

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LARISSA ZAMBOM CÔCO

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DO KEFIR DE LEITE EM MODELOS
EXPERIMENTAIS DE MUCOSITE INTESTINAL E COLITE
ULCERATIVA**

VILA VELHA
2025

UNIVERSIDADE VILA VELHA-ES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DO KEFIR DE LEITE EM MODELOS
EXPERIMENTAIS DE MUCOSITE INTESTINAL E COLITE
ULCERATIVA**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha
como pré-requisito do Programa de Pós-
graduação em Ciências Farmacêuticas, para
obtenção do grau de Doutora em Ciências
Farmacêuticas.

LARISSA ZAMBOM CÔCO

VILA VELHA
2025

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

C667a

Coco, Larissa Zambom.

Potencial terapêutico do kefir de leite em modelos experimentais de mucosite intestinal e colite ulcerativa / Larissa Zambom

Coco. – 2025.

104 f. : il.

Orientadora: Bianca Prandi Campagnaro.

Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Vila Velha, 2025.

Inclui bibliografias.

1. Farmacologia e terapêutica. 2. Estresse oxidativo. 3. Kefir.
4. Probióticos. I. Campagnaro, Bianca Prandi. II. Universidade Vila Velha.
III. Título.

CDD 615

LARISSA ZAMBOM CÔCO

**POTENCIAL TERAPÊUTICO DO KEFIR DE LEITE EM MODELOS
EXPERIMENTAIS DE MUCOSITE INTESTINAL E COLITE
ULCERATIVA**

Tese apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, para a obtenção do grau de Doutora (a) em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2025,

Banca Examinadora:



Dr (a). Marcela Porto Tavares (IFES)



Dr (a). Carlos Eduardo Tadokoro (UVV)



Dr (a). Thiago de Mello Costa Pereira (UVV)



Dr (a). Bianca Prandi Campagnaro (UVV)

Orientador (a)

Gostaria de expressar minha gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho. Em especial, agradeço à minha orientadora, Bianca Prandi Campagnaro, pelo apoio, orientação e incentivo ao longo desta jornada. Meus sinceros agradecimentos também aos meus colegas do laboratório (LFFT-UVV), com quem compartilhei conhecimentos, ideias e momentos. À minha família e amigos, que estiveram ao meu lado com amor, paciência e apoio, meu profundo reconhecimento por serem fundamentais nesta conquista.

Agradeço à Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo apoio financeiro e institucional, que viabilizou não apenas esta pesquisa, mas também a oportunidade de realizar um estágio na Espanha. Sou imensamente grata a todos do laboratório que me acolheu durante essa experiência enriquecedora.

Este trabalho é fruto de um esforço coletivo, e sou imensamente grata a todos que compartilharam dessa trajetória comigo

RESUMO

COCO, LARISSA ZAMBOM, D.S., Universidade Vila Velha – ES, Fevereiro de 2025.
POTENCIAL TERAPÊUTICO DO KEFIR DE LEITE EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE MUCOSITE INTESTINAL E COLITE ULCERATIVA (2021-2025). Orientadora: Bianca Prandi Campagnaro.

A inflamação intestinal pode ser desencadeada por diversos fatores, incluindo doenças e tratamentos farmacológicos. Essa condição compromete a qualidade de vida dos pacientes. Dentre as inflamações intestinais, destacam-se a mucosite intestinal, uma reação adversa induzida por determinados quimioterápicos, e a colite ulcerativa, uma doença inflamatória intestinal crônica. Ambas afetam o trato gastrointestinal e estão associadas a sintomas, como perda de peso, diarreia e dor abdominal, impactando negativamente o bem-estar dos pacientes. O tratamento dessas condições é complexo, oneroso e pode apresentar dificuldades de adesão, tornando essencial a busca por terapias complementares com potencial terapêutico, como o uso de probióticos, que conferem benefícios à saúde humana, principalmente no trato gastrointestinal. Nesta tese, foram conduzidos dois estudos com o objetivo de investigar os efeitos do kefir de leite na inflamação intestinal: (1) "Efeito enteroprotetor do kefir de leite em modelo experimental de mucosite intestinal induzida por 5-fluorouracila" e (2) "Efeito do tratamento com kefir de leite na colite ulcerativa induzida por DSS: explorando seus mecanismos de ação". No primeiro estudo, os resultados demonstraram que o kefir tradicional (KT) reduziu o índice de atividade da doença (DAI) no nono dia, sem efeito sustentado, enquanto o kefir comercial (KC) promoveu essa redução no décimo primeiro dia. A recuperação do peso corporal ocorreu no décimo segundo dia para o KT e no décimo primeiro dia para o KC. Ambos os tratamentos melhoraram a consistência fecal, mas não apresentaram alterações significativas na motilidade (35,74%-52,43%) e na permeabilidade intestinal (0,55-1,0 ng/ml). A mucosite intestinal levou a um aumento na produção de H_2O_2 e na apoptose no jejuno, efeitos que foram atenuados pelo kefir, sugerindo uma ação antioxidante e antiapoptótica. O kefir não modulou os níveis de IL-12, IL-6 e IL-10, embora o KC tenha reduzido a expressão de IL-6 em relação ao grupo tratado com 5-FU. O TNF- α aumentou na mucosite, sem reversão pelos tratamentos, e o KC promoveu um aumento adicional desse marcador. O INF- γ também se elevou, sem diferenças significativas entre os grupos tratados. No segundo estudo, que avaliou a

colite ulcerativa, observou-se que o kefir começou a apresentar efeitos benéficos a partir do terceiro dia de tratamento, reduzindo os sintomas clínicos (DAI). A perda de peso foi significativa no grupo DSS, enquanto os animais tratados com Kefir iniciaram a recuperação no quinto dia de tratamento. Não foram observadas diferenças significativas no comprimento do cólon ou no peso do baço. O kefir não modulou a inflamação local. A análise da regeneração celular revelou uma redução na expressão de LGR5 nos grupos DSS e DSS+KEFIR, sem impacto na expressão de BMI1, sugerindo que o kefir não interferiu diretamente na recuperação celular. Além disso, não houve variação na expressão da ocludina, assim como na motilidade e na permeabilidade intestinal. No entanto, o kefir reduziu os níveis de H_2O_2 no cólon, atenuando o estresse oxidativo induzido pela colite. Um efeito semelhante foi observado na apoptose das células epiteliais, que foi significativamente aumentada no grupo DSS, mas reduzida no grupo DSS+KEFIR. Em conclusão, os achados desta tese demonstram que o kefir de leite apresenta efeitos benéficos na inflamação intestinal, promovendo uma ação antioxidante e antiapoptótica, reforçando seu potencial como uma terapia complementar promissora.

Palavras-Chave: Probióticos; Inflamação; Estresse oxidativo

ABSTRACT

COCO, LARISSA ZAMBOM, D.S., Vila Velha University – ES, February 2025.
**THERAPEUTIC POTENTIAL OF MILK KEFIR IN EXPERIMENTAL MODELS OF
INTESTINAL MUCOSITIS AND ULCERATIVE COLITIS** (2021-2025). Advisor: Bianca
Prandi Campagnaro.

Intestinal inflammation can be triggered by various factors, including diseases and pharmacological treatments, compromising patients' quality of life. Among intestinal inflammatory conditions, intestinal mucositis, an adverse reaction induced by certain chemotherapeutic agents, and ulcerative colitis, a chronic inflammatory bowel disease, are particularly noteworthy. Both conditions affect the gastrointestinal tract and are associated with symptoms such as weight loss, diarrhea, and abdominal pain, negatively impacting patients' well-being. Their treatment is complex, costly, and may present adherence challenges, highlighting the need to explore complementary therapies with therapeutic potential, such as probiotics, which provide health benefits, particularly to the gastrointestinal tract. This dissertation comprises two studies aimed at investigating the effects of milk kefir on intestinal inflammation: (1) "Enteroprotective effect of milk kefir in an experimental model of intestinal mucositis induced by 5-fluorouracil" and (2) "Effect of milk kefir treatment on DSS-induced ulcerative colitis: exploring its mechanisms of action." In the first study, results demonstrated that traditional kefir (TK) reduced the disease activity index (DAI) on the ninth day, without sustained effect, while commercial kefir (CK) achieved this reduction on the eleventh day. Body weight recovery occurred on the twelfth day for TK and the eleventh day for CK. Both treatments improved fecal consistency but did not significantly alter motility (35.74%-52.43%) or intestinal permeability (0.55-1.0 ng/ml). Intestinal mucositis led to increased H₂O₂ production and apoptosis in the jejunum, which were mitigated by kefir, suggesting antioxidant and anti-apoptotic effects. Kefir did not modulate IL-12, IL-6, or IL-10 levels, although CK reduced IL-6 expression compared to the 5-FU group. TNF- α levels increased with mucositis and were not reversed by treatments, with CK further elevating this marker. IFN- γ also increased, with no significant differences among treated groups. In the second study, which evaluated ulcerative colitis, kefir demonstrated beneficial effects from the third day of treatment, reducing clinical symptoms (DAI). Weight loss was significant in the DSS group, whereas DSS+KEFIR animals began recovering weight on the fifth treatment day.

No significant differences were observed in colon length or spleen weight. Kefir did not modulate local inflammation. Cell regeneration analysis showed reduced LGR5 expression in DSS and DSS+KEFIR groups, without affecting BMI1 expression, suggesting that kefir did not directly influence cellular recovery. Additionally, occludin expression, motility, and intestinal permeability remained unchanged. However, kefir reduced H₂O₂ levels in the colon, alleviating oxidative stress induced by colitis. A similar effect was observed in epithelial cell apoptosis, which was significantly increased in the DSS group but reduced in DSS+KEFIR. In conclusion, the findings of this dissertation demonstrate that milk kefir exerts beneficial effects on intestinal inflammation, promoting antioxidant and anti-apoptotic actions, reinforcing its potential as a promising complementary therapy.

Keywords: Probiotics; Inflammation; Oxidative stress

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Etiologia do desenvolvimento do câncer	13
Figura 2 - Estrutura química do 5-Fluorouracil	14
Figura 3 - Formação dos metabólitos do 5-Fluorouracil	15
Figura 4 - Mecanismo de ação do 5-Fluorouracil	17
Figura 5 - Dano gastrointestinal ocasionado pela administração do 5-Fluorouracil	19
Figura 6 - Preparo e administração do kefir de leite	26
Figura 7 - Desenho experimental da mucosite intestinal	27
Figura 8 - Índice da doença (DAI) da mucosite intestinal	33
Figura 9 - Avaliação diária da perda de peso dos grupos experimentais	34
Figura 10 - Avaliação diária da consistência fecal dos grupos experimentais	35
Figura 11 A e B - Avaliação da motilidade (A) e permeabilidade (B) intestinal dos grupos experimentais	36
Figura 12 A e B - Análise da produção das ROS H_2O_2 (A) e apoptose (B) de células isoladas do jejuno	37
Figura 13 - Dano tecidual ocasionado na colite ulcerativa	46
Figura 14 - Desenho experimental da indução de colite ulcerativa e seu tratamento	53
Figura 15 - Índice da doença (DAI) da colite ulcerativa	61
Figura 16 - Avaliação da porcentagem de perda de peso diário dos grupos experimentais	62
Figura 17 A-C - Figura representativa dos cólons dos grupos experimentais (A), avaliação do tamanho do colón (B) e do peso do baço (C)	63
Figura 18 A-F - Fenotipagem de células imunes isoladas do colón: Neutrófilos (A), dendríticas (B) CD3 (C), macrófagos totais, (D) macrófagos pró-inflamatórios (E) e macrófagos anti-inflamatórios (F)	64
Figura 19 A-D - Análise de Viabilidade (A), necrose (B) apoptose inicial (C) e apoptose tardia (D) dos neutrófilos isolados do colón dos grupos experimentais	65
Figura 20 - Medida dos níveis de MPO do colón dos grupos experimentais	66

Figura 21 A-C - Expressão dos genes TNF- α (A), IL-6 (B) e CCL2 (C) do cólon

67

Figura 22 A e B - Expressão dos genes LGR5 (A) e BMI1 (B) do cólon 68

Figura 23 A e B - Fotografia representativa de Western Blot mostrando a expressão da proteína ocludina em tecidos de cólon (A). Quantificação de ocludina do tecido do cólon dos grupos experimentais (B)

69

Figura 24 - Avaliação da motilidade (A) e permeabilidade (B) intestinal dos grupos experimentais

72

Figura 25 - Análise da produção das ROS H₂O₂ (A) e apoptose (B) de células isoladas do cólon

73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Índice da atividade da doença	27
Tabela 2 - Nível sistêmico das citocinas IL-12, TNF- α , INF- γ e IL-6 e IL-10	38
Tabela 3 - Índice da atividade da doença	53
Tabela 4 - Primers: m β -actina, mTNF- α , mL-6, mCCL2, mLGR5 e mBMI1	57

LISTA DE SIGLAS

5-FU	Fluorouracil
ANOVA	Análise de variância
APC	Células apresentadora de antígeno
COX-2	Cicloxigenase 2
DCFH-DA: 2',7'	Diacetato de diclorofluoresceína
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTP's	Desoxinucleotídeos
DSS	Dextran sulfate sodium
dTMP	Monofosfato de desoxitimidina
dUMP	Monofosfato de desoxiuridina
dUTP	Desoxiuridina
FdUDP	Fluorodesoxiuridina
FdUMP	Monofosfato de fluorodesoxiuridina
FdUTP	Trifosfato de fluorodesoxiuridina
FUDP	Difosfato de fluorouridina
FUMP	Monofosfato de fluorouridina
FUR	Fluorouridina
FUTP	Fluorouridina trifosfato
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IL-10	Interleucina-10
IL-12	Interleucina-12
IL-13	Interleucina-13
IL-1 β	Interleucina- β
IL-23	Interleucina-23
IL-6	Interleucina-6
INF- γ	Interferon-gama
LFET-UVV	Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Transacional da
Universidade Vila Velha	
NK	Células <i>Natural killer</i>
O ₂	Ânion superóxido
OPRT	Orato fosforilbossiltransferase
PRPP	Fosforribosil pirofosfato

RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
RR	Ribonucleotídeo redutase
RT-PCR	PCR em tempo real
SCFAs	Ácidos graxos de cadeia curta
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TS	Timidilato sintase
UHT	<i>Ultra Hight Temperature</i>
UK	Uridina quinase
UR	Uridina fosforilase

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	15
LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE FIGURAS	12
Capítulo 1	12
1. INTRODUÇÃO	12
1.1. Câncer e tratamento.....	12
1.2. Mecanismo de ação do 5-Fluorouracil (5-FU)	14
1.3. Mucosite intestinal	18
1.4. Uso de probióticos como alternativas de tratamento da mucosite intestinal: Kefir de leite	20
2. JUSTIFICATIVA.....	23
3. OBJETIVOS.....	24
3.1. Objetivo geral	24
3.2. Objetivos específicos	24
4. MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.2. Desenho experimental e indução de mucosite intestinal.....	26
4.3. Índice da atividade doença (DAI)	27
4.4. Motilidade intestinal	29
4.5. Permeabilidade intestinal	29
4.6. Isolamento de células epiteliais do intestino delgado....	30
4.7. Produção de H₂O₂ de células isoladas do intestino	30
4.8. Apoptose de células isoladas do intestino	31
4.9. Determinação de citocinas plasmáticas	31
4.10. Análise estatística	31
5. RESULTADOS.....	33

5.1. Efeitos da administração do kefir de leite sobre os sinais e sintomas clínicos da mucosite intestinal	33
5.2. Efeito da administração do kefir de leite sobre a motilidade intestinal e permeabilidade intestinal	35
5.3. Efeito da administração do kefir de leite sobre a produção de H ₂ O ₂ e apoptose de células isoladas do jejuno	36
5.4. Efeito da administração do kefir de leite sobre a produção de citocinas plasmáticas.....	37
6. DISCUSSÃO	39
7. CONCLUSÃO	44
Capítulo 2.....	45
8. INTRODUÇÃO	45
8.1. Doença inflamatória intestinal: Colite ulcerativa.....	45
8.2. Mecanismo de ação e tratamento da colite ulcerativa....	46
8.4. Alternativas terapêuticas no tratamento da colite ulcerativa: Uso de probióticos	49
9. JUSTIFICATIVA.....	51
10. OBJETIVOS	52
10.1. Objetivo geral.....	52
10.2. Objetivos específicos.....	52
11. MATERIAIS E MÉTODOS.....	53
11.1. Preparação da cápsula de kefir de leite.....	53
11.2. Desenho experimental e indução de colite ulcerativa....	53
11.3. Índice da atividade doença (DAI)	54
11.4. Comprimento do colón e peso do baço	56
11.5. Isolamentos das células imunes do colón	56
11.6. Análise de fenotipagem de células imunes do colón e viabilidade de neutrófilos através da citometria de fluxo	57

11.7. Mieloperoxidase	57
11.8. Isolamento de RNA e PCR em tempo real	58
11.9. Western blot.....	59
11.10. Motilidade intestinal	59
11.11. Permeabilidade intestinal	60
11.12. Isolamento das células epiteliais do colón	60
11.13. Produção de H ₂ O ₂ de células epiteliais do colón	61
11.14. Apoptose de células de células epiteliais do colón	61
11.15. Análise estatística	61
12. RESULTADOS	63
12.1. Efeitos da administração do kefir de leite sobre os sinais e sintomas clínicos da colite ulcerativa	63
12.2. Efeitos da administração do kefir de leite sobre o tamanho do colón e peso do baço	64
12.3. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a fenotipagem de células imunes isoladas do colón.....	65
12.4. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a viabilidade dos neutrófilos isolados do colón.....	66
12.5. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a resposta inflamatória	68
12.6. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a regeneração celular	69
12.7. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a integridade de barreira	70
12.8. Efeito da administração do kefir de leite sobre a motilidade intestinal e permeabilidade intestinal	71
12.9. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a produção de H ₂ O ₂ e apoptose de células epiteliais isoladas do colón	72
13. DISCUSSÃO	74

14.	CONCLUSÃO.....	82
15.	REFERÊNCIAS	83

Capítulo 1

EFEITO ENTEROPROTETOR DO KEFIR DE LEITE EM MODELO EXPERIMENTAL DE MUCOSITE INTESTINAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACILA

1. INTRODUÇÃO

1.1. Câncer e tratamento

Câncer é uma doença que vem aumento exponencialmente e, representa uma das principais causas de mortalidade com aproximadamente 19,3 milhões de novos casos e quase 10 milhões de mortes registradas em 2020 (Sung et al., 2021). No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima que entre 2023 e 2025, ocorrerão aproximadamente 704 mil novos casos de câncer por ano, com destaque para cânceres de pele não melanoma, mama, próstata, pulmão e cólon e reto (INCA, 2023). No Espírito Santo, o INCA estima que entre 2023 e 2025 serão registrados mais de 40 mil novos casos de câncer, sendo os tipos de câncer mais comuns os de pele não melanoma, próstata, mama, cólon e reto, pulmão, colo do útero e estômago.

As taxas de incidência e mortalidade variam entre as regiões e são fortemente influenciados por fatores como exposição a agentes de risco, acesso a diagnósticos e tratamentos adequados, socioeconômicos e comportamentais. Em países de baixa e média renda, como o Brasil, há uma prevalência mais alta de tipos de câncer associados a infecções e à falta de rastreamento adequado, como câncer de colo do útero e câncer de fígado (Bray et al., 2018; INCA, 2023). Por outro lado, em países desenvolvidos, onde há maior exposição a fatores de risco como o tabagismo, dietas pouco saudáveis e sedentarismo, observam-se taxas mais altas de cânceres de pulmão, mama e cólon (Ferlay et al., 2020).

O câncer é definido como o crescimento celular incontrolável com características metastáticas (invasão de células cancerígenas a outros tecidos) (Sarkar et al, 2013). Essas células são capazes de evitar sinais supressores de crescimento e serem resistentes a apoptose. Além disso, apresentam características que favorecem a neovascularização, invasão tecidual e a metástase (Hanahan, Weinberg 2011; Jiang, Nick, Sood 2015).

O surgimento do câncer ocorre através de fatores genéticos e comportamentais (Figura 1). Atualmente o estilo de vida moderno, caracterizado por hábitos de vida não saudáveis como má alimentação, sedentarismo e uso de drogas ilícitas, têm prevalecido como um dos fatores mais importantes para o desenvolvimento da doença (Blackadar 2016; El-Sherif et al 2021; Rumgay et al, 2020).

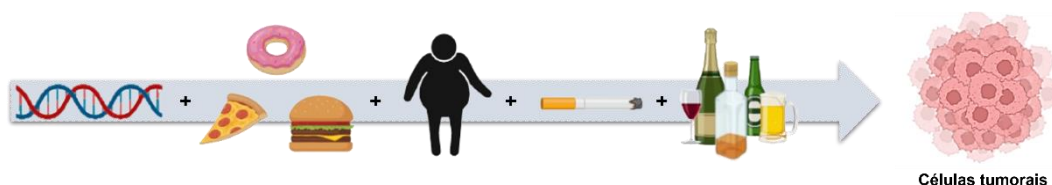


Figura 1: Etiologia do desenvolvimento de câncer. Fatores genéticos estão ilustrados pela figura de DNA e englobam predisposições familiares. Os fatores ambientais englobam dieta inadequada, sedentarismo, obesidade e exposições a carcinógenos, como tabagismo, e substâncias químicas como o álcool. A interação entre esses fatores pode aumentar significativamente o risco de desenvolvimento de células tumorais e consequentemente o surgimento de câncer. Imagem criada através do smart.servier.com e Biorender.com.

A carcinogênese é um processo complexo e multifatorial que envolve exposição de células normais a carcinógenos ambientais resultando em danos ao DNA e, consequentemente a mutagênese (Giatagana et al, 2021). Essas mutações podem ativar proto-oncogenes e inativar os supressores de tumor levando a um aumento exacerbado e descontrolado dos sinais da proliferação celular, o que inicia a formação de uma população de células cancerosas (Maru et al 2016).

Tradicionalmente, as terapias direcionadas ao tratamento do câncer envolvem cirurgia, radioterapia e quimioterapia que podem ser utilizadas separadamente ou associadas (Debela et al, 2021). A quimioterapia é o tratamento mais comum para a maioria dos tumores, atuando no bloqueio do crescimento e proliferação das células cancerosas (Shewach, Kuchta 2009). Os quimioterápicos podem agir como agentes aquilantes que danificam o DNA, interferir nas enzimas envolvidas na replicação do DNA e inibir a mitose (Huang et al, 2017).

Embora este tratamento seja eficaz na cura, redução do tumor e diminuição da mortalidade, os quimioterápicos também danificam células viáveis do organismo, especialmente aquelas que se multiplicam rapidamente, como as células da mucosa e células epiteliais, causando efeitos adversos aos pacientes (Huang et al, 2017; Nurgali, Jagoe, Abalo 2018; Debela et al, 2021).

Os efeitos adversos relacionados ao uso de quimioterápicos é considerado uma grande preocupação a ser resolvida ou amenizada, principalmente devido à diminuição da qualidade de vida dos pacientes. As reações adversas mais comuns envolvem o trato gastrointestinal, como náuseas, vômitos e lesões na mucosa gástrica (Altun, Sonkaya 2018). Essas lesões da mucosa, conhecida como mucosite oral (boca) ou intestinal (principalmente o intestino delgado) e representam o principal efeito adverso de algumas medicações quimioterápicas, como o 5-Fluorouracil, amplamente utilizado no tratamento de cânceres de mama, cabeça e pescoço e do sistema gastrointestinal (Zhang et al 2008).

1.2. Mecanismo de ação do 5-Fluorouracil (5-FU)

O 5-Fluorouracil (5-FU) é um quimioterápico que pertence a classe das fluorodipinas e é amplamente utilizado na prática clínica para o tratamento de diversos tipos de cânceres (Zhang et al 2008). O fármaco é um análogo das pirimidinas com um átomo de flúor substituindo o hidrogênio no carbono 5 (Figura 2) (Longley, Harkin, Johnston 2003).

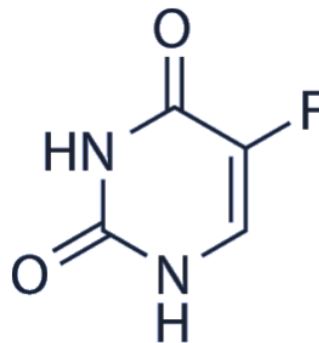


Figura 2: Estrutura química do quimioterápico 5-Fluorouracil.

O 5-FU é convertido em três metabólitos ativos, que são responsáveis pelo seu efeito anticancerígeno: fluorouridina trifosfato (FUTP), trifosfato de fluorodesoxiuridina (FdUTP) e monofosfato de fluorodesoxiuridina (FdUMP) (Longley, Harkin, Johnston, 2003). Além disso, o 5-FU produz um metabólito inativo, o dihidrofluorouracil (DHFU), formado através da enzima dihidropirimidina desidrogenase (DPP) (Longley, Harkin, Johnston, 2003). Essa enzima está presente em diversas células do organismo, mas é predominante (80%) nos hepatócitos (Figura 3).

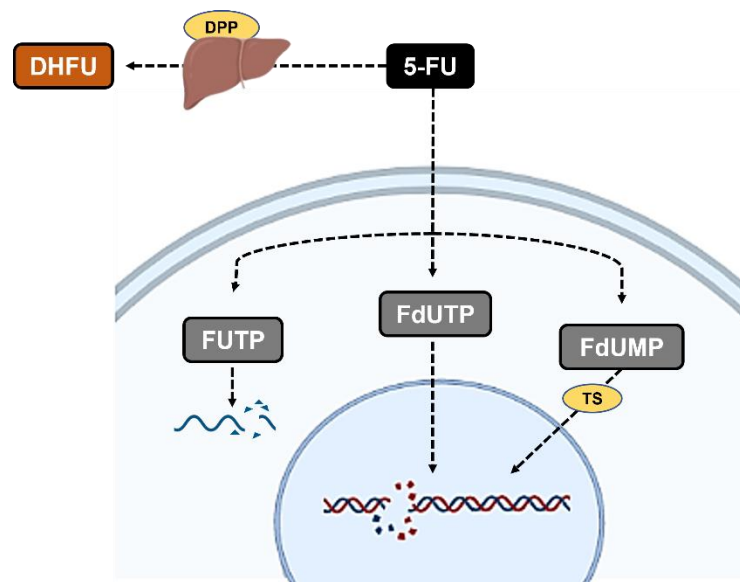


Figura 3: Mecanismo de ação do 5-Fluorouracil e a formação dos seus respectivos metabólitos.

Após a administração, o 5-FU é convertido em 4 metabólitos: O Fluorouridina

trifosfato (FUTP) no qual se insere ao RNA, interferindo a sua síntese; o Trifosfato de fluorodesoxiuridina (FdUTP) e o Monofosfato de fluorodesoxiuridina (FdUMP) no qual se inserem ao DNA, causando danos e inibindo a sua síntese. O FdUMP causa danos ao DNA através da inibição da timidilato sintase, uma enzima crucial para a síntese de timina; o Dihidrofluorouracil (DHFU) é um metabólito inativo que resulta na degradação do medicamento. Imagem criada através do smart.servier.com e Biorender.com.

O principal mecanismo da formação dos metabólitos ativos do 5-FU é através da formação do monofosfato de fluorouridina (FUMP) (Figura 4) (Ghafouri-Fard et al, 2021). O FUMP poderá ser formado diretamente através da ação da enzima orotato fosforilbossiltransferase (OPRT) com o cofator fosforribosil pirofosfato (PRPP) (Ghafouri-Fard et al, 2021). Além disso, existe uma segunda via na formação do FUMP, que é através da formação do fluorouridina (FUR). Essa via utiliza a enzima uridina fosforilase (UP) que converte o 5-FU em FUR e que, posteriormente é transformado em FUMP pela uridina quinase (UK) (Longley, Harkin, Johnston, 2003). O FUMP vai ser fosforilado em difosfato de fluorouridina (FUDP) e, posteriormente fosforilado em um dos metabólitos ativos do fármaco, o FUTP que interfere diretamente na síntese da molécula de RNA (Longley, Harkin, Johnston, 2003).

A formação dos demais metabólitos ativos, o FdUTP e FdUMP ocorrem através da formação de difosfato do fluorodesoxiuridina (FdUDP) devido a ação da ribonucleotídeo redutase (RR) sobre o FUDP (Ghafouri-Fard et al, 2021). O FdUDP poderá ser fosforilado e formar o outro metabólito ativo, o FdUTP que será incorporado no DNA, ocasionando quebra da fita dupla da molécula (Longley, Harkin, Johnston, 2003). Além disso, o FdUDP poderá ser desfosforilado e formar o FdUMP que se ligará no sítio ativo da enzima timidilato sintase (TS) bloqueando a ação do monofosfato de desoxiuridina (dUMP) e inibindo a produção de monofosfato de desoxitimidina (dTMP) que resultará em um desequilíbrio nos desoxinucleotídeos (dNTP's) (Longley, Harkin, Johnston, 2003; Blondy et al 2020).

Esse desequilíbrio, principalmente entre os dNTP's adenina e timina estão relacionadas com a interrupção do reparo do DNA (Sethy, Kundu 2021). Além disso, esse acúmulo de dUMP resultará em aumento dos níveis de desoxiuridina (dUTP) que também poderá causar danos ao DNA (Longley, Harkin, Johnston, 2003; Blondy et al 2020; Sethy, Kundu 2021).

Além dessa via do FUMP, o FdUMP poderá ser formado através da conversão do 5-FU em fluorodesoxiuridina (FdUR) pela ação da enzima timina fosforilase (TP). Subsequentemente, a enzima timina quinase (TK) converte o FdUR em FdUMP. Esses processos levam ao dano celular e consequentemente, a morte celular (Longley, Harkin, Johnston, 2003; Zhang et al 2008; Derissen et al, 2016).

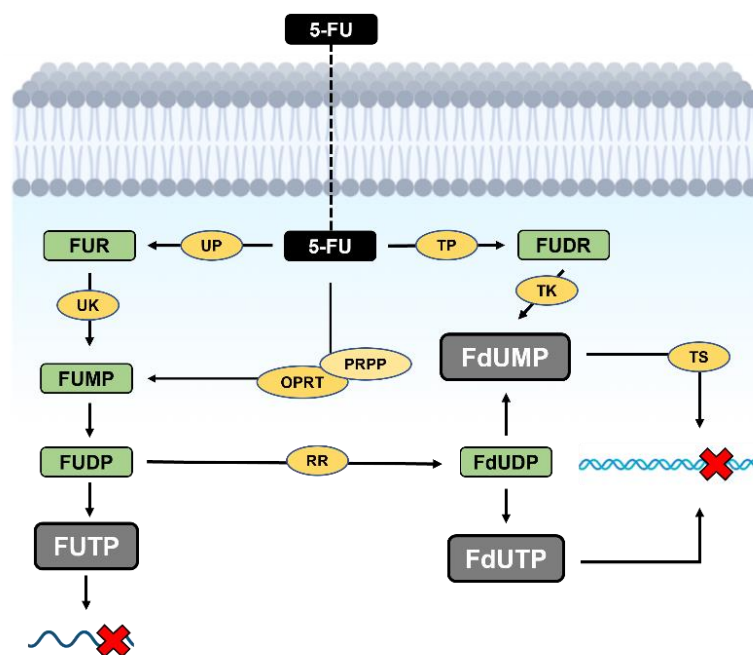


Figura 4: Mecanismo de ação intracelular do 5-Fluorouracil. FUMP: Monofosfato de fluorouridina. OPRT: Orotato fosforilbosi transferase. PRPP: Fosforibosil pirofosfato. FUR: Fluorouridina. UR: Uridina fosforilase. UK: Uridina quinase. FUDP: Difosfato de fluorouridina. FdUDP: Fluorodesoxiuridina. RR: Ribonucleotídeo redutase. TS: Timidilato sintase. Imagem criada através do smart.servier.com.

1.3. Mucosite intestinal

A mucosite intestinal é uma inflamação da mucosa que reveste o trato gastrointestinal, principalmente o intestino delgado, e é ocasionada devido ao efeito adverso do uso de quimioterápicos (Sougiannis et al, 2021). Essa inflamação causa alterações estruturais e funcionais ao tecido gástrico, como apoptose nas criptas de Lieberkühn e atrofia das vilosidades intestinais (Naidu et al, 2004; Chang et al, 2012; Cinausero et al, 2017; Sougiannis et al, 2021). É considerada um dos principais efeitos adversos da quimioterapