

**LIGA DE ENSINO DO RIO GRANDE DO NORTE
FACULDADE NATALENSE PARA O DESENVOLVIMENTO
DO RIO GRANDE DO NORTE
CURSO DE NUTRIÇÃO**

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DE TECIDO EPITELIAL DE CAMUNDONGOS
SUBMETIDOS À MUCOSITE INTESITINAL E SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE
PEIXE**

MARIANA MENEZES

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DE TECIDO EPITELIAL DE CAMUNDONGOS
SUBMETIDOS À MUCOSITE INTESITINAL E SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE
PEIXE**

MARIANA MENEZES

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DE TECIDO EPITELIAL DE CAMUNDONGOS
SUBMETIDOS À MUCOSITE INTESTINAL E SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE
PEIXE**

Monografia apresentada ao curso de Graduação de
Nutrição da Faculdade Natalense para o
Desenvolvimento do Rio Grande do Norte como
parte dos requisitos necessários à obtenção do título
de bacharel em Nutrição.

**Orientadora: Prof^a Erika Alessandra Melo Costa
(Esp).**

612.39
MS12a
2010
ex-01



Catálogo na Publicação – Biblioteca da FARN
Setor de Processos Técnicos

Menezes, Mariana

Análise histomorfométrica de tecido epitelial de camundongos submetidos à mucosite intestinal e suplementação de óleo de peixe / Mariana Menezes. – Natal: FARN, 2010.

37f.

Orientador: Erika Alessandra Melo Costa (Esp.)

Monografia (Bacharel em Nutrição) – Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte.

1. Histomorfométrica – Monografia. 2. Tecido Epitelial – Monografia. 3. Inflamação Intestinal – Monografia. 4. Óleo de Peixe. I. Título.

RN/FARN/BC

CDU 612.29

MARIANA MENEZES

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DE TECIDO EPITELIAL DE CAMUNDONGOS
SUBMETIDOS À MUCOSITE INTESTINAL E SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE
PEIXE**

Monografia apresentada ao Curso de Graduação de Nutrição da Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte, para obtenção do grau de Nutricionista. Aprovada em 15 de Novembro de 2010, pela banca examinadora constituída pelos seguintes membros:

Prof. Esp. Erika Alessandra Melo Costa
Orientadora

Prof. André Luiz Silva Davim
Membro Examinador

Prof. Cláudia Martins de Oliveira
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Tantos foram aqueles que me ajudaram de uma forma ou de outra na elaboração e realização deste trabalho. A todos estes um "muito obrigado". Mas há aqueles que precisam ser mencionados:

Em primeiro lugar a Deus, por mais uma conquista.

Aos meus pais, Carlos Marx e Dione Gurgel, que tanto amo e admiro que simplesmente tornaram isto possível, que sempre estiveram presente em todos os momentos da minha caminhada. Por acreditarem e confiarem no meu potencial. Por nunca medirem esforços para me ajudar a atingir meus objetivos e principalmente pela educação, amor e carinho.

As minhas queridas irmãs Maiara Menezes e Marina Menezes, e a toda minha família que de alguma forma torceram pelo meu sucesso.

Ao meu noivo, amor, amigo e companheiro André Mafra pelo suporte e apoio imprescindível em todas as horas, pela compreensão, colaboração e principalmente por acreditar no meu sucesso.

As minhas amigas, que ao longo desses quatro anos compartilhamos de momentos de alegrias, angustias, dúvidas, tristezas e risadas, no qual deixarão muitas saudades de todas as vivências. Amizades estas que levarei para o resto da minha vida. Agradeço pelo apoio, companhia e amizade.

Aos meus professores por todos os conhecimentos compartilhados, por ter transmitido muito mais do que teorias, pela lição de visão científica e eterna preocupação com a formação de futuros profissionais. Em especial as professoras Carina Leite e Vanessa Teixeira por terem me dado a oportunidade de ser estagiária de Nutrição Clínica, e poder ter tido através dos pacientes a motivação pela busca de novos conhecimentos. Obrigado pela oportunidade de crescimento acadêmico.

Ao Professor André Davim pela credibilidade e disponibilidade em poder viabilizar a realização deste trabalho no setor do Biotério da FARN.

A Professora Sandra Maria Nunes Monteiro pelos ensinamentos ajuda e pela disponibilidade na análise histomorfométrica.

Ao Bioterista Leandro Moura, pela inestimável ajuda, que de alguma forma ajudou no bom andamento deste trabalho.

A Professora Ana Maria, pela ajuda imprescindível na análise e compreensão estatística dos resultados constantes neste trabalho.

A minha grande orientadora e amiga professora Erika Melo, pela confiança, carinho, dedicação e todo o conhecimento compartilhado. Pelo incansável estímulo, e por me ter dado a oportunidade de conhecer novos mundos e vencer desafios. Obrigado pela oportunidade de aprendizado e crescimento, e por ter despertado em mim a admiração e respeito pela Nutrição experimental.

Aos Camundongos, que se abdicou de suas vidas em prol da ciência.

Enfim, a todos aqueles que de certa forma contribuíram para mais uma conquista e pelo incentivo na minha formação profissional. O meu muito Obrigado.

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo principal analisar a importância da leitura e da escrita para o desenvolvimento da cidadania e da participação social. A pesquisa foi realizada em uma escola pública de uma cidade do interior do Brasil, com a participação de 30 alunos do ensino fundamental. O estudo foi dividido em duas partes: a primeira, sobre a importância da leitura e da escrita, e a segunda, sobre a importância da participação social. Os resultados da pesquisa indicam que a leitura e a escrita são fundamentais para o desenvolvimento da cidadania e da participação social. Os alunos que leram e escreveram regularmente apresentaram melhor desempenho nas atividades de participação social. Além disso, a leitura e a escrita ajudaram os alunos a entender melhor o mundo ao seu redor e a tomar decisões mais conscientes. O estudo também mostrou que a participação social é importante para o desenvolvimento da comunidade e para a melhoria da qualidade de vida. Os alunos que participaram ativamente das atividades de participação social apresentaram maior engajamento e comprometimento com a comunidade. O estudo conclui que a leitura e a escrita são ferramentas essenciais para o desenvolvimento da cidadania e da participação social, e que a participação social é importante para o desenvolvimento da comunidade e para a melhoria da qualidade de vida.

Palavras-chave: Leitura, Escrita, Cidadania, Participação Social, Desenvolvimento Comunitário.

"O que importa na vida não é o
ponto de partida, mas a caminhada.
Caminhando e semeando, no fim
terás o que colher."
(Cora Coralina).

RESUMO

O processo inflamatório ocorre como resposta do tecido à injúria e caracteriza-se por um fenômeno complexo, dinâmico e multimediado, podendo manifestar-se a partir de qualquer agente lesivo como: bioquímico, fisiológico ou imunológico. A mucosite é um processo inflamatório decorrente do uso de drogas antineoplásica, podendo afetar áreas distintas do trato gastrointestinal, resultando em um quadro clínico grave. O uso de Drogas para tratamento anticâncer, como o Metotrexato (MTX), por exemplo, pode prejudicar severamente a função intestinal. Cerca de 500.000 pacientes em todo o mundo sofrem de mucosite anualmente, sendo considerado um dos mais freqüentes e graves efeitos da quimioterapia para tratamento do câncer. Neste contexto, o conhecimento sobre as propriedades funcionais de alimentos e nutrientes que promovem efeitos benéficos à saúde, principalmente no que se refere à redução dos níveis de biomarcadores inflamatórios, é um campo de pesquisa futurista e relevante. Estudos de intervenção clínica e experiências com animais indicam que os ácidos graxos ômega-3 apresentam importantes propriedades antiinflamatórias, e, portanto, podem ser útil no tratamento de doenças inflamatórias e auto-imunes. Dentre as principais fontes de ácidos graxos ômega-3 encontra-se o óleo de peixe. Os benefícios potenciais da suplementação com óleo de peixe têm sido reportados em diversos processos inflamatórios e imunológicos. O presente estudo teve como objetivo investigar o efeito protetor do óleo de peixe na mucosa intestinal de camundongos submetidos à mucosite intestinal. Os dados estatísticos em relação à avaliação da massa corporal dos camundongos não apresentou resultados significativos ($p > 0,05$). Porém pode-se observar efeito positivo na morfometria do seguimento do duodeno de camundongos suplementados com óleo de peixe. Os camundongos com uso do MTX apresentaram maiores danos estruturais, no qual o seu uso possivelmente induziu uma diminuição da altura média das vilosidades e aumento da profundidade das criptas, em relação ao grupo controle e ao grupo com suplementação de óleo de peixe.

