas de genes ativadores de citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α (fator de necrose tumoral), IL1- β (interleucina 1 β) e IL6 (interleucina 6), intensificando o quadro inflamatório.

A fase III é consequência da ativação das citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL 1- β), que causam dano ao epitélio, endotélio e fibroblastos. Na fase

IV ocorre perda de integridade da mucosa, causando lesões. Na quinta e última fase, denominada de cicatrização, as moléculas mensageiras são lançadas direto da matriz extracelular ao epitélio contíguo à úlcera, induzindo-o à divisão, migração e diferenciação, a fim de possibilitar a formação de uma mucosa íntegra.

Baseado em dados da literatura, utilizou-se 5-fluorouracila (450 mg/kg) dose única via i.p para induzir o modelo de mucosite nos animais (SOARES,2008; JUSTINO *et al.*, 2014;JUSTINO *et al.*, 2015; ARAÚJO *et al.*, 2015) a qual foi caracterizada por alterações intestinais acompanhada por resposta inflamatória e perda de peso.

No presente estudo, a administração intraperitoneal de 5-FU causou danos significativos à estrutura do intestino delgado, impactando ainda mais na altura dos vilos em segmentos de jejuno e íleo, além do aumento na profundidade das criptas em ambos os segmentos. Ressalta-se que as drogas citotóxicas prejudicam a renovação celular do epitélio intestinal levando ao quadro de achatamento dos vilos e danificando as células auto renováveis da cripta (ZUO *et al.*, 2015). No entanto, a administração de alfa-bisabolol preservou a arquitetura de vilos ao diminuir de forma significativa o encurtamento de tais estruturas e diminuindo a profundidade das criptas. O óleo essencial poderia estar atuando diminuindo a apoptose das células das criptas às quais atuam na proliferação das células das microvilosidades, levando ao quadro de proteção intestinal.

Para os diferentes aspectos da arquitetura intestinal encontrados em cada grupo atribuiu-se escores histológicos baseados nas características, em que foram avaliados: destruição da arquitetura da mucosa; presença e grau de infiltração celular; presença ou ausência de ulcerações; e tamanho do vilos. (Tabela 1).

A distribuição dos escores mostrou que o processo inflamatório, migração celular e perda da arquitetura em vilos e criptas apresentou-se evidente no grupo que recebeu apenas 5-fluorouracil, quando comparados aos animais do grupo DMSO 2%, tanto em segmentos de jejuno quanto de íleo. A tabela mostra ainda que a administração de alfa-bisabolol na dose de 100 mg/kg diminuiu de forma significativa os escores, evidenciando diminuição no infiltrado inflamatório, manutenção na arquitetura de vilos e criptas.

Com o objetivo de medir a infiltração de neutrófilos no tecido, investigou-se a atividade da enzima mieloperoxidase intestinal. Os níveis de MPO mostraram-se elevados nos segmentos de jejuno e íleo nos animais do grupo 5-FU, quando comparado ao grupo controle DMSO 2%.

De outro modo, a quantidade de MPO nos segmentos de jejuno e íleo de camundongos tratados com alfa-bisabolol diminuiu de forma significativa quando comparado ao grupo 5-FU. No jejuno a dose de 100 mg/kg reverteu de forma significativa o infiltrado neutrofílico decorrente do uso de 5-FU, enquanto que em segmentos de íleo as doses de 100 e 200 mg/kg mostraram-se eficazes ao reduzir os níveis de MPO quando comparado ao grupo que recebeu apenas 5-FU, indicando assim uma redução no processo inflamatório. ROCHA e colaboradores (2011) relata que o alfa-bisabolol nas doses de 100 e 200 mg/kg diminuiu os níveis de mieloperoxidase em modelos de inflamação e hipernocicepção quando comparados aos grupos controle.

Devido ao seu odor agradável floral-doce e aparente inocuidade, o alfa-bisabolol (BISA) têm sido amplamente utilizado como ingredientes de preparações cosméticas, tais como gel pós-barba, formulações de loções corporais, desodorantes, além de produtos para cuidados pós-sol. Em alguns países europeus, chás de camomila vêm sendo usados na medicina popular para tratar doenças inflamatórias, febre e diarreia e para alívio da dor menstrual (GOMES-CARNEIRO *et al.*, 2005; KIM *et al.*, 2011; MAURYA *et al.*, 2014).

O alfa-bisabolol tem sido investigado por seus diversos efeitos, dentre os quais encontra-se o efeito anti-inflamatório. Tomić e colaboradores (2013) relata que preparações de matricaria apresentam uso frequente por suas propriedades anti-inflamatórias. Os autores demonstraram ainda que o óleo de matricaria rico em óxidos de bisabolol diminuiu o processo inflamatório induzido por carragenina, igualando tal efeito ao fármaco padrão ibuprofeno.

Além das barreiras físicas, os neutrófilos são considerados parte da primeira linha de defesa imunológica. Eles podem ser encontrados na corrente sanguínea, onde apresentam uma vida útil de 6-8 h, e no tecido, onde podem durar até 7 dias. São as primeiras células do sistema imunológico a migrar para um local de inflamação, onde desempenham um papel importante na eliminação de patógenos e produção de citocinas intensificando o processo inflamatório ((LACY, 2006; DELGADO-RIZO *et al.*, 2017). Possui grânulos azurófilos e

vesículas secretoras os quais desempenham um papel essencial na maioria de suas funções de neutrófilos com destaque para destruição de microorganismos fagocitados. Os grânulos de neutrófilos contêm um grande número de substâncias antimicrobianas e potencialmente citotóxicos as quais defendem o hospedeiro contra patógenos invasores. Dentre tais substâncias encontra-se a enzima mieloperoxidase (FAURSCHOU; BORREGAARD, 2003; YANG et al., 2016).

A MPO é uma enzima pró-inflamatória importante secretada pelos neutrófilos ativados que desempenham papel na proteção celular contra a infecção microbiana por Formando ácido hipocloroso / hipoclorito. Essas espécies reativas podem reagir com macromoléculas celulares hospedeiras e conduzem a dano no local da inflamação como não regulado A expressão da MPO tem sido associada a várias condições e doenças (AL-ASMARI, et al., 2016).

A mieloperoxidase pode agir no endotélio vascular promovendo a liberação de mediadores pró-inflamatórios e expressão de moléculas de adesão, levando ao aumento da permeabilidade vascular e aumento da adesão de neutrófilos. Após desgranulação, o neutrófilo também libera várias substâncias como proteínas antimicrobianas, proteases, componentes da resposta oxidativa, vários receptores de membrana para moléculas de adesão endotelial, metaloproteinases de matriz ("*Matrix Metalloproteinases*" - MMPs) e mediadores solúveis da inflamação (FAURSCHOU , BORREGAARD; 2003).

Diante disso nossos resultados apontam que o processo inflamatório de mucosite intestinal induzida por 5-FU apresentou aumento significativo nos níveis da enzima mieloperoxidase evidenciando intenso infiltrado neutrofilico nos segmentos de jejuno e íleo. ARIFA *et al.*, 2014 demonstra em sua pesquisa aumento nos níveis de MPO no grupo com mucosite intestinal induzida por irinotecano.

Resultados semelhantes aos de PEREIRA e colaboradores (2016) e TANG *et al.*, 2016 ao induzirem mucosite intestinal usando 5- FU. Nosso grupo de pesquisa também demonstrou aumento na atividade de mieloperoxidase em modelos de mucosite intestinal induzida pelo antineoplásico irinotecano (ALVARENGA *et al.*, 2016). Resultados estes demonstram que o infiltrado

neutrofílico constitui-se evento inerente ao processo de inflamação intestinal induzida pela quimioterapia.

Todo processo inflamatório culmina na formação de espécies reativas de oxigênio, as quais por meio de reação em cadeia intensificam o quadro ativando diversos mediadores inflamatórios. Tais espécies reativas por meio de seus mecanismos atuam diminuindo a concentração de estruturas antioxidantes, sendo que moléculas com tais propriedades vêm sendo estudadas em diversas patologias.

Superóxido dismutase, glutatona e catalase são sistemas de defesas antioxidante, as quais podem proteger contra a ação de espécies reativas de oxigênio. Espécies reativas de oxigênio exercem papel importante na toxicidade do sistema gastrointestinal e o estresse oxidativo induzido por antineoplásicos pode causar danos nas ligações sulfidrilas em proteínas, nucleótidos do DNA e ácidos graxos poliinsaturados encontrados em membranas celulares (MOGHADAM *et al.*, 2013).

No presente estudo verificou-se ainda a atividade antioxidante do alfa-bisabolol por meio da dosagem da enzima glutatona. Essa enzima age por meio de mecanismos de prevenção, impedindo e/ou controlando a formação de radicais livres e espécies não-radicais, envolvidos com a iniciação das reações em cadeia que culminam com propagação e amplificação do processo e, conseqüentemente, com a ocorrência de danos oxidativo (BARBOSA *et al.*, 2010).

Ainda analisando-se os parâmetros inflamatórios observa-se de acordo com a figura 17 que a administração de 5-FU elevou os níveis de íons nitrito quando comparado ao grupo controle negativo DMSO 2, enquanto que a administração de alfa-bisabolol na dose de 100 mg/kg diminuiu tais níveis de forma significativa. Tal resultado são corroborados pelos de JUSTINO e colaboradores, (2015) onde encontraram níveis elevados de íons nitrito em modelos de mucosite induzida por 5-FU. O íon nitrito está entre as Espécies Reativas de Nitrogênio mais frequentes, às quais intensificam o processo inflamatório, sendo altamente reativo no organismo atacando lipídios, proteínas e DNA (RIOS, 2014). A dosagem desse radical livre serve de marcador indireto para a ação do mediador gasoso óxido nítrico, o qual encontra-se evidente em

processos inflamatórios, sendo que níveis elevados do mesmo encontra-se proporcional à atividade de iNOs.

A expressão da enzima óxido nítrico sintase (iNOs) foi realizada por imunohistoquímica, sendo encontrado níveis elevados da mesma no grupo 5-FU, sendo os níveis da enzima diminuídos nos animais tratados com alfa-bisabolol na dose de 100 mg/kg, sugerindo-se assim um efeito protetor, tendo em vista diminuição na produção de óxido nítrico evidenciado como agravante no curso da mucosite.

LEITÃO e colaboradores (2007) apontam que a produção de NO é mediada pela expressão de citocinas às quais encontram-se fortemente presentes no quadro patológico da mucosite, tais como TNF- α , IL-6 e IL-1. Nossos resultados corroboram os de KIM e colaboradores (2015) os quais encontraram grande quantidade de células imunomarcadas para iNOs em camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU. FREITAS *et al.*, 2012 aponta elevação nos níveis de iNOs em hamsters com mucosite oral induzida por 5-FU. LIMA-JÚNIOR *et al.*, 2014 encontrou resultados semelhantes ao induzir mucosite intestinal em ratos pelo antineoplásico irinotecano.

A NO sintase induzível é a principal isoforma relevante na inflamação, e praticamente todas as células inflamatórias expressam essa enzima em resposta à estimulação de citocinas. A enzima é induzida pelo lipopolissacarídeo bacteriano e/ou citocinas sintetizadas, em resposta ao LPS, notavelmente interferon-gama. Logo, em resposta ao interferon-gama e ao TNF- α , que atua de modo sinérgico ao interferon- α , sequências do DNA do macrófago, relativa à síntese da iNOs, são transcritas no núcleo para formar o RNAm, o qual depois de processado atua na produção de proteínas, com destaque para as citocinas pró-inflamatórias (MOURA, 2012).

Cerqueira e Yoshida (2002) explicam que a expressão da iNOS é o resultado de uma resposta inflamatória localizada ou difusa resultante de uma infecção ou dano tecidual. Assim, onde a resposta inflamatória é parte de uma resposta adaptativa (isto é, infecção ou sepse), a expressão de iNOS é benéfica; quando a expressão da iNOS é parte da inflamação anormal (não adaptativa), a expressão de iNOS pode ser nociva.

Em nosso estudo verificou-se ainda a participação de mastócitos no curso da mucosite intestinal. Os mastócitos e as interações neuroimunes

desempenham papéis críticos na patogênese da lesão intestinal por quimioterápicos. Os mastócitos desempenham um papel crítico na regulação imune e inflamação. Apesar de serem mais conhecidos pela sua função na alergia e anafilaxia, os mastócitos exercem uma função protetora significativa. Já mostramos que os mastócitos protegem contra lesões provocadas pela radiação intestinal precoce (AMMENDOLA *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2014).

MATSUMOTO *et al.*, 2013 em seu estudo aponta os níveis aumentos de receptores de serotonina em modelos de mucosite intestinal induzida por 5-FU, sendo que tais receptores apresentam relação na ativação de mastócitos na lâmina própria da mucosa.

Nossos resultados mostram que os animais tratados apenas com 5-FU apresentam aumento de forma significativa na contagem de mastócitos quando comparados ao grupo DMSO 2%. Viu-se ainda que o tratamento com alfa-bisabolol na dose de 100 mg/kg reverte de forma significativa tal aumento.

Realizou-se ainda análise funcional dos animais tratados com alfa-bisabolol na mucosite intestinal induzida por 5-FU, tendo em vista que os efeitos colaterais mais frequentes da quimioterapia antineoplásica são os sintomas gastrintestinais. A mucosite intestinal induzida por 5-FU em camundongos está associada a significativo retardo no esvaziamento gástrico e no trânsito gastrintestinal. Pacientes com câncer podem sofrer de outros sintomas gastrointestinais, tais como dispepsia, disfagia e diarreia os quais têm sido referido como síndrome dispéptica associada à quimioterapia do câncer (CADS) (SOARES *et al.*, 2011).

Estudos têm relatado significativo retardo no esvaziamento gástrico em camundongos tratados com 5-FU (ABALO *et al.*, 2016; JUSTINO *et al.*, 2015)

O retardo no esvaziamento gástrico, observado em animais tratados com 5-FU, pode ser devido a um aumento na complacência gástrica e/ou a um aumento na resistência antro-duodenal (HABA; SARNA, 1993). Dados da literatura demonstraram que a inflamação intestinal está associada com anormalidades do controle da motilidade gastrintestinal em modelos de lesão inflamatória (MOREELS *et al.*, 2001; AKIHO *et al.*, 2005).

As anormalidades no esvaziamento gástrico podem ser decorrentes de doenças do próprio tubo digestivo, de alterações nas conexões desse tubo com o sistema nervoso, de desordens metabólicas ou da musculatura lisa e, ainda,

podem ser conseqüência de cirurgias gástricas, distúrbios psicológicos e uso de medicamentos quimioterápicos (VALADARES *et al.*, 2006). Observa-se por meio de nossos resultados que o alfa-bisabolol na dose de 100 mg/kg diminui de forma significativa o aumento no conteúdo retido no estômago quando compara-se ao grupo que recebeu apenas 5-FU.

O tratamento quimioterápico apresenta a perda de peso como uma de suas principais manifestações clínicas. Os indivíduos podem perder peso por diferentes motivos que reduzem a absorção de nutrientes, tais como náuseas, vômitos, diarreia, perda na estrutura das vilosidades.

5-FU provocou nos animais intensa perda de peso como mostra a figura 22. O agente antineoplásico induz a perda de peso em ratos, devido principalmente à mucosite intestinal e alterações sistêmicas que afetam a renovação celular das criptas e, finalmente, levando a uma redução na área de superfície de absorção das vilosidades (ARAÚJO *et al.*, 2015). No entanto, o uso do alfa-bisabolol diminuiu a perda de peso dos animais após a mucosite, sendo tal fato reforçado pelos achados histopatológicos, onde encontrou-se diminuição dos efeitos citotóxicos do 5-FU com uma mucosa mais íntegra (diminuição nos escores histopatológicos).

Uma possível explicação para tal fato, pode residir na proteção que o alfa-bisabolol mostrou ao diminuir de forma significativa a perda na estrutura dos vilos nos segmentos de jejuno e íleo (Fig. 12A e 12 B, respectivamente). O aumento do comprimento das vilosidades em modelo animal torna-se indicativo no aumento da superfície de absorção, levando ao aumento da biodisponibilidade de diversos nutrientes, podendo o alfa-bisabolol ser usado como estratégia no controle da mucosite intestinal

A terapia com 5-FU apresenta efeitos colaterais típicos, como mielosupressão, leucopenia, náuseas, vômitos, diarreia, anorexia, estomatite (ALTER *et al.*, 2006). O gráfico 21 mostra-nos que o uso de 5-FU pelos animais provocou uma leucopenia, sendo a mesma revertida pelo tratamento com alfa-bisabolol nas doses de 100 e 200 mg/kg. Tal resultado assemelha-se aos de SOARES e colaboradores (2010), onde os mesmos obtiveram como resultados leucopenia em ratos tratados com uma aplicação única de 5-FU, na dose de 150 mg/kg, observando-se que nos dias 1, 3 e 5 após a aplicação do quimioterápico, os animais apresentaram importante leucopenia, que foi máxima no terceiro dia

pós-quimioterapia. Estes resultados sugerem que uma aplicação única de 5-FU é capaz de causar diminuição da concentração de leucócitos circulante.

Diante do exposto, fica evidente que a busca crescente por compostos de origem natural, especialmente vegetais, é relevante, comprovando assim o uso popular das plantas, o que contribui na busca de novas terapias. Nossos resultados demonstraram que o BISA apresenta notável atividade protetora no modelo de mucosite intestinal induzida por antineoplásicos, sendo o composto promissor como futuro agente usado em pacientes com tal efeito colateral oriundo da quimioterapia.

7. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados do presente trabalho, pode-se constatar que:

α -bisabolol diminui a perda ponderal de camundongos submetidos à mucosite intestinal induzida por 5-FU

α -bisabolol previne alterações histológicas em segmentos de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU

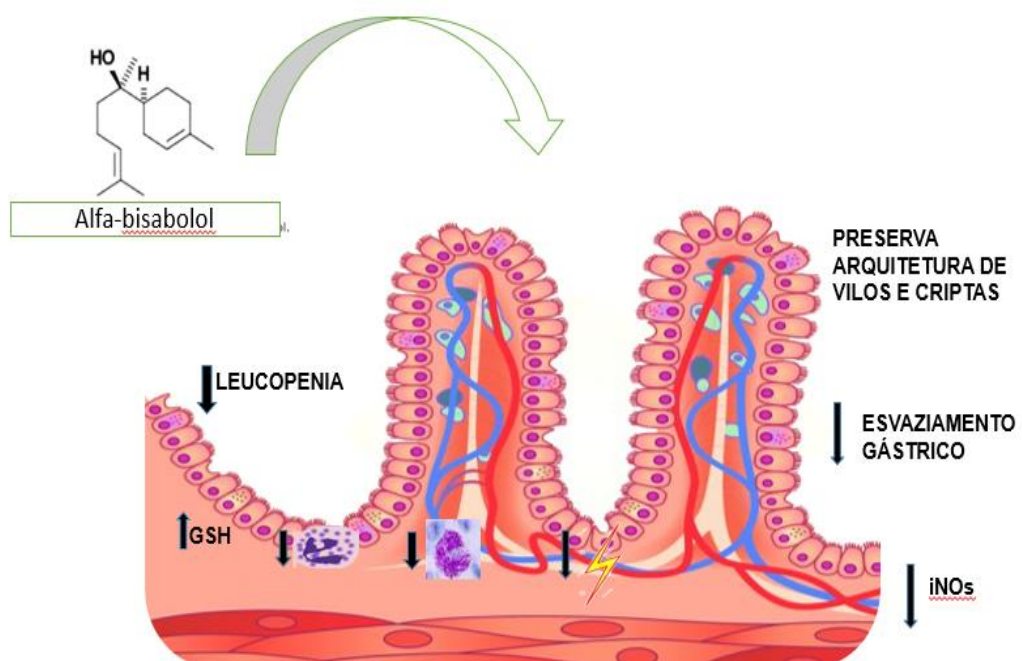
α -bisabolol inibe processo inflamatório por reduzir níveis de MPO , aumentar leucócitos e diminuir estresse oxidativo (aumento de GSH e diminuição de nitrito) em modelos de mucosite intestinal.

α -bisabolol diminui níveis de mastócitos na mucosa intestinal de camundongos submetidos à mucosite intestinal.

α -bisabolol diminui o tempo de retenção gástrica em modelo de mucosite intestinal.

α -bisabolol diminui a expressão de iNOs em segmentos de jejuno e íleo de camundongos com mucosite intestinal induzida por 5-FU

Com base nesses resultados constata-se que o α -bisabolol inibe a lesão intestinal causada por 5-FU, diminui parâmetros inflamatórios e estresse oxidativo.



REFERÊNCIAS

- ABALO, R., URANGA, J. A., PÉREZ-GARCÍA, I., ANDRÉS, R., GIRÓN, R., VERA, G., MARTÍN-FONTELLES, M. I. May cannabinoids prevent the development of chemotherapy-induced diarrhea and intestinal mucositis? Experimental study in the rat. **Neurogastroenterology & Motility**, 2016.
- ABDELRAHMAN, M., MCCARTHY, M. T., YUSOF, H., OSMAN, N. Successful capecitabine rechallenge following 5-fluorouracil-induced Takotsubo syndrome. **Oxford Medical Case Reports**, v. 2016, n. 3, p. 47-50, 2016.
- ALENCAR, N. M. N., SILVEIRA BITENCOURT, F., FIGUEIREDO, I. S. T., Luz, P. B., LIMA-JÚNIOR, R. C. P., ARAGÃO, K. S., MAGALHÃES, P.J.C.,BRITO, G.A.C.,RIBEIRO, R.A.,FREITAS, A.P.F.,RAMOS, M. V . Side-Effects of Irinotecan (CPT-11), the Clinically Used Drug for Colon Cancer Therapy, Are Eliminated in Experimental Animals Treated with Latex Proteins from *Calotropis procera* (Apocynaceae). **Phytotherapy Research**, 2016.
- ALMEIDA, V.L DE., LEITÃO, A., REINA, L. C. B., MONTANARI, C.A., DONNICI, C.L., LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.
- AL-ASMARI, A. K., KHAN, A. Q., AL-ASMARI, S. A., AL-RAWI, A., AL-OMANI, S. Alleviation of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in rats by vitamin E via targeting oxidative stress and inflammatory markers. **Journal of Complementary and Integrative Medicine**, v. 13, n. 4, p. 377-385, 2016.
- ALTER, P., Herzum, M., Soufi, M., Schaefer, J. R., Maisch, B Cardiotoxicity of 5-fluorouracil. **Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Cardiovascular & Hematological Agents)**, v. 4, n. 1, p. 1-5, 2006.
- ALVARENGA, E.M., SOUZA, L. K., ARAÚJO, T. S., NOGUEIRA, K. M., SOUSA, F. B. M., ARAÚJO, A. R., SOUSA, D. P., MARTINS, C.S., BRITO, G.A.C., SOUZA, E.P., SOUSA, D.P., MEDEIROS, J.V.R. Carvacrol reduces irinotecan-induced intestinal mucositis through inhibition of inflammation and oxidative damage via TRPA1 receptor activation. **Chemico-Biological Interactions**, v. 260, p. 129-140, 2016.
- ARAÚJO, C. V., LAZZAROTTO, C. R., AQUINO, C. C., FIGUEIREDO, I. L., COSTA, T. B., DE OLIVEIRA ALVES, L. A., RIBEIRO, R.A., BERTOLINI, L.R., LIMA, A. A.M., BRITO, G.A.C., ORIÁ, R. B. Alanyl-glutamine attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in apolipoprotein E-deficient mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 6, p. 493-501, 2015.

ARGENTA, S.C., ARGENTA, L. C., GIACOMELLI, S. R., CEZAROTTO., V.S. Plantas Medicinais: cultura popular versus ciência. **Revista eletrônica Vivências**, v. 7, n. 12, p. 51-60, 2011.

ARIFA, R.D.N., MADEIRA, M. F., DE PAULA, T. P., LIMA, R. L., TAVARES, L. D., MENEZES-GARCIA, Z., TEIXEIRA, M. M., FAGUNDES, C.T., RACHID, M.A., ZAMBONI, D., SOUSA, D.G. Inflammasome activation is reactive oxygen species dependent and mediates irinotecan-induced mucositis through IL-1 β and IL-18 in mice. **The American journal of pathology**, v. 184, n. 7, p. 2023-2034, 2014.

ARIFA, R. D. N., DE PAULA, T. P., MADEIRA, M. F. M., LIMA, R. L., GARCIA, Z. M., ÁVILA, T. V., KRAMBROCK, K. The reduction of oxidative stress by nanocomposite Fullerol decreases mucositis severity and reverts leukopenia induced by Irinotecan. **Pharmacological research**, v. 107, p. 102-110, 2016.

ARAÚJO, C. V., LAZZAROTTO, C.R., AQUINO, C.C., FIGUEIREDO, I.L., COSTA, T.B., DE OLIVEIRA ALVES, L.A., RIBEIRO, R.A., BERTOLINI, L.R., LIMA, A.A.M., BRITO, G.A.C., ORIÁ, R.B. Alanyl-glutamine attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in apolipoprotein E-deficient mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 6, p. 493-501, 2015.

ATANASOV, A. G., WALTENBERGER, B., PFERSCHY-WENZIG, E. M., LINDER, T., WAWROSCHEK, C., UHRIN, P., ROLLINGER, J. M. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. **Biotechnology advances**, v. 33, n. 8, p. 1582-1614, 2015.

BAJIC, J.E., EDEN, G. L., LAMPTON, L. S., CHEAH, K. Y., LYMN, K. A., PEI, J. V., YOOL, A.J., HOWARTH, G. S. Rhubarb extract partially improves mucosal integrity in chemotherapy-induced intestinal mucositis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 22, n. 37, p. 8322, 2016.

BARBOSA, K. B. F., COSTA, N. M. B., ALFENAS, R. D. C. G., DE PAULA, S. O., MINIM, V. P. R., BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, 2010.

BARKER, N. Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 15, n. 1, p. 19-33, 2014.

BARRETO, R.S.S., QUINTANS, J. S., AMARANTE, R. K., NASCIMENTO, T. S., AMARANTE, R. S., BARRETO, A. S., ZENGIN, G., DUARTE, M.C., COUTINHO, H.D.M., MENEZES, I.R.A., ABDURRAHMAN, A., QUINTANS-JÚNIOR, L.J. Evidence for the involvement of TNF- α and IL-1 β in the antinociceptive and anti-inflammatory activity of *Stachys lavandulifolia* Vahl. (Lamiaceae) essential oil and (-)- α -bisabolol, its main compound, in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, 2016.

BASTOS MOURA, J. F., MOTA, J. M. S. C., LEITE, C. A. V., WONG, D. V. T., BEZERRA, N. P., BRITO, G. A. D. C., RIBEIRO, R. A. A novel model of megavoltage radiation-induced oral mucositis in hamsters: Role of inflammatory cytokines and nitric oxide. **International journal of radiation biology**, v. 91, n. 6, p. 500-509, 2015.

BASTOS, C.C.C., ÁVILLA, P.H.M., SANTOS FILHO, E.X.,ÁVILLA, R.I.,BATISTA,A.C.,FONSECA, S.G.,LIMA, E.M., MARRETO,R.N., MENDONÇA, E.F.,VALADARES, M.C.Use of *Bidens pilosa* L.(Asteraceae) and *Curcuma longa* L.(Zingiberaceae) to treat intestinal mucositis in mice: Toxicopharmacological evaluations. **Toxicology Reports**, v. 3, p. 279-287, 2016.

BHATIA, S.P.; MCGINITY, D.; LETIZIA, C.S.; API, A.M. Fragrance material review on alpha-bisabolol. **Food Chem Toxicol**, v. 46, n.11, p.72-76, 2008.

BERNARDI, A.; JACQUES-SILVA, M.C.; LENZ, G. Abordagem molecular no desenvolvimento de fármacos anti-tumorais. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 15, n. 9/10, p. 61-63, 2013.

BENNETT, R.N.; WALLSGROVE, R.M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New Phytologist**, Philadelphia, v.4, n.127, p.617-633. 1994.

BEZERRA, S. B., LEAL, L. K. A. M., NOGUEIRA, N. A. P., Campos, A. R. Bisabolol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: role of prostaglandins, nitric oxide, and K⁺ ATP channels. **Journal of medicinal food**, v. 12, n. 6, p. 1403-1406, 2009.

BISCHOFF, S. C., BARBARA, G., BUURMAN, W., OCKHUIZEN, T., SCHULZKE, J. D., SERINO, M., TILG,H., ALASTAIR WATSON, A., WELLS, J. M ET AL. Intestinal permeability—a new target for disease prevention and therapy. **BMC gastroenterology**, v. 14, n. 1, p. 1, 2014.

BRANDÃO, H.N., DAVID, J. P., COUTO, R. D., NASCIMENTO, J. A.,DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. 2010.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Estudos da representatividade ecológica nos biomas brasileiros**. Brasília, 2007.

CARDANI, D., SARDI, C., LA FERLA, B., D'ORAZIO, G., SOMMARIVA, M., MARCUCCI, F., OLIVERO, D., TAGLIABUE, E., KOEPESELL,H., NICOTRA, F.,BALSARI, A., RUMIO, C. Sodium glucose cotransporter 1 ligand BLF501 as a novel tool for management of gastrointestinal mucositis. **Molecular cancer**, v. 13, n. 1, p. 1, 2014.

CARNEIRO-FILHO, B. A., LIMA, I. P. F., ARAUJO, D. H., CAVALCANTE, M. C., CARVALHO, G. H. P., BRITO, G. A. C., MONTEIRO, S.M.N., SANTOS, F.N., RIBEIRO, R.A., LIMA, V., LIMA, A. A. M. Intestinal barrier function and secretion

in methotrexate-induced rat intestinal mucositis. **Digestive diseases and sciences**, v. 49, n. 1, p. 65-72, 2004.

CARVALHO, A.C.B., BALBINO, E.E., MACIEL, A., PERFEITO, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. **Rev Bras Farmacogn**, v. 18, n. 2, p. 314-319, 2008.

CASTILLA, M.S., MATEOS, A.G.L., LÓPEZ MARTÍNEZ, J. Respuesta inflamatoria sistematica: fisiopatologia y mediadores. **Medicina intensiva**, v. 24, n. 8, p. 353-360, 2000

CAVALIERI, E., RIGO, A., BONIFACIO, M., DE PRATI, A. C., GUARDALBEN, E., BERGAMINI, C., FATO, R., PIZZOLO, G., SUZUKI, H., VINANTE, F. Pro-apoptotic activity of α -bisabolol in preclinical models of primary human acute leukemia cells. **Journal of translational medicine**, v. 9, n. 1, p. 1, 2011.

CHABNER, B. A.; CALABRESI, P. Em **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**; Goodman, L. S.; Gilman, A., eds.; Mc Graw Hill: Rio de Janeiro, 1995, p. 903-949.

CHANG, C.T., HO, T. Y., LIN, H., LIANG, J. A., HUANG, H. C., LI, C. C., HSIANG, C. Y. 5-Fluorouracil induced intestinal mucositis via nuclear factor- κ B activation by transcriptomic analysis and in vivo bioluminescence imaging. **PloS one**, v. 7, n. 3, p. e31808, 2012.

CHEN, Y., ZHENG, H., ZHANG, J., WANG, L., JIN, Z., GAO, W. Protective effect and potential mechanisms of Wei-Chang-An pill on high-dose 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.4, n.7, p. 3, 2016.

CICCIA, F., FERRANTE, A., GUGGINO, G., TRIOLO, G. The role of the gastrointestinal tract in the pathogenesis of rheumatic diseases. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, 2016.

CORPAS-LÓPEZ, V., MORILLAS-MARQUEZ, F., NAVARRO-MOLL, M. C., MERINO-ESPINOSA, G., DIAZ-SAEZ, V., MARTIN-SANCHEZ, J. (-) - α -Bisabolol, a Promising Oral Compound for the Treatment of Visceral Leishmaniasis. **Journal of natural products**, v. 78, n. 6, p. 1202-1207, 2015.

COSTA, N.F. **Avaliação da atividade farmacológica do óleo essencial de Piper rivinoides Kunth**. 2015. (Tese de Doutorado) Instituto Oswaldo Cruz.

CRAIG, C; STITZEL, R.E. Farmacologia Moderna com Aplicações Clínicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, 815p.

CURRA, M., PELLICOLI, A. C. A., KRETZMANN FILHO, N. A., OCHS, G., MATTE, Ú., SANT'ANA FILHO, M., MARTINS, M. D. Photobiomodulation reduces oral mucositis by modulating NF- κ B. **Journal of biomedical optics**, v. 20, n. 12, p. 125008-125008, 2015.

DE ARAÚJO JÚNIOR, R. F., DA SILVA REINALDO, M. P. O., DE CASTRO BRITO, G. A., DE FRANÇA CAVALCANTI, P., DE MOURA FREIRE, M. A., DE MEDEIROS, C. A. X., & DE ARAÚJO, A. A. Olmesartan decreased levels of IL-1 β and TNF- α , down-regulated MMP-2, MMP-9, COX-2, RANK/RANKL and up-regulated SOCs-1 in an intestinal mucositis model. **PloS one**, v. 9, n. 12, p. e114923, 2014.

DELGADO-RIZO, V., MARTÍNEZ-GUZMÁN, M. A., IÑIGUEZ-GUTIERREZ, L., GARCÍA-OROZCO, A., ALVARADO-NAVARRO, A., FAFUTIS-MORRIS, M. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview. **Frontiers in Immunology**, v. 8, 2017.

DE MORAIS, M.B. Signs and symptoms associated with digestive tract development. **Jornal de Pediatria**, v. 92, n. 3, p. S46-S56, 2016.

DE OLIVEIRA LEITE, G., G, FERNANDES, C. N., DE MENEZES, I. R. A., DA COSTA, J. G. M., CAMPOS, A. R. Attenuation of visceral nociception by α -bisabolol in mice: investigation of mechanisms. **Organic and medicinal chemistry letters**, v. 2, n. 1, p. 1-5, 2012.

DE SOUZA RODRIGUES, F. S; POLIDORI, M. M. Enfrentamento e resiliência de pacientes em tratamento quimioterápico e seus familiares. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 58, n. 4, p. 619-627, 2012.

DOMINGUES, R.J., YOUNG, M. C. M., TÖFOLI, J. G., MATHEUS, D. R. . Potencial antifúngico de extratos de plantas e de basidiomicetos nativos sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e *Sclerotium rolfsii*. **Summa phytopathol.**, Botucatu, v. 37, n. 3, set. 2011.

DUARTE, M.C.T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, p. 17, 2006.

DUNCAN, M.; GRANT, G. **Oral and intestinal mucositis - causes and possible treatments**. *Aliment Pharmacol Ther* 18: 853 – 874; 2003.

ELBELTAGY, M., MUSTAFA, S., UMKA, J., LYONS, L., SALMAN, A., DORMON, K., WIGMORE, P. The effect of 5-fluorouracil on the long term survival and proliferation of cells in the rat hippocampus. **Brain research bulletin**, v. 88, n. 5, p. 514-518, 2012.

FAURSCHOU, M.; BORREGAARD, N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. **Microbes and Infection**, v. 5, n. 14, p. 1317-1327, 2003.

FORRER, M., KULIK, E. M., FILIPPI, A., WALTIMO, T. The antimicrobial activity of alpha-bisabolol and tea tree oil against *Solobacterium moorei*, a Gram-positive bacterium associated with halitosis. **Archives of oral biology**, v. 58, n. 1, p. 10-16, 2013.

GARLANDA, Cecilia; DINARELLO, Charles A.; MANTOVANI, Alberto. The interleukin-1 family: back to the future. **Immunity**, v. 39, n. 6, p. 1003-1018, 2013.

GÖKE, M., PODOLSKY, D.K. Regulation of the mucosal epithelial barrier. **Baillière's clinical gastroenterology**, v. 10, n. 3, p. 393-405, 1996.

GUNTER, B. R., BUTLER, K. A., WALLACE, R. L., SMITH, S. M., HARIRFOROOSH, S. Non-steroidal anti-inflammatory drug-induced cardiovascular adverse events: a meta-analysis. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, 2016.

HAAGEN, J., KROHN, H., RÖLLIG, S., SCHMIDT, M., WOLFRAM, K., DÖRR, W. Effect of selective inhibitors of inflammation on oral mucositis: preclinical studies. **Radiotherapy and oncology**, v. 92, n. 3, p. 472-476, 2009.

HAN, G.H., KIM, S. K., YOON, P. K. S., KANG, Y., KIM, B. S., FU, Y., SUNG, B.H., JUNG, H.C., LEE, S. G. Fermentative production and direct extraction of (-)- α -bisabolol in metabolically engineered *Escherichia coli*. **Microbial Cell Factories**, v. 15, n. 1, p. 185, 2016.

HARTMANN, Katia Cristina; ONOFRE, Sideney Becker. Atividade Antimicrobiana de Óleos Essenciais da Camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Saúde e Pesquisa**, v. 3, n. 3, 2010.

HEIDELBERGER, C; DANENBERG, P.V.; MORAN, R.G. Fluorinated pyrimidines and their nucleosides. **Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol**, v. 54, p. 58-119, 1983.

HERRMANN, J., YANG, E. H., ILIESCU, C. A., CILINGIROGLU, M., CHARITAKIS, K., HAKEEM, A., MARMAGKIOLIS, K. Vascular Toxicities of Cancer Therapies The Old and the New—An Evolving Avenue. **Circulation**, v. 133, n. 13, p. 1272-1289, 2016.

HOSKINS, J.; BUTLER, J. S. Evidence for distinct DNA- and RNA-based mechanisms of 5-fluorouracil cytotoxicity in *Saccharomyces cerevisiae*. **Yeast**, v. 24, p. 861–870, 2007.

JUSTINO, P. F., MELO, L. F., NOGUEIRA, A. F., COSTA, J. V., SILVA, L. M., SANTOS, C. M., RIBEIRO, R. A. Treatment with *Saccharomyces boulardii* reduces the inflammation and dysfunction of the gastrointestinal tract in 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. **Br J Nutr**, v. 111, n. 9, p. 1611-1621, 2014.

JUSTINO, P.F.C., MELO, L. F., NOGUEIRA, A. F., MORAIS, C. M., MENDES, W. O., FRANCO, A., SOARES, P. M. G. Regulatory role of *Lactobacillus acidophilus* on inflammation and gastric dysmotility in intestinal mucositis induced by 5-fluorouracil in mice. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 75, n. 3, p. 559-567, 2015.

KARBELKAR, S. A., MAJUMDAR, A.S., Altered systemic bioavailability and organ distribution of azathioprine in methotrexate-induced intestinal mucositis in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 48, n. 3, p. 241, 2016.

KANAREK, N., GRIVENNIKOV, S. I., LESHETS, M., LASRY, A., ALKALAY, I., HORWITZ, E., PAGANO, M. Critical role for IL-1 β in DNA damage-induced mucositis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 111, n. 6, p. E702-E711, 2014.

KEEFE, D. M.; SONIS, S. T.; BOWEN, J. M. Emerging drugs for chemotherapy-induced mucositis. **Expert opinion on emerging drugs**, v. 13, n. 3, p. 511-522, 2008.

KESKEK, M., GOCMEN, E., KILIC, M., GENCTURK, S., CAN, B., CENGIZ, M., KILIC, M., SERRA, G., CAN, B., CENGIZ, M., OKTEN, R.M., KOC, M. Increased expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in radiation-induced small bowel injury in rats. **Journal of Surgical Research**, v. 135, n. 1, p. 76-84, 2006.

KIM, W. I., KIM, J. M., KIM, G. W., MUN, J. H., SONG, M., KIM, H. S, KIM, B.S., KO, H. C. Subacute cutaneous lupus erythematosus induced by capecitabine: 5-FU was innocent. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV**, 2015.

KOBUCHI, S., ITO, Y., TOSHIYUKI, S. Population Pharmacokinetic–Pharmacodynamic Modeling of 5 Fluorouracil for Toxicities in Rats. **Eur J Drug Metab Pharmacokinet**, 2016.

KUMAR, S., ANINAT, C., MICHAUX, G., MOREL, F. Anticancer drug 5-fluorouracil induces reproductive and developmental defects in *Caenorhabditis elegans*. **Reproductive Toxicology**, v. 29, p. 415–420, 2010.

INCA. **Incidência de Câncer no Brasil**. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, Rio de Janeiro: INCA, 122 p, 2016.

INOCÊNCIO LEITE, L. H., LEITE, G. D. O., SILVA COUTINHO, T., DE SOUSA, S. D. G., SAMPAIO, R. S., DA COSTA, J. G. M., MENEZES, I. R. A., CAMPOS, A.R. Topical Antinociceptive Effect of *Vanillosmopsis arborea* Baker on Acute Corneal Pain in Mice. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

JONES, C. D., GUIOT, L., MIKE, S., GORMAN, M., TEHRANI, H. The use of chemotherapeutics for the treatment of keloid scars. **Dermatology reports**, v. 7, n. 2, 2015.

LACY, P. Mechanisms of degranulation in neutrophils. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, v. 2, n. 3, p. 1, 2006.

LALLA, R. V., BOWEN, J., BARASCH, A., ELTING, L., EPSTEIN, J., KEEFE, D. M., DOROTHY M. KEEFE, D.M., MCGUIRE, D.B., MIGLIORATI, C., OURANIA, N.G., SHARON, E. RABER-DURLACHER, J. E. MASCC/ISOO clinical practice

guidelines for the management of mucositis secondary to cancer therapy. **Cancer**, v. 120, n. 10, p. 1453-1461, 2014.

LANSIAUX, A. Les antimétabolites. **Bulletin du cancer**, v. 98, n. 11, p. 1263-1274, 2011.

LAVOINE-HANNEGUELLE, S., PÉRICHET, C., SCHNAEBELE, N., HUMBERT, M. DEVELOPMENT OF NEW NATURAL EXTRACTS. **Chemistry & biodiversity**, v. 11, n. 11, p. 1798-1820, 2014.

LEITÃO, R.F.C., BRITO, G. A., ORIÁ, R. B., BRAGA-NETO, M. B., BELLAGUARDA, E. A., SILVA, J. V., VALE, M. L. Role of inducible nitric oxide synthase pathway on methotrexate-induced intestinal mucositis in rodents. **BMC gastroenterology**, v. 11, n. 1, p. 1, 2011.

LEOCÁDIO, Paola CL et al. L-arginine pretreatment reduces intestinal mucositis as induced by 5-fu in mice. **Nutrition and cancer**, v. 67, n. 3, p. 486-493, 2015.

LIMA, V. **Evidências da participação de TNF- α e COX-2 nas mucosites oral e intestinal induzidos por 5-fluorouracil e metotrexato em animais**. 2004. (Tese de Doutorado em Farmacologia). Universidade Federal do Ceará.

LIMA-JÚNIOR, R.C. P., FIGUEIREDO, A. A., FREITAS, H. C., MELO, M. L. P., WONG, D. V. T., LEITE, C. A. V., ORIÁ, R. B et al. Involvement of nitric oxide on the pathogenesis of irinotecan-induced intestinal mucositis: role of cytokines on inducible nitric oxide synthase activation. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 69, n. 4, p. 931-942, 2012.

LIMA-JÚNIOR, R. C. P., Freitas, H. C., Wong, D. V. T., Wanderley, C. W. S., Nunes, L. G., Leite, L. L., Teixeira, M. M., BRITO, G.A.C., RIBEIRO, R.A. Targeted inhibition of IL-18 attenuates irinotecan-induced intestinal mucositis in mice. **British journal of pharmacology**, v. 171, n. 9, p. 2335-2350, 2014.

LIU, Z., XI, J., SCHRÖDER, S., WANG, W., XIE, T., WANG, Z., BAO, S., FEI, J. *Chimonanthus nitens* var. *salicifolius* aqueous extract protects against 5-fluorouracil induced gastrointestinal mucositis in a mouse model. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

LOGAN, RICHARD M., STRINGER, A. M., BOWEN, J. M., YEOH, A. S. J., GIBSON, R. J., SONIS, S. T., KEEFE, D. M. The role of pro-inflammatory cytokines in cancer treatment-induced alimentary tract mucositis: pathobiology, animal models and cytotoxic drugs. **Cancer treatment reviews**, v. 33, n. 5, p. 448-460, 2007.

LONGLEY, D. B.; HARKIN, D. PAUL; JOHNSTON, P.G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. **Nature Reviews Cancer**, v. 3, n. 5, p. 330-338, 2003.

MAIOLI, T.U., DE MELO SILVA, B., DIAS, M. N., PAIVA, N. C., CARDOSO, V. N., FERNANDES, S. O., DE VASCONCELOS GENEROSO, S. Pretreatment

with *Saccharomyces boulardii* does not prevent the experimental mucositis in Swiss mice. **Journal of negative results in biomedicine**, v. 13, n. 1, p. 1, 2014.

MARCO, C.A., DOS SANTOS, H. R., DE SOUSA FEITOSA, A. G., FEITOSA, J. V., DA COSTA, J. G. M. Teor, rendimento e qualidade do óleo essencial de *Vanillosmopsis arborea* (Gardner) Baker (candeeiro) e sua ação alelopática. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 20, n. 1, p. 131-141, 2015.

MAURYA, A.K., SINGH, M., DUBEY, V., SRIVASTAVA, S., LUQMAN, S., BAWANKULE, D. α -(-)-bisabolol reduces pro-inflammatory cytokine production and ameliorates skin inflammation. **Current pharmaceutical biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 173-181, 2014.

MATSUMOTO, K., NAKAJIMA, T., SAKAI, H., KATO, S., SAGARA, A., ARAKAWA, K., HORIE, S., TASHIMA, K., NARITA, M. Increased Expression of 5-HT₃ and NK1 Receptors in 5-Fluorouracil-Induced Mucositis in Mouse Jejunum. **Digestive diseases and sciences**, v. 58, n. 12, p. 3440-3451, 2013.

MAZZUCA, F., BORRO, M., BOTTICELLI, A., MAZZOTTI, E., MARCHETTI, L., GENTILE, G., LA TORRE, M., LIONETTO, L., SIMMACO, M., MARCHETTI, P. Pre-treatment evaluation of 5-fluorouracil degradation rate: association of poor and ultra-rapid metabolism with severe toxicity in a colorectal cancer patients cohort. **Oncotarget**, 2016.

MICHIELAN, Andrea; D'INCÀ, Renata. Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Clinical Evaluation, and Therapy of Leaky Gut. **Mediators of inflammation**, v. 2015, 2015.

MILLER, MS., GALLIGAN, J.J., BURKS, T. F. Accurate measurement of intestinal transit in the rat. **J. Pharmacol. Methods**. v. 6, n. 3, p. 211-217, 1981.

MIURA, K., KINOUCHI, M., ISHIDA, K., FUJIBUCHI, W., NAITOH, T., OGAWA, H., SHIBATA, C. . 5-fu metabolism in cancer and orally-administrable 5-fu drugs. **Cancers**, v. 2, n. 3, p. 1717-1730, 2010.

MOGHADAM, A. R., MOHAJERI, D., NAMVARAN-ABBAS-ABAD, A., MANAFI, H., SHAHI, D., MAZANI, M. Protective effect of turmeric extract on ethotrexate-induced intestinal damage and oxidative stress. **Chinese journal of natural medicines**, v. 11, n. 5, p. 477-483, 2013.

MONDIN, T. C., DE AZEVEDO CARDOSO, T., MOREIRA, F. P., WIENER, C., OSES, J. P., DE MATTOS SOUZA, L. D., JANSEN, K., MAGALHÃES, P.V.S., KAPCZINSKI, F., DA SILVA, R. A. Circadian preferences, oxidative stress and inflammatory cytokines in bipolar disorder: A community study. **Journal of Neuroimmunology**, v.9, n.1. 2016.

MOREELS, T.G., DE MAN, J.G, BOGER, J.J, DE WINTER, B.Y, VROLIX, G., HERMAN, A.G., VAN MARCK, E.A., PELCKMANS, P.A. **Effect of Schistosoma**

mansoni-induced granulomatous inflammation on murine gastrointestinal motility. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 280: G1030 – G1042; 2001.

MOURA, José Fernando Bastos. **Envolvimento de citocinas (TNF-A, IL-1B E IL-10) e óxido nítrico na patogênese da mucosite oral experimental induzida por radioterapia de megavoltagem: efeito protetor da pentoxifilina, inibidor da óxido nítrico sintase induzida e de fitoterápicos.** 2012. Tese de Doutorado.

MOURA ROCHA, N. F., VENÂNCIO, E. T., MOURA, B. A., GOMES SILVA, M. I., AQUINO NETO, M. R., VASCONCELOS RIOS, E. R., SOUSA, D.P., VASCONCELOS, S.M.M., FONTELES, M.M.F., DE SOUSA, F. C. F. Gastroprotection of (-) - α -bisabolol on acute gastric mucosal lesions in mice: the possible involved pharmacological mechanisms. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 24, n. 1, p. 63-71, 2010.

NASCIMENTO, T.G., PANOBIANCO, S., GOZZO, M.O., DE ALMEIDA, A.M. Neutropenia: ocorrência e manejo em mulheres com câncer de mama em quimioterapia. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, Ribeirão Preto , v. 22, n. 2, p. 301-308, Abr. 2014

NEVES, J.S., NASCIMENTO, J. E. D. A., SILVA, M. H. G. G. D., BICUDO, A. S., NASCIMENTO, M., NOCHI JUNIOR, R. Influência da glutamina na mucosa do intestino de ratos submetidos à enterectomia extensa. **Rev. Col. Bras. Cir**, v. 30, n. 6, p. 406-415, 2003.

NURULAIN, S., PRYTKOVA, T., SULTAN, A. M., IEVGLEVSKYI, O., LORKE, D., YANG, K. H., PETROIANU. G., O.Z, M. Inhibitory actions of bisabolol on α 7-nicotinic acetylcholine receptors. **Neuroscience**, v. 306, p. 91-99, 2015.

NICOLUSSI, A.C.; SAWADA, N.O; CARDOZO, F.M.C; ANDRADE, V., PAULA, J.M. Health-related quality of life of cancer patients undergoing chemotherapy. **Northeast Network Nursing Journal**, v. 15, n. 1, 2014.

NOORDHUIS, P., HOLWERDA, U., VAN DER WILT, C. L., VAN GROENINGEN, C. J., SMID, K., MEIJER, S., PETERS, G. J. 5-Fluorouracil incorporation into RNA and DNA in relation to thymidylate synthase inhibition of human colorectal cancers. **Annals of oncology**, v. 15, n. 7, p. 1025-1032, 2004.

OLIVEIRA, O.W; PETROVICK, P.R. Secagem por aspersão (spray drying) de extratos vegetais: bases e aplicações. **Rev. bras. Farmacogn.** Curitiba, v. 20, n. 4, set. 2010.

PALM, R. Oncologia IN: CALVANTI, A., GALVAO, C. – Terapia Ocupacional - fundamentação e pratica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

PEIXOTO, A.L., MORIM, M.P. Coleções botânicas: documentação da biodiversidade brasileira. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v.55, n.3, p.21-24, 2012

PEREIRA, V. B.M., MELO, A. T., ASSIS-JÚNIOR, E. M., WONG, D. V., BRITO, G. A., ALMEIDA, P. R., RIBEIRO, R.A., LIMA-JÚNIOR, R. C. A new animal model of intestinal mucositis induced by the combination of irinotecan and 5-fluorouracil in mice. **Cancer chemotherapy and pharmacology**, v. 77, n. 2, p. 323-332, 2016.

PERUSSOLO, L. B. GRÉGIO, A. M. T.; AZEVEDO-ALANIS, L. R.; MACHADO, M. A. N.; JOHANN, A. C. B. R.; LIMA, A. A. S. Arnica Montana does not affect mast cell populations in experimentally induced oral ulcers in rats. **Medical Express (São Paulo, online)**, São Paulo, v. 2, n. 3, M150306, jun. 2015.

PETERSON, L.W.; ARTIS, D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. **Nat Rev Immunol**, v. 14, n. 3, p. 141-53, 2014.

RIBEIRO, I.L.A; VALENÇA, A. M. G; BONAN, P.R. F. Treatment of severe oral mucositis in a pediatric patient undergoing chemotherapy. **RGO-Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 63, n. 4, p. 467-471, 2015.

ROCHA, N.F.M., RIOS, E. R. V., CARVALHO, A. M. R., CERQUEIRA, G. S., DE ARAÚJO LOPES, A., LEAL, L. K. A. M., DIAS, M.L., SOUSA, D.P., DE SOUSA, F. C. F. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of (-) - α -bisabolol in rodents. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 384, n. 6, p. 525-533, 2011.

SALIM, S. Y.; SÖDERHOLM, J. D. Importance of disrupted intestinal barrier in inflammatory bowel diseases. **Inflammatory bowel diseases**, v. 17, n. 1, p. 362-381, 2011.

SANTOS FILHO, E.X. dos. **Efeitos da formulação mucoadesiva com extrato de Curcuma longa L. em animais portadores de mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracil.** (Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Goiás. 2014.

SAWADA, N. O., NICOLUSSI, A. C., OKINO, L., CARDOZO, F. M. C., ZAGO, M. M. F. Avaliação da qualidade de vida de pacientes com câncer submetidos à quimioterapia. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 43, n. 3, p. 581-587, 2009.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SEKI, T., KOKURYO, T., YOKOYAMA, Y., SUZUKI, H., ITATSU, K., NAKAGAWA, A., MIZUTANI, T., MIYAKE, T., UNO, M., KOHEI YAMAUCHI, K., Nagino, M. Antitumor effects of α -bisabolol against pancreatic cancer. **Cancer science**, v. 102, n. 12, p. 2199-2205, 2011.

SIQUEIRA, R.J.B de. **Efeitos farmacológicos do álcool sesquiterpênico (-)- α -bisabolol em preparações isoladas de músculo liso vasculares e não-vasculares.** (Tese de Doutorado). Universidade Federal do Ceará, 2011.

SOARES, L. C., BURILLE, A., ANTONACCI, M. H., DA GLÓRIA SANTANA, M., SCHWARTZ, E. A Quimioterapia e seus efeitos adversos: relato de clientes oncológicos. **Cogitare Enfermagem**, v. 14, n. 4, 2009.

SOARES, P. M. G., MOTA, J. M. S., BRITO, G. A. C., CUNHA, F. Q., RIBEIRO, R. A., & SOUZA, M. H. S1297 Role of IL-4 and IL-1 β On the Pathogenesis of 5-Fluorouracil (5-FU) Induced Intestinal Inflammation in Mice. **Gastroenterology**, v. 134, n. 4, p. A-220-A-221, 2008.

SONIS, S.T. The pathobiology of mucositis. *Nat Rev Cancer* 4: 277 – 284; 2004.

SONIS, S. T. Mucositis: the impact, biology and therapeutic opportunities of oral mucositis. **Oral oncology**, v. 45, n. 12, p. 1015-1020, 2009.

SONIS, S. T. Pathobiology of oral mucositis: novel insights and opportunities. **J Support Oncol**, v. 5, n. 9 Suppl 4, p. 3-11, 2007.

SONIS, S.T. The quest for effective treatments of mucositis. **The journal of supportive oncology**, v. 9, n. 5, p. 170-171, 2011.

SOVERI, L. M., HERMUNEN, K., DE GRAMONT, A., POUSSA, T., QUINAUX, E., BONO, P., ANDRE, T., ÖSTERLUND, P. Association of adverse events and survival in colorectal cancer patients treated with adjuvant 5-fluorouracil and leucovorin: Is efficacy an impact of toxicity?. **European Journal of Cancer**, v. 50, n. 17, p. 2966-2974, 2014.

SUKHOTNIK, I., POLLAK, Y., CORAN, A. G., PILATOV, J., BEJAR, J., MOGILNER, J. G., BERKOWITZ, D. Glutamine attenuates the inhibitory effect of methotrexate on TLR signaling during intestinal chemotherapy-induced mucositis in a rat. **Nutrition & metabolism**, v. 11, n. 1, p. 1, 2014.

SUSPIRO, A.; PRISTA, J. Exposição ocupacional a citostáticos e efeitos sobre a saúde. **Rev. Port. Sau. Pub.**, Lisboa, v. 30, n. 1, p. 76-88, 2012 .

TANG, Y., WU, Y., HUANG, Z., DONG, W., DENG, Y., WANG, F., YUAN, J. Administration of probiotic mixture DM# 1 ameliorated 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis and dysbiosis in rats. **Nutrition**, 2016.

TUNG, D., CHEUNG, P. H., TUDOR, G., BOOTH, C., SAHA, S In vivo effects of immunomodulators in a murine model of fluorouracil-induced mucositis. **Current Therapeutic Research**, v. 72, n. 6, p. 262-272, 2011.

UNO, M., KOKURYO, T., YOKOYAMA, Y., SENGA, T., NAGINO, M. α -Bisabolol Inhibits Invasiveness and Motility in Pancreatic Cancer Through KISS1R Activation. **Anticancer research**, v. 36, n. 2, p. 583-589, 2016.

VALADARES, C. P., SILVA, R. A. P., TAVARES JR, W. C., DUARTE, M.A. Apresentação da técnica de estudo do tempo de esvaziamento gástrico por meio da ultra-sonografia. **Radiol Bras**, v. 39, n. 1, p. 15-18, 2006.

- VAN TASSELL, B. W., TOLDO, S., MEZZAROMA, E., ABBATE, A. Targeting interleukin-1 in heart disease. **Circulation**, v. 128, n. 17, p. 1910-1923, 2013.
- VANLANCKER, E., VANHOECKE, B., SMET, R., PROPS, R., VAN DE WIELE, T. 5-Fluorouracil sensitivity varies among oral microorganisms. **Journal of medical microbiology**, 2016.
- VAN VLIET, M.J., HARMSSEN, H. J., DE BONT, E. S., TISSING, W. J. The role of intestinal microbiota in the development and severity of chemotherapy-induced mucositis. **PLoS Pathog**, v. 6, n. 5, p.79, 2010.
- VITALE, R.F; RIBEIRO, F. A.Q. O papel do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no processo de erosão óssea presente no colesteatoma adquirido da orelha média. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 73, n. 1, p. 123-127, 2007.
- ZHANG, J. T., ZHOU, W. L., HE, C., LIU, T., LI, C. Y., WANG, L. 5-Fluorouracil induces apoptosis of colorectal cancer cells. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 15, n. 1, 2016.
- ZUO, T., LI, X., CHANG, Y., DUAN, G., YU, L., ZHENG, R., XUE, C., TANG, Q. Dietary fucoidan of *Acaudina molpadioides* and its enzymatically degraded fragments could prevent intestinal mucositis induced by chemotherapy in mice. **Food & function**, v. 6, n. 2, p. 415-422, 2015.
- YANG, H., BIERMANN, M. H., BRAUNER, J. M., LIU, Y., ZHAO, Y., HERRMANN, M. New Insights into Neutrophil Extracellular Traps: Mechanisms of Formation and Role in Inflammation. **Frontiers in Immunology**, v. 7, 2016.
- YASUDA, M., KATO, S., YAMANAKA, N., IIMORI, M., MATSUMOTO, K., UTSUMI, D., TAKEUCHI, K., KYTAHARA, Y., AMAGASE, K., HORIE, S., TAKEUSHI, K. 5-HT₃ receptor antagonists ameliorate 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis by suppression of apoptosis in murine intestinal crypt cells. **British journal of pharmacology**, v. 168, n. 6, p. 1388-1400, 2013.
- YEOH, A., GIBSON, R., YEOH, E., BOWEN, J., STRINGER, A., GIAM, K., KEEFE, D. Radiation therapy-induced mucositis: relationships between fractionated radiation, NF- κ B, COX-1, and COX-2. **Cancer treatment reviews**, v. 32, n. 8, p. 645-651, 2006.
- YOSHIDA, K., YOSHIOKA, M., OKAMURA, H., MORIYAMA, S., KAWAZOE, K., GRENIER, D., HINODE, D. Preventive effect of Daiokanzoto (TJ-84) on 5-fluorouracil-induced human gingival cell death through the inhibition of reactive oxygen species production. **PloS one**, v. 9, n. 11, p. e112689, 2014.
- YOSHINO, F., YOSHIDA, A., TOYAMA, T., WADA-TAKAHASHI, S., TAKAHASHI, S L. α -Glucosyl hesperidin suppressed the exacerbation of 5-fluorouracil-induced oral mucositis in the hamster cheek pouch. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 223-231, 2016.

WANG, J. ZHENG, J., KULKARNI, A., WANG, W., GARG, S., PRATHER, P. L., HAUER-JENSEN, M. Palmitoylethanolamide regulates development of intestinal radiation injury in a mast cell-dependent manner. **Digestive diseases and sciences**, v. 59, n. 11, p. 2693-2703, 2014.

WENANDE, E., OLESEN, U. H., NIELSEN, M. M., JANFELT, C., HANSEN, S. H., ANDERSON, R. R., & HAEDERSDAL, M. Fractional laser-assisted topical delivery leads to enhanced, accelerated and deeper cutaneous 5-fluorouracil uptake. **Expert Opinion on Drug Delivery**, p. 1-11, 2016.

WONG, D.V.T., LIMA-JÚNIOR, R. C., CARVALHO, C. B., BORGES, V. F., WANDERLEY, C. W., BEM, A. X.C., LEITE, C.A.V.G., TEIXEIRA, M.A., BATISTA, G.L.P., SILVA, R.L., CUNHA, T.M., BRITO, G.A.C., ALMEIDA, P.R.C., CUNHA, F.Q., RIBEIRO, R.A. The adaptor protein Myd88 is a key signaling molecule in the pathogenesis of irinotecan-induced intestinal mucositis. **PloS one**, v. 10, n. 10, p. e0139985, 2015.

WU, Z., HAN, X., QIN, S., ZHENG, Q., WANG, Z., , XIANG, D., ZHANG, J., LU, H., WU, M., ZHU, S., YU, Y., YU, W., HAN, W. Interleukin 1 receptor antagonist reduces lethality and intestinal toxicity of 5-fluorouracil in a mouse mucositis model. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 64, n. 9, p. 589-593, 2010.

ANEXOS



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**

Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bairro Ininga, Teresina, Piauí, Brasil CEP: 64049-500
Telefone (88) 3215-6734 _e-mail: ceespia@ufpi.edu.br



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Prospecção farmacológica de compostos de origem natural e sintética sobre a mucosite intestinal induzida por antineoplásicos" protocolo nº 080/15, sob a responsabilidade de JAND VENES ROLIM MEDEIROS, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de Pesquisa Científica encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data 27/11/2015.

Vigência do Projeto	Dezembro/ 2015 à Dezembro/ 2019
Espécie/Linhagem	Camundongo isogênico/Swiss
Nº de Animais	350
Peso/ Idade	20-35g/ 1 mês
Sexo	M + F
Origem	Biotério Central do CCA/UFPI, campus Ministro Petrônio Portela.

Teresina, 27 de Novembro de 2015.


 Prof. Ivete L. de Mendonça
 Comitê de Ética em Experimentação Animal-UFPI
 Coordenadora

IMMUNO 2016
CAMPOS DO JORDÃO

XLI Congress of the
Brazilian Society of Immunology

IX ESCI - Extra Section of Clinical Immunology



October 29 - November 2
Campos do Jordão Convention Center • São Paulo

Organization

SBI 
Sociedade Brasileira de Imunologia

Certificate

We hereby certify that the scientific paper entitled

A-BISABOLOL IMPROVES 5-FU-INDUCED MASTOCYTOSIS AND INTESTINAL INJURY

with the authors

JOSÉ LOPES PEREIRA JÚNIOR, ELENICE MONTE ALVARENGA, DAINESY DOS SANTOS MARTINS, FRANCISCA BEATRIZ DE MELO SOUSA, JAND VENES ROLIM MEDEIROS, DEIZIANE VIANA DA COSTA, LUAN KELVES MIRANDA DE SOUSA, GILBERTO SANTOS CERQUEIRA

was presented as **POSTER** in the **XLI Congress of the Brazilian Society of Immunology 2016 | IX ESCI - Extra Section of Clinical Immunology**

Campos do Jordão, November 2nd, 2016.


Gustavo P. Amarante-Mendes
SBI President



IV Simpósio Norte, Nordeste e
Centro-Oeste de Anatomia
Aplicada



II Jornada Cearense de
Ciências Morfológicas
Fortaleza - CE

Certificado

Certificamos que, o trabalho intitulado “**ALTERAÇÕES MORFOFUNCIONAIS E BIOQUÍMICAS DA MUCOSITE INTESTINAL**” de autoria de *PEREIRA JÚNIOR, JOSÉ LOPES; VIEIRA, PRISCILA DE SOUSA; ALVARENGA, ELENICE MONTE; FREITAS, RIVELILSON MENDES; MEDEIROS, JAND VENES ROLIM; CERQUEIRA, GILBERTO SANTOS* foi premiado com 3º lugar na categoria Tema Livre no IV Simpósio Norte, Nordeste e Centro-Oeste de Anatomia Aplicada e II Jornada Cearense de Ciências Morfológicas, organizados pelas Sociedade Brasileira de Anatomia e Universidade Federal do Ceará, realizado nos dias 13, 14 e 15 de Maio de 2015.

Fortaleza, 15 de Maio de 2015.

Delane Viana Gondim

Presidente do IV Simpósio Norte, Nordeste
e Centro-Oeste de Anatomia Aplicada

Paula Goes

Presidente da comissão científica do IV Simpósio Norte,
Nordeste e Centro-Oeste de Anatomia Aplicada