Palavras-chave: Inflamação intestinal. Metotrexato. Óleo de peixe.

ABSTRACT

The inflammatory process occurs as the tissue response to injury and is characterized by a complex phenomenon, dynamic and multimedia, can manifest itself from any harmful agent such as biochemical, physiological or immunological. Mucositis is an inflammatory process resulting from the use of anticancer drugs, which can affect different areas of the gastrointestinal tract, resulting in a severe clinical picture. The use of drugs for cancer therapy, such as methotrexate (MTX) for example can severely impair bowel function. About 500,000 patients worldwide suffer from mucositis annually and is considered one of the most frequent and severe effects of chemotherapy for cancer treatment. In this context, knowledge on the functional properties of foods and nutrients that promote beneficial health effects, especially in relation to reducing levels of inflammatory biomarkers, is a futuristic field of research and relevant. Intervention studies and clinical experiments with animals suggest that omega-3 fatty acids have important anti-inflammatory properties, and therefore may be useful in treating inflammatory and autoimmune diseases. Among the main sources of omega-3 fatty acids is fish oil. The potential benefits of supplementation with fish oil have been reported in several inflammatory and immunological processes. This study aimed to investigate the protective effect of fish oil in the intestines of mice undergoing intestinal mucositis. The statistical data regarding the evaluation of body weight of murine did not show significant ($p > 0.05$). But you can observe positive effect on the morphology of the action of the duodenum camundogos supplemented with fish oil. The use of mice with MTX showed greater structural damage, in which its use possibly induced a decrease in villus height and crypt depth increased in the control group and the group supplemented with fish oil.

Keywords: Inflammation of the gut. Methotrexate. Fish Oil.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquematização da via de biossíntese dos ácidos graxos poliinsaturados.

Figura 2. Avaliação do peso corporal dos camundongos no grupo controle, mucosite e mucosite com suplementação de óleo de peixe.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Avaliação do ganho médio de peso corporal dos camundongos no grupo controle, mucosite e mucosite com suplementação de óleo de peixe.

Gráfico 2. Avaliação média da altura das vilosidades do duodeno nos grupos controle (A), mucosite (B) e mucosite com suplementação de óleo de peixe (C).

Gráfico 3. Avaliação média da profundidade das criptas do duodeno nos grupos controle (A), mucosite (B) e mucosite com suplementação de óleo de peixe (C).

Quadro 1. Avaliação estatística teste de análise de variância (ANOVA).

LISTA DE SIGLAS

AA	Ácido araquidônico
AG	Ácidos graxos
AL	Ácido linoléico
AGPI	Ácidos graxos poliinsaturados
AGPI-CML	Á. graxos poliinsaturados de cadeia muito longa
AGn-3	Ácidos graxos ômega 3
AGn-6	Ácidos graxos ômega 6
CEUA	Comissão de Ética no uso de animais
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DHA	Ácido docoexaenóico
DII	Doenças inflamatórias Intestinais
EL	Emulsões lipídicas
EPA	Ácido eicosapentaenóico
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MTX	Metotrexato
SC	Subcutânea
TGI	Trato Gastrointestinal
UFRN	Universidade Federal do Rio Grande do Norte
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa
HDL	Lipoproteínas de alta densidade
H/E	Hematoxilina-Eosina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1 OBJETIVO GERAL	14
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1 INFLAMAÇÃO INTESTINAL	15
3.2 METOTREXATO	17
3.3 ÓLEO DE PEIXE	18
4. MATERIAL E MÉTODO	24
4.1 APROVAÇÃO ÉTICA E DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO	24
4.2 DIETA E SUPLEMENTAÇÃO	24
4.2.1 DIETA	24
4.2.2 SUPLEMENTO	24
4.3 DESENHO DOS GRUPOS DE ESTUDO	25
4.4 PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE MUCOSITE E COLETA DE AMOSTRAS	26
4.5 EVOLUÇÃO DA MASSA CORPORAL	26
4.6 EUTANÁSIA E COLETA DE AMOSTRAS	26
4.7 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA	27
4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	28
5.1 ANÁLISE DA EVOLUÇÃO DA MASSA CORPORAL	28
5.2 ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA	31
6. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35

1. INTRODUÇÃO

A inflamação pode ser definida como o conjunto de alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas em resposta a estímulos agressivos ao organismo (GERALDO; ALFENAS, 2008). A mucosite consiste na resposta inflamatória das mucosas oral e gastrointestinal, e esta pode ser causada pela ação de drogas antitumorais (MOTA, 2004).

Drogas para o tratamento anticâncer, como por exemplo, o Metotrexato (MTX), pode prejudicar severamente a função intestinal (MONTEIRO, 2006). Cerca de 500.000 pacientes em todo o mundo sofrem de mucosite anualmente, sendo considerado um dos mais frequentes e graves efeitos da quimioterapia para tratamento do câncer, para os quais existe profilaxia ainda não bem definida (KONING et al., 2007). A mucosite é um grave efeito colateral da quimioterapia, pois pode causar a redução ou interrupção do tratamento do câncer (BOUKHETTAL et al., 2009).

Algumas condutas em relação à mucosite sejam elas medicamentosas ou nutricionais vêm sendo sugeridas com o intuito de se eliminar focos de inflamação e/ou infecções preexistentes (PETERSON, 1990). Segundo Sierra et al (2004), estudos de intervenção clínica e experiências com animais indicam que os ácidos graxos ômega-3 apresentam importantes propriedades antiinflamatórias, e, portanto, podem ser úteis no tratamento de doenças inflamatórias e auto-imunes.

Neste contexto, os alimentos funcionais ganharam destaque devido os efeitos benéficos que promovem à saúde. O crescente mercado dos produtos naturais, aliado ao interesse dos consumidores na prevenção de doenças, tem incentivado as indústrias alimentícias na busca por produtos cada vez mais saudáveis e direcionado pesquisas neste sentido (GALVÃO et al., 2008).

Os alimentos funcionais, ou nutracêuticos, são definidos como alimentos que, além dos nutrientes básicos, possuem propriedades de prevenção ou diminuição dos sintomas de certas doenças (SUÁREZ-MAHECHA, 2002). Dentre estes alimentos, destaca-se o óleo de peixe (CAMPOS, 2002).

Rosa et al (2010), afirmam que estudos com óleos de linhaça, oliva e de peixe, apresentam efeitos benéficos para o organismo devido à presença de

ácidos graxos linoléico (ômega-6), e ácidos graxos linolênico (ômega-3). Estes ácidos graxos poliinsaturados não podem ser sintetizados pelo organismo humano, sendo considerados ácidos graxos essenciais e que devem ser obtidos através da dieta (MOREIRA; MANCINI-FILHO, 2004).

Os efeitos de proteção à saúde humana, produzidos pelo consumo do óleo de peixe, são atribuídos principalmente à presença de ácido graxo ômega-3. Entre os efeitos fisiológicos produzidos nos humanos pelo consumo do óleo de peixe, estão prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, hipertensão, inflamações em geral, asma, artrite, psoríase e vários tipos de câncer (SUÁREZ-MAHECHA et al., 2002).

Corroborando com esses conhecimentos percebe-se a importância de investigar se a suplementação de óleo de peixe pode conferir efeito protetor no tratamento de mucosite intestinal.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Investigar o efeito protetor do óleo de peixe na mucosa intestinal de camundongos submetidos à mucosite.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar alterações no estado ponderal dos grupos de animais;
- Verificar o efeito da suplementação do óleo de peixe na morfologia intestinal de camundongos com mucosite intestinal.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. INFLAMAÇÃO INTESTINAL

O processo inflamatório ocorre como resposta do tecido à injúria e caracteriza-se por um fenômeno complexo, dinâmico e multimediado, podendo manifestar-se a partir de qualquer agente lesivo, como físico (queimadura, trauma, radiação), biológico (microorganismo, reações imunológicas) ou químico (substância cáustica e drogas). Este processo envolve uma complexa cascata de eventos bioquímicos e celulares, que incluem extravasamento de fluidos, ativação enzimática, migração celular, liberação de mediadores inflamatórios, sensibilização e ativação de receptores, lise tecidual e de reparo (CARVALHO; LEMÔNICA, 1998).

A camada de muco intestinal desempenha um importante papel de defesa contra o estresse mecânico, patógenos, enzimas e toxinas (KONING, 2007). Durante a inflamação, mastócitos e leucócitos são recrutados para o local da lesão. As células inflamatórias produzem mediadores solúveis, como os metabólitos de ácido araquidônico, citocinas e quimiocinas, que agem através de um maior recrutamento de células inflamatórias para o local da lesão e produção de mais espécies reativas (REUTER et al., 2010).

Após a agressão, há um aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular, com recrutamento de leucócitos no foco da lesão e liberação de mediadores inflamatórios (GERALDO; ALFENAS, 2008).

Existem duas fases de inflamação: aguda e crônica. A inflamação aguda é uma fase inicial de inflamação (imunidade inata), a qual é mediada através da ativação do sistema imune. Esse tipo de inflamação persiste apenas por um curto tempo e é geralmente benéfico para o hospedeiro (REUTER et al., 2010). A transição para a fase crônica é caracterizada pelo desenvolvimento da resposta humoral específica e da resposta imune celular (GERALDO; ALFENAS, 2008).

Tanto na resposta de fase aguda quanto na crônica, mediadores inflamatórios agem de maneira local ou sistêmica, ativando outras células envolvidas com o processo inflamatório (células endoteliais, fibroblastos e células do sistema fagocítico mononuclear), ampliando, assim, a resposta inicial ao agente lesivo. Pode ser verificada a ocorrência de febre, hipotensão, leucocitose, caquexia, além de alterações no metabolismo de lipídios e lipoproteínas (aumento dos níveis de

triglicérides) e da secreção de VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) e supressão da oxidação de ácidos graxos (GERALDO; ALFENAS, 2008). É caracterizada também por vermelhidão, inchaço, calor e dor (CALDER, 2006).

Muitos dos efeitos colaterais decorrentes do uso de antineoplásicos iniciam-se a partir do momento em que populações celulares são comprometidas. Portanto, as células do tecido hematopoiético (medula óssea), germinativo, do folículo piloso e do aparelho gastrointestinal, devido à característica comum de apresentarem rápida divisão celular, são particularmente sensíveis à ação dessas drogas. Outros órgãos também podem ser afetados, em maior ou menor grau, de forma precoce ou tardia, aguda ou crônica. Algumas vezes em caráter acumulativo e irreversível. São drogas que, mesmo em dose terapêuticas, podem ocasionar grande toxicidade (MOTA, 2004).

Mucosite é um efeito colateral decorrente do uso de drogas antineoplásicas, podendo afetar áreas distintas do TGI resultando em estomatite e/ou diarreia que pode resultar em um quadro clínico grave. Ela consiste na resposta inflamatória das mucosas oral e gastrointestinal à ação de drogas antitumorais, sendo um fator limitante à utilização destes fármacos a interrupção do tratamento quimioterápico com o objetivo de recuperar a mucosa (SONIS, 1998).

Peterson (1990) afirma que algumas condutas em relação à mucosite vêm sendo sugeridas com o intuito de se eliminar focos de inflamação e/ou infecções preexistentes. A mucosite, enquanto efeito colateral de alta prevalência permanece como um terreno fértil para pesquisas. Apesar de muitos trabalhos já realizados, não se descobriu ainda um meio eficaz para o seu controle sendo, até o momento, todos os métodos utilizados apenas paliativos (MOTA, 2004).

Repka, et al (2004) afirma que estudos experimentais de doenças inflamatórias intestinais (DII) têm sido rotineiramente realizados sobre modelos animais que não são efetivamente induzidos por mecanismo imunológico, mas sim, por irritação química da mucosa intestinal, que apresentem padrão histológico similar aos achados em humanos.

O uso de drogas para tratamento anticâncer, como o Metotrexato (MTX), por exemplo, pode prejudicar severamente a função intestinal, podendo ocasionar anorexia, mau-absorção, diarreia e desidratação. O trato digestório pode ser severamente afetado ocasionando eventos multifatoriais, como inflamação intensa, lesão e até ulceração (MONTEIRO, 2006)

3.2. METOTREXATO

Dentre as drogas comumente utilizadas na quimioterapia, os antimetabólitos, como o metotrexato, tendem a produzir mucosite (VOLPATO et al., 2007). Este fármaco é utilizado desde 1950 para o tratamento de algumas doenças como o câncer pela sua ação antitumoral (CARNEIRO et al., 2004). É uma das drogas mais utilizadas devido sua eficácia, baixo custo e comodidade posológica (ATAÍDE et al., 2003).

O princípio de ação terapêutica do metotrexato é devido a sua ação inibitória sobre diidrofolato redutase e na síntese de DNA (CARNEIRO et al., 2004). Este fármaco é um antimetabólico, análogo ao ácido fólico, que inibe o diidrofolato redutase, enzima necessária para a síntese de nucleotídeos e aminoácidos. Desta forma seu uso pode reduzir a síntese de DNA, inibir a mitose e a proliferação de células de divisão rápida, como são as da epiderme e da medula óssea (ATAÍDE et al., 2003). Sua ação é mais marcante sobre populações celulares em fase de crescimento exponencial, o que pode explicar seu efeito seletivo sobre células tumorais e ação sobre tecidos em proliferação (MARTINS; ARRUDA, 2004).

Danos ao organismo pela toxicidade do metotrexato foram encontrados no trato gastrointestinal, sistema nervoso e hematológico (CARNEIRO et al., 2004). Os riscos de toxicidade podem ser influenciados por diversos fatores como: dose habitual, suscetibilidade individual e interações medicamentosas ou doenças associadas (ATAÍDE et al., 2003). Alimentos leitosos e antibióticos não absorvíveis podem diminuir sua biodisponibilidade (MARTINS; ARRUDA, 2004).

O Metotrexato pode promover alguns efeitos colaterais indesejáveis no intestino delgado como quadros de diarreia, dor, vômitos, mucosites e a diminuição de absorção de nutrientes no organismo. Esses efeitos são os resultados da diminuição da área de absorção intestinal, devido às vilosidades intestinais estar danificadas (atrofiadas ou ausentes pela redução da mitose celular) (HORIE, 2006). Carneiro-Filho et al. (2004) relatam que o uso do metotrexato em ratos promove apoptose nas células do epitélio intestinal dos animais.

Aplicações de altas doses de Metotrexato podem levar a danos letais nas células normais, especialmente se expostas à droga por mais de 36 horas. Nesses casos ocorre lesão celular irreversível, levando a quadros de toxicidade hematológica e gastrintestinal fatal. Em um modelo experimental com a utilização de

MTX, foi demonstrado que este induz importante dano à mucosa do duodeno, jejuno e íleo (MOTA, 2004).

Alguns nutrientes podem auxiliar na modulação da inflamação intestinal, por ação antitumoral e imunomoduladora, reduzindo pouco estímulo antigênico e melhorando o bem estar do indivíduo e o controle da doença ativa (CUNHA-LOPES, 2007; MOREIRA; NASCIMENTO, 2007). Segundo Campos (2002), os ácidos Graxos ômega-3 e ômega-6 têm importância na ação de processos antiinflamatórios, pois estes atuam na produção de mediadores com menor potencial inflamatório no organismo. Pode-se dar o exemplo de alimento fonte de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6 o óleo de peixe.

3.3. ÓLEO DE PEIXE

O papel dos componentes da dieta na prevenção ou na gênese das doenças, bem como seus mecanismos de atividade, foi objeto de estudos há décadas. Entre os macronutrientes, os lipídios exercem grande influência sobre a gênese de doenças crônicas, tais como obesidade, aterosclerose doenças cardiovasculares (ROSA et al., 2010).

Os lipídios são nutrientes importantes para a estrutura das membranas celulares, pois estes são responsáveis pela sua fluidez e pela forma estrutural da célula (STRIJBOSCH, 2008). Os componentes lipídicos, especialmente os ácidos graxos, estão presentes nas mais diversas formas de vida, desempenhando importantes funções na estrutura das membranas celulares e nos processos metabólicos (MARTIN et al., 2006). Rosa et al. (2010) afirmam que estudos com óleos de linhaça, oliva e de peixe, apresentam vários efeitos benéficos para o organismo porque são importantes fontes de ácido graxo linoléico (ômega-6), e ácido graxo linolênico (ômega-3).

Em humanos, os ácidos graxos linoléico (ômega-6,) e linolênico (ômega-3) são necessários para manter sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos. Esses ácidos graxos também participam da transferência do oxigênio atmosférico para o plasma sanguíneo, da síntese da hemoglobina e da divisão celular, sendo denominados essenciais por não serem sintetizados pelo organismo (MARTIN et al., 2006).

O ácido graxo linoléico pertence à família dos ácidos graxos ômega-6 e o ácido linolênico, dos ácidos graxos ômega-3. Estes ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) são considerados essenciais, pois não podem ser sintetizados pelo organismo humano, devem ser obtidos pela dieta. Ambas as famílias encontram-se amplamente distribuídas na natureza (MOREIRA, 2004).

Esses ácidos graxos poliinsaturados estão presentes tanto em espécies vegetais como animais empregados na alimentação humana (MARTIN et al., 2006). O ômega-6 é encontrado em sementes de muitas plantas com a exceção do côco, cacau e palma. Já o ômega-3 está largamente presente no cloroplasto de vegetais verdes frondosos, em sementes oleaginosas (linhaça, canola e em algumas amêndoas, como as nozes) e também em peixes (MOREIRA, 2004).

Entre os peixes, os de origem marinha, como a sardinha e o salmão, geralmente apresentam quantidades maiores de ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) que os peixes oriundos de águas continentais. Isso ocorre, devido à expressiva quantidade desses ácidos graxos no fitoplâncton, que provê a sua distribuição ao longo da cadeia alimentar marinha (MARTIN et al., 2006). Andrade et al. (1997) analisaram a carne de 17 espécies peixes do Brasil, os dados revelaram que espécies como o barbado, corvina, pintado e truta também são boas fontes de EPA E DHA, e que a maioria dos peixes de água doce são boas fontes de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3.

Os ácidos graxos da dieta exercem um papel importante na prevenção e tratamento das doenças coronarianas, hipertensão, desordens auto-imunes e câncer, também apresentaram bons resultados para respostas inflamatórias (MARTINS et al., 2008).

A primeira evidência da importância do papel da ingestão de ácidos graxos poliinsaturados na inflamação foi derivada de observações epidemiológicas da baixa incidência de doenças auto-imunes e inflamatórias, tais como asma, psoríase e diabetes tipo 1, bem como a completa ausência de esclerose múltipla, em uma população de esquimós da Groenlândia (SIMOPOULO; FACN, 2002).

Os Esquimós da Groenlândia, apesar do alto consumo de dietas ricas em gorduras com elevados teores de colesterol e baixa ingestão de carboidratos, apresentam baixos níveis de colesterol total, triglicerídeo, lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), e níveis maiores de lipoproteínas de alta densidade (HDL), relacionados aos menores índices de doenças cardiovasculares, ateroscleroses,

artrite, hipertensão e trombose. Associado a essas características, os Esquimós também apresentam baixa incidência de asma, psoríase e doenças auto-imune (MARTINS et al., 2008).

A alimentação dos povos ocidentais tem apresentado atualmente uma diferenciação em relação à qualidade das gorduras consumidas, nas quais ocorreu o aumentando o consumo de alimentos ricos em ácidos graxos ômega-6 e a diminuição dos ácidos graxos ômega-3. Os dois tipos de gorduras são importantes para os indivíduos, contudo cada um apresenta uma finalidade específica no organismo (STRIJBOSCH, 2008).

O ômega-6 é metabolizado em ácido araquidônico (AA), o precursor dos eicosanóides com ação pró-inflamatória, tais como, principalmente, a prostaglandina, tromboxano e leucotrienos, enquanto o ômega-3 é metabolizado em ácido eicosapentaenóico (EPA) e em ácido docosahexaenóico (DHA), que são precursores de eicosanóides antiinflamatórios, como PGE3 e PGF37 (MARTINS et al., 2008).

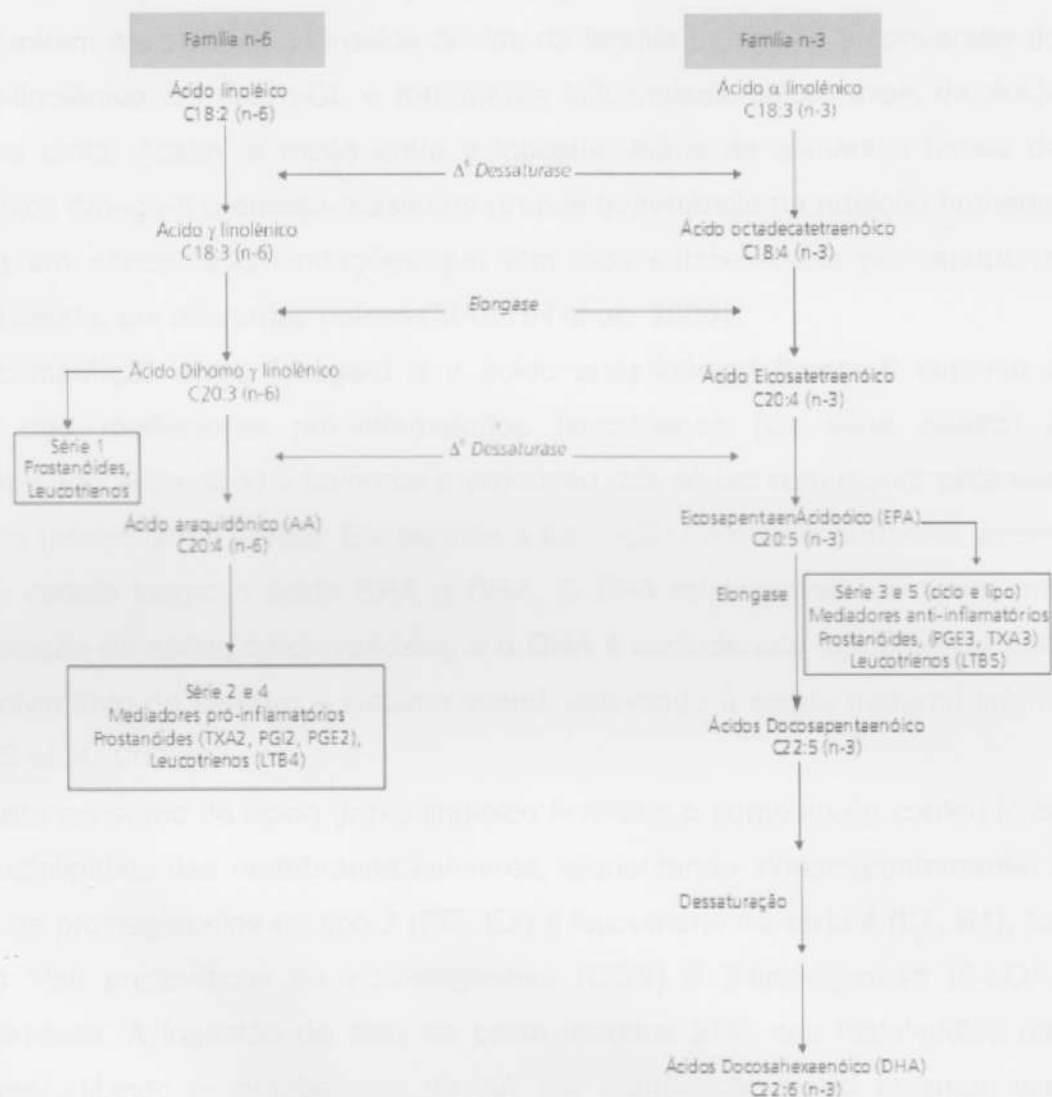


Figura 1. Esquemática da via de biossíntese dos ácidos graxos poliinsaturados.

Fonte: Calder, 2006.

Os ácidos graxos das famílias ômega-6 e ômega-3 competem pelas enzimas envolvidas nas reações de dessaturação e alongamento da cadeia. Embora essas enzimas tenham maior afinidade pelos ácidos da família ômega-3, a conversão do ácido alfa-linolênico em AGPI-CL é fortemente influenciada pelos níveis de ácido linoléico na dieta. Assim, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos ômega-6 e ômega-3 assume grande importância na nutrição humana, resultando em várias recomendações que têm sido estabelecidas por autores e órgãos de saúde, em diferentes países (MARTIN et al., 2006).

A competição entre ômega-3 e o ácido araquidônico ômega-6 suprime a formação dos mediadores pró-inflamatórios leucotrienos (da série quatro) e tromboxanes (da série dois) e favorece a produção das séries com menor potencial inflamatório (séries cinco e três). Ele permite a formação de dois importantes ácidos graxos de cadeia longa: o ácido EPA e DHA. O EPA relaciona-se principalmente com a proteção da saúde cardiovascular, e o DHA é considerado fundamental para o desenvolvimento do cérebro e sistema visual, associado à saúde materno infantil (MARTINS et al., 2008).

O alto consumo de ácido graxo linoléico favorece o aumento do conteúdo de AA nos fosfolipídios das membranas celulares, aumentando, conseqüentemente, a produção de prostaglandina do tipo 2 (PG, E2) e leucotrieno da série 4 (LT, B4), por meio das vias enzimáticas da ciclooxigenase (COX) e 5-lipoxigenase (5-LOX), respectivamente. A ingestão de óleo de peixe introduz EPA nos fosfolipídios das membranas, inibindo o metabolismo do AA por competição pelas mesmas vias enzimáticas (COX e 5-LOX), promovendo a formação de PGE3, em vez de PGE2, e LTB5, em vez de LTB4, que são mediadores inflamatórios menos ativos (GARÓFOLO, PETRILLI, 2006).

A razão de ômega-6/ômega-3 na dieta tem grande influência sobre a produção de AGPI-CML da família ômega-3, sendo que razões elevadas resultam na diminuição da produção do ácido eicosapentaenóico, condição que contribui para o desenvolvimento de doenças alérgicas, inflamatórias e cardiovasculares (MARTIN et al., 2006). Segundo Garófolo, Petrilli. (2006) é considerada satisfatória a relação de ômega 6/ômega 3 de 5:1.

Os benefícios potenciais da suplementação com óleo de peixe têm sido reportados em diversos processos inflamatórios e imunológicos. Estudos experimentais com suplementação oral com ácido graxo ômega-3 relataram melhora

do padrão histológico, manutenção da permeabilidade intestinal e redução tecidual de mediadores derivados do ácido araquidônico (CAMPOS et al., 2002).

Segundo Sierra et al., (2004), o óleo de peixe tem propriedades antiinflamatórias. O seu consumo por indivíduos saudáveis numa proporção adequada de ácidos graxos ômega 6 e ômega-3 leva a uma melhor regulação da resposta imune. Dessa forma, estratégias terapêuticas para atenuar a resposta inflamatória aguda exacerbada, sejam elas medicamentosas ou nutricionais, devem ser exploradas (GARÓFOLO, PETRILLI, 2006).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. APROVAÇÃO ÉTICA E DESENVOLVIMENTO DO ESTUDO

O presente estudo foi do tipo experimental, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), protocolo 046/2009, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Sua realização ocorreu de Julho a Novembro de 2009 após aprovação.

Para o referido estudo foram utilizados 12 camundongos machos da linhagem *Swiss*, provenientes do biotério da Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte (FARN), com o objetivo de se avaliar os efeitos do uso do óleo de peixe no tecido epitelial de camundongos submetidos à mucosite intestinal. Os animais utilizados apresentavam idade média de 02 meses, sendo classificados como camundongos jovens, com peso médio aproximado de 30-40g, mantidos em gaiolas apropriadas, em ambiente com temperatura controlada de $25^{\circ} \pm 2C^{\circ}$ e num ciclo claro/escuro de 12 horas, fazendo uso de ração comercial e com livre acesso a água.

4.2. DIETA E SUPLEMENTAÇÃO

4.2.1. Dieta

Utilizou-se para dieta dos animais a ração comercial padrão para roedores da marca Purina[®]. Esta apresenta as seguintes características: umidade (Max) 13%; proteína (min) 23%; extrato etéreo (min) 4,0%; matéria fibrosa (Max) 8%; matéria mineral (Max) 10%; cálcio (Max) 1,5%; fósforo (min) 0,8%.

4.2.2. Suplemento

Para a suplementação dos animais foi utilizado o óleo de peixe da marca Performance Nutrition[®], sendo este uma combinação natural de Ácidos Graxos Ômega-3, Ácido Docosahexaenóico (DHA) e Ácido Eicosapentaenóico (EPA). Cada

cápsula de *softgel* contém 1000mg de óleo de peixe com 120mg de DHA e 180mg de EPA.

4.3. DESENHO DOS GRUPOS DE ESTUDO

Os camundongos foram divididos aleatoriamente em 03 grupos (n=3/animais por grupo) submetidos a 04 semanas de experimentação cada grupo. Seguiram-se às recomendações éticas para a experimentação animal.

OBS: O grupo de suplementação com óleo de peixe recebeu por gavagem 0,25mL do referido óleo. O óleo para a suplementação foi retirado das cápsulas de *softgel* com o auxílio de uma seringa e posteriormente administrado nos animais através da sonda de gavagem, liberando o óleo no estômago dos animais. Todos os animais tiveram livre acesso à ração e água, exceto no dia anterior ao sacrifício (jejum de ração por 24h).

Grupo 1 - Grupo controle (negativo): os animais receberam ração comercial e água *at libitum* durante as 04 semanas de pesquisa;

Grupo 2 - Grupo mucosite (positivo): os animais deste grupo receberam ração comercial, e a oferta de água *at libitum*. Este grupo foi submetido à indução da mucosite intestinal através do medicamento metotrexato (2,5mg/kg/dia) de acordo com o protocolo de mucosite nos 03 últimos dias do experimento.

Grupo 3 - os animais deste grupo receberam 0,25mL da suplementação por gavagem de óleo de peixe durante as 04 semanas do tratamento. A ração comercial e a oferta de água foram *at libitum*. Este grupo foi submetido à indução da mucosite intestinal através do medicamento metotrexato (2,5mg/kg/dia) de acordo com o protocolo de mucosite nos 03 últimos dias do experimento.

Desenho amostral:

1° semana	2° semana	3° semana	4° semana
-----------	-----------	-----------	-----------

Suplemento com Óleo de peixe

Metotrexato

Fonte. Dados da pesquisa, 2010.

4.4. PROTOCOLO DE INDUÇÃO DE MUCOSITE E COLETA DE AMOSTRAS

Para estabelecer o modelo de indução de injúria intestinal (mucosite) em camundongos foi realizada a aplicação do metotrexato na dose de 2,5mg/kg/dia por via subcutânea (sc) uma vez ao dia durante os últimos 3 dias consecutivos do experimento (CARNEIRO-FILHO et al., 2004),

4.5. EVOLUÇÃO DA MASSA CORPORAL

Foi realizada 03 vezes por semana a mensuração da massa corpórea dos animais, para observar a evolução ponderal. Os animais eram pesados através de uma balança milimétrica da marca Plenna Nutri.

4.6. EUTANÁSIA E COLETAS DE AMOSTRAS

Ao final da 4° semana de experimento, os animais foram eutanasiados para a análise do estudo. O sacrifício foi realizado por deslocamento cervical estando os animais, previamente anestesiados, com de ketamina (130mg/Kg) e xilazina (0,3mg/Kg). Após o sacrifício dos animais, o seguimento de aproximadamente 3 cm do duodeno foi coletado para a análise histomorfométrica.

4.7. ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

Para a análise histomorfométrica foram coletados 3cm do duodeno imediatamente distal ao ligamento de Treitz para a análise da morfologia do epitélio intestinal (CARNEIRO-FILHO, 2004; KONING et al., 2007). As medidas da altura das vilosidades (do topo da vilosidade até a junção vilosidade-cripta) e as profundidades das criptas (definidas como a profundidade da invaginação entre as vilosidades adjacentes) foram realizadas por microscopia óptica com objetiva de 20x. Para cada amostra de intestino, foi realizada a leitura de 10 vilosidades e de 10 criptas adjacentes aos vilos para posterior média de resultados encontrados (MOTA, 2004).

A leitura das lâminas foi realizada no Laboratório de Patologia do departamento de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados de forma exploratória e descritiva através de gráficos estatísticos realizados pelo programa Statística versão 6.0. Diferenças entre as médias com probabilidade menor que 0,05 ($p < 0,05$) foram consideradas estatisticamente significantes. O teste Análise de Variância (ANOVA) foi realizado para verificar a diferença entre os grupos em relação à evolução da massa corporal. Para a visualização gráfica dos resultados das vilosidades e criptas, foi feito a média através do software Excel, versão 2003.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ANÁLISE DA EVOLUÇÃO DA MASSA CORPORAL

Para a análise do efeito do óleo de peixe sobre a evolução da massa corporal dos camundongos foi realizada a avaliação estatística em histograma dos diferentes grupos ($n=3/\text{grupos}$) (Figura 2). Para a determinação das diferenças estatísticas entre os grupos, foi utilizado o teste ANOVA. A significância estatística foi fixada em um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$).

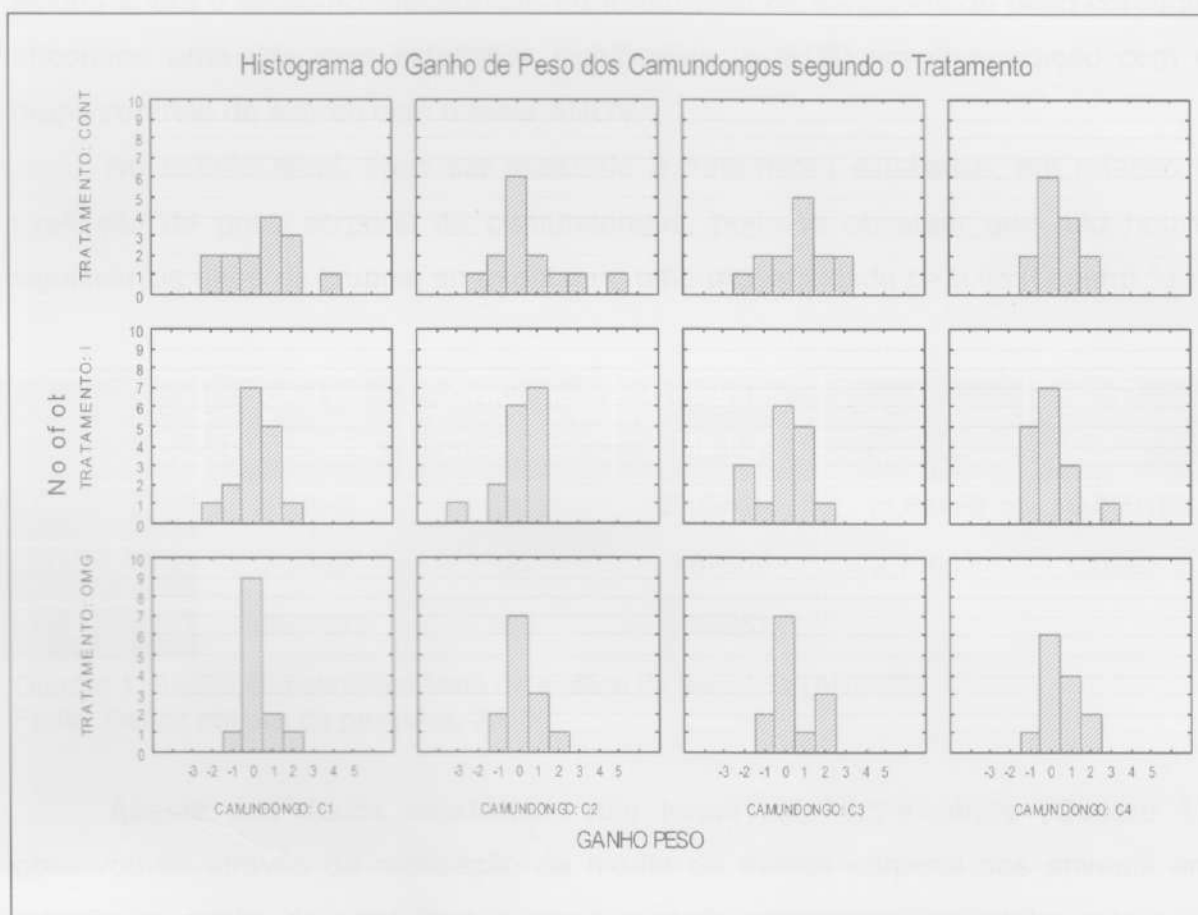


Figura 2. Avaliação do peso corporal dos camundongos no grupo controle, mucosite e mucosite com suplementação de óleo de peixe.

Fonte. Dados obtidos da pesquisa, 2010.

Analisando-se o histograma (Figura 2), pode-se visualizar a variação do peso corporal dos camundongos entre os grupos. No Grupo controle (SHAM) os camundongos apresentaram uma maior variação em relação ao peso corporal, no

qual ocorreu pouca manutenção do peso corpóreo. Os grupos mucosite e mucosite com suplementação de óleo de peixe apresentaram uma maior manutenção do peso corporal em relação ao grupo controle. Percebe-se também que o grupo mucosite apresentou uma perda de peso maior em relação ao grupo mucosite com suplementação de óleo de peixe.

Boukhattala et al (2009), observaram em seus estudos que ratos tratados com MTX, quando comparados com o grupo controle, apresentaram peso corporal significativamente reduzido. Resultado similar foi encontrado no estudo de Konning et al (2007), no qual o uso de MTX também influenciou a diminuição de peso nos camundongos quando comparados com o grupo. Carneiro-filho et al (2004), em seu estudo sobre o efeito do metotrexato no tratamento de variações do peso corporal, encontrou uma diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em comparação com o grupo controle de acordo com o teste ANOVA.

No estudo atual, após ser realizado o tratamento estatístico, em relação à avaliação de peso corporal de camundongos, pode-se observar que não houve significância entre os grupos, apresentando uma probabilidade $p > 0,05$ (Quadro 1).

	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F	P
Intercepto	20,0943	1	20,09434	14,84499	0,000166
Grupo	7,3502	2	3,67508	2,71502	0,069092
Erro	228,7603	169	1,35361		

Quadro 1. Avaliação estatística teste de análise de variância (ANOVA).

Fonte. Dados obtidos da pesquisa, 2010.

Apesar dos dados estatísticos não terem sido significativos (Quadro 1), observou-se através da realização da média da massa corporal dos animais em relação ao ganho de peso, que o grupo controle apresentou um ganho médio de peso corporal superior aos outros grupos. Assim como o grupo mucosite suplementado com óleo de peixe teve um ganho de peso maior que o grupo mucosite (GRÁFICO 1).

Comportamento do Ganho Médio de Peso segundo os Tratamentos

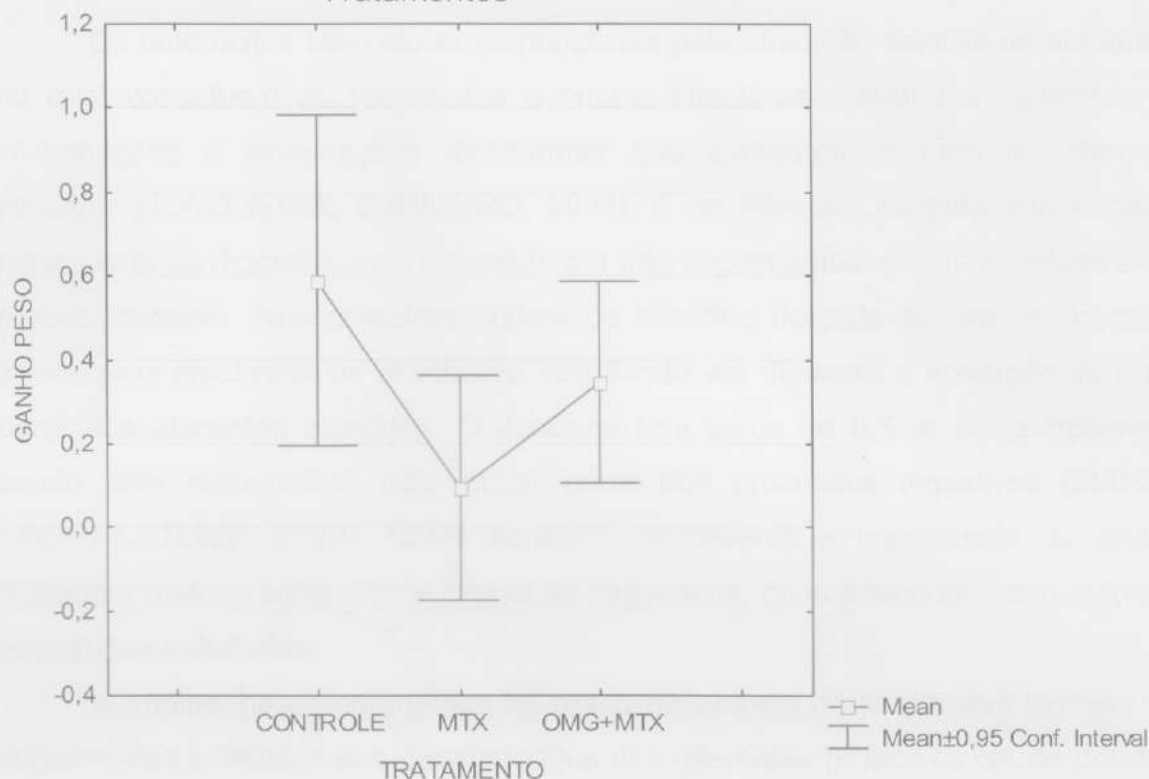


Gráfico 1. Avaliação do ganho médio de peso corporal dos camundongos no grupo controle, mucosite e mucosite com suplementação de óleo de peixe.
Fonte. Dados da pesquisa, 2010.

Pode-se observar neste estudo que os dados estatísticos não foram significativos, sendo estes dados possivelmente associados ao pequeno número de animais na pesquisa. O tempo de desenvolvimento experimento, possivelmente também foi um dos dados que inviabilizou resultados mais significativos, visto que na avaliação do ganho médio de peso corporal dos camundongos observou-se efeitos positivos em relação ao grupo que foi suplementado com óleo de peixe com o grupo mucosite.

Carneiro-filho et al (2004) apresentaram dados opostos ao encontrado nos na análise estatística deste estudo, no qual relataram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em camundongos tratados com metotrexato em comparação com o grupo controle de acordo com o teste ANOVA.

5.2. ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA

Os enterócitos são células responsáveis pela absorção seletiva de nutrientes, no qual constituem as vilosidades e criptas intestinais, estruturas dispostas em invaginações e evaginações digitiformes que aumentam a área de absorção intestinal (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). É no intestino delgado que ocorre a maior parte da digestão, este é dividido em três segmentos: duodeno, jejuno e íleo respectivamente. Nos primeiros 100cm de intestino delgado de um ser humano, ocorre uma enxurrada de atividades, resultando em digestão e absorção da maior parte dos alimentos ingeridos. O duodeno tem cerca de 0,5 m de comprimento, sendo este responsável pela maior parte dos processos digestivos (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 2010). Neste contexto, percebe-se a importância da análise histomorfométrica entre vilos e criptas do seguimento do duodeno dos camundongos nos grupos estudados.

A análise histomorfométrica foi realizada através da leitura das lâminas dos segmentos coletados dos camundongos dos diferentes grupos (3 cm do duodeno imediatamente distal ao ligamento de Treitz).

Durante a leitura das lâminas, foi coletado através de uma ocular milimetrada, o comprimento de 10 vilosidades e de 10 criptas adjacentes às vilosidades para posterior análise das respectivas médias. O gráfico 2, analisa a altura das vilosidades entre os grupos. Observou-se que o grupo mucosite, que recebeu a indução da mucosite intestinal através do medicamento metotrexato (2,5mg/kg/dia) nos 03 últimos dias do experimento, teve o comprimento das vilosidades menor em relação ao grupo controle. Ao observar o grupo mucosite suplementado com óleo de peixe, em relação à altura das vilosidades, percebeu-se que em relação ao grupo controle, houve uma diminuição do tamanho, mas em relação ao grupo mucosite, as vilosidades tiveram um comprimento maior.

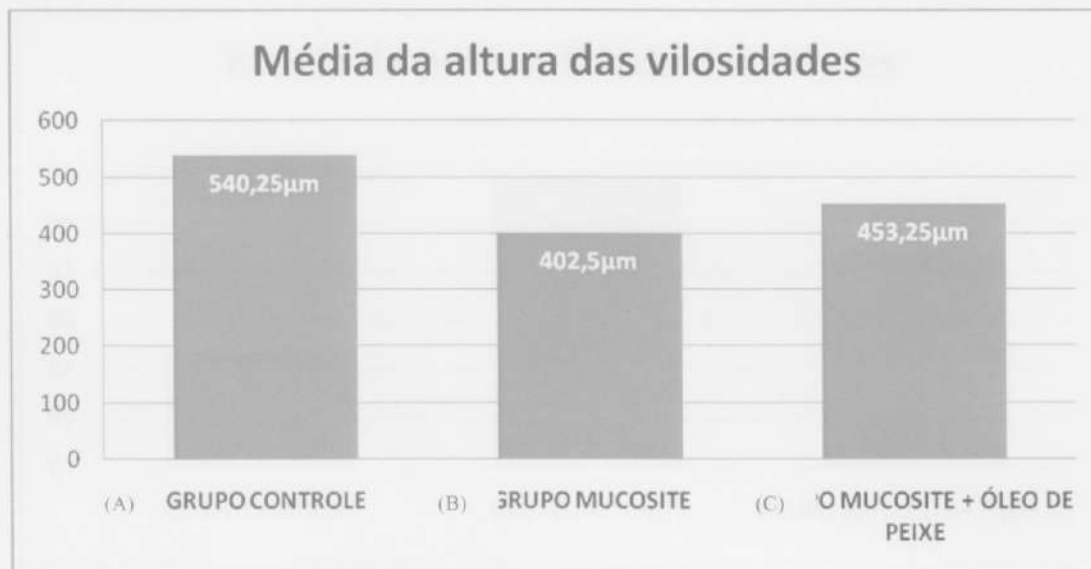


Gráfico 2. Avaliação média da altura das vilosidades do duodeno nos grupos controle (A), mucosite (B) e mucosite com suplementação de óleo de peixe (C).

Fonte. Dados da pesquisa, 2010.

Mota (2004) relata em seu estudo que o metotrexato induziu diminuição significativa na relação vilosidade/cripta em relação ao grupo controle.

Ao analisar a profundidade das criptas do duodeno dos grupos em estudo, pode-se observar que o grupo controle (88,75μm) teve uma média menor quando comparada com os demais grupos. Observou-se também que o grupo mucosite (95,75μm) apresentou maior média em relação às criptas (GRÁFICO 3).

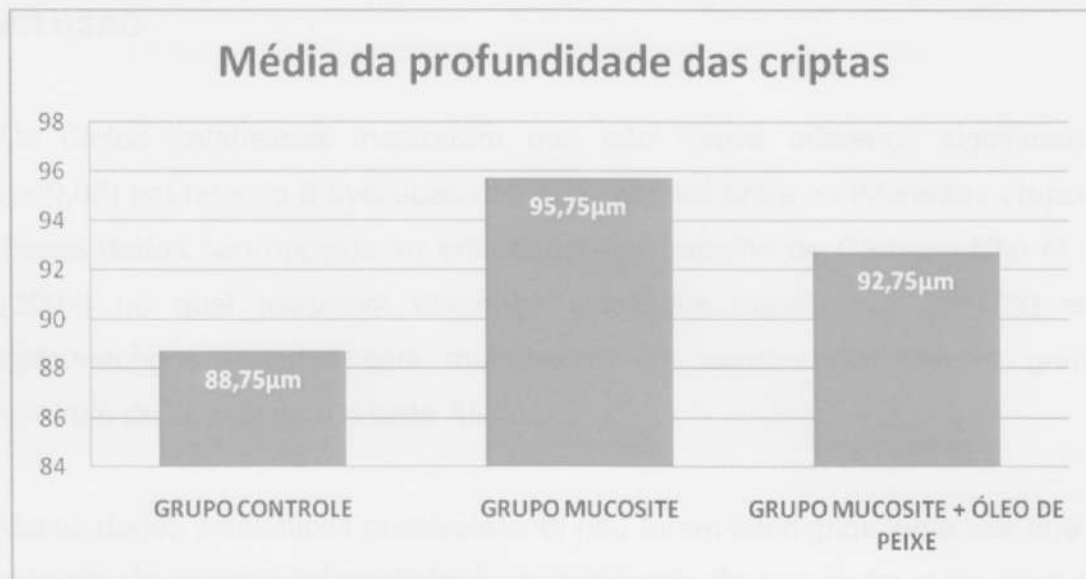


Gráfico 3. Avaliação média da profundidade das criptas do duodeno nos grupos controle (A), mucosite (B) e mucosite com suplementação de óleo de peixe (C).

Fonte. Dados da pesquisa, 2010.

A mucosite tem se tornado cada vez mais um fator limitante para o tratamento quimioterápico no câncer. A intensidade dos danos estruturais intestinais produzidos pelo MTX pode ser visualizada através da análise histomorfométrica, no qual o MTX induziu uma significativa diminuição da altura das vilosidades e aumento da profundidade das cripta dois dias após sua aplicação em ratos. Além disso, o MTX induziu uma nítida diminuição do peso corporal, o que enfatiza o grande impacto da droga sobre o estado nutricional geral (CARNEIRO-FILHO, 2004).

6. CONCLUSÃO

- Os dados estatísticos mostraram que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação à avaliação de peso corporal entre os diferentes grupos. Esses dados são opostos ao encontrado no trabalho de Carneiro-filho et al (2004) no qual relataram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em camundongos tratados com metotrexato em comparação com o grupo controle de acordo com o teste ANOVA.
- Esses dados estatísticos possivelmente não foram fidedignos, uma vez que o número de animais foi insuficiente, e a duração do estudo foi curta para se chegar a dados mais conclusivos.
- A análise histomorfométrica mostrou que o grupo mucosite com suplementação de óleo de peixe teve menos alterações morfológicas em nível de vilos e criptas intestinais que o grupo mucosite. Desta forma a suplementação de óleo de peixe provavelmente foi capaz de proteger a mucosa intestinal.
- A suplementação com óleo de peixe possivelmente favorece a evolução ponderal, na injúria intestinal induzida pelo MTX.
- Trabalhos recentes têm enfatizado os benefícios da imunonutrição com ácidos graxos ômega-3 (AGn-3) em diversas situações clínicas, portanto há de se acreditar que este estudo se constitui de um passo importante para a continuidade das pesquisas afim de que se consiga chegar a dados mais preciso de que esse ácido graxo promova efeito positivo no tratamento da mucosite intestinal, assim também como de outros processos inflamatórios.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, Maria Margarida. **Introdução à Metodologia do Trabalho Científico**: Elaboração de Trabalhos na Graduação. 3. ed. São Paulo: Atlas, 1998. 151 p. il. ISBN 85 224 2041 6.

ANDRADE, D.A.; VISENTAINER, V.J.; MATSHUSHITA, M.; de SOUZA, E. Omega-3 fatty acids in baked freshwater fish from south of Brazil. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v. 47, n. 1, p. 73-76, 1997.

ATAÍDE, D. S. T et al. Ulceração das placas psoriáticas – efeito cutâneo adverso do metotrexato em altas doses no tratamento da psoríase: relato de três casos. **An bras Dermatol**. v. 78, n. 6, p. 749-753. nov./dez, 2003.

BOUKHETTALA, N et al. Methotrexate induces intestinal mucositis and alters gut protein metabolism independently of reduced food intake. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. v. 296, p.E182-E190. 2008.

CALDER, P. C. n 3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases1–3. **Am J Clin Nutr**. v. 83, p. 1505S-1519S. 2006.

CAMPOS, F. G et al. Imunonutrição em colite experimental: efeitos benéficos dos ácidos graxos ômega-3. **Arq. Gastroenterologia**, v. 39, n. 1, p. 48-54, jan./mar. 2002.

CARNEIRO-FILHO, B.A. *et al.* Intestinal Barrier Function and Secretion in Methotrexate -Induced Rat Intestinal Mucositis. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 49, n. 1, p. 65-72, Jan/2004.

CARVALHO, W. A; LEMÔNICA, L. Mecanismos Celulares e Moleculares da Dor Inflamatória. Modulação Periférica e Avanços Terapêuticos. **Rev Bras Anesthesiol**. v. 48, n. 2, p. 137-158, 1998.

GALVÃO, E.L; SILVA, J.O; MOREIRA, A.V.B; SOUZA, E.M.D. Avaliação do Potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Ciênc. Tecnol. Aliment**.v. 28, n.3, p.1-13, Julh/Sete, 2008.

GARÓFOLO, A; PETRILLI, A. S. Balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória em pacientes com câncer e caquexia. **Rev. Nutr**. v. 19, n. 5, p. 611-621. Set./out., 2006.

GERALDO, J. M; ALFENAS, R. C. G. Papel da Dieta na Prevenção e no Controle da Inflamação Crônica – Evidências Atuais. **Arq Bras Endocrinol Metab**. v. 52, n. 6, p. 951-967, 2008.

HORIE, T.; LI, T.; ITO, K.; SUMI, S.; FUWAY, T. Aged Garlic Extract Protects against Methotrexate-Induced Apoptotic Cell Injury of IEC-6 Cells. **J. Nutr.**, n. 136, p. 861-863, 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, José. **Histologia Básica: Textos e Atlas**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 488 p. il. ISBN 85-277-0906.

KONING, B.A.E et al. Methotrexate – induced mucositis in mucin 2 – deficient mice. **Jornal of cellular physiologi**. p. 144 – 152, 2007.

SUÁREZ-MAHECHA et al. Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. **Boletim do Instituto de Pesca**. v.28, n.1, p. 101-110. São Paulo, 2002.

MAHAN, L. Kathleen; ESCORTT- STUMP, Silvia. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 12.ed. Rio de Janeiro: Roca, 2010. 1351 p. il.

MARQUES, A; MARQUES, C. **Propriedades Funcionais da Linhaça (*Linum usitatissimum* L.) em diferentes condições de preparo e de uso em alimentos**. 2008. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, RS.

MARTIN, C. A et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Rev Nutr**. v. 19, n. 6, p.761-770. nov./dez, 2006.

MARTINS, M. B; SUAIDEN, A. S; PIOTTO, R. F; BARBOSA, M. Propriedades dos ácidos graxos poliinsaturados – omega 3 obtidos de óleo peixe e óleo de linhaça. **Rev. Inst Ciên Saúde**. v. 26, n. 2, p.153-156, 2008.

MARTINS, G. A; ARRUDA, L. Systemic treatment os psoriasis – Part I: methotrexate and acitretin. **An bras Dermatol**. v. 79, n. 3, p. 263-278. mai/jun. 2004.

MONTEIRO, M. C. S. A. **Restabelecimento da barreira morfo-funcional intestinal através da suplementação com glutamina, alanil-glutamina, e peptídeos em camundogos com mucosite induzida por 5- fluorouracil**. 2006. 107f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia. Faculdade de Medicina) – Universidade Federal do Ceara, 2006.

MOREIRA, A. V. B; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos deespeciarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Rev. Nutr**.v.17, n. 4, p. 411-424. Campinas, out./dez, 2004.

MOTA, M. L. S. **Avaliação dos efeitos do agente citoprotetor amifostina na mucosite oral e disfunção da barreira intestinal: modelos experimentais em ratos e em pacientes portadores de câncer submetidos à quimioterapia antineoplásica**. 2004. 202f. Tese (Doutorado em farmacologia) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceara, 2004.

PETERSON, D. E. Pretreatment strategies for infection prevention in chemotherapy patients. **National Cancer Institute Monograph**. v. 9, p. 61-71, 1990.

REPKA, J. C. D et al. Proposta de um novo modelo experimental de indução de doença inflamatória intestinal. **Acta Cir Bras**. v. 19, n. 5, p. 548-554, 2004.

REUTER, S; GUPTA, S. C; CHATURVEDI, M. M; AGGARWAL, B.B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked?. **Free Radical Biology and Medicine**. 2010.

ROSA, D. D; SALES et al. Flaxseed, olive and fish oil influence plasmatic lipids, lymphocyte migration and morphometry of the intestinal of Wistar rats. **Acta. Cirúrgica Brasileira**. v. 25, n. 3, p. 275-280, 2010.

SIERRA et al. Lá expresión de IL – 10 interviene em La regulación de La respuesta inflamatoria por los ácidos grasos Omega 3. **Nutr Hosp**. v. 19, n. 6, P. 376-382, 2004.

SIMOPOULOS, A. P, FACN, M. D. Omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 495-505, 2002.

SONIS, S.T. Mucositis as a biological process: a new hypothesis for the development of chemotherapy-induced stomatotoxicity. **Oral Oncology**. v. 34, p.39-43, 1998.

STRIJBOSCH, R. A.M et al. Fish oil prevents essential fatty acid deficiency and enhances growth: clinical and biochemical implications. **Metabolism Clinical and Experimental**, n. 57, p. 698-707, 2008.

VOLPATO, L. E. R et al. Mucosite bucal e quimioinduzida. **Rev. Bras. Otorrinolaringol**. v. 73, n. 4, p. 562-568. Julh/ago, 2007.

XIAN, C et al. Increased expression of HGF and c-met in rat small intestine during recovery from methotrexate-induced mucositis. **British Journal of Cancer**, v. 82, n. 4, p. 945-952, 2000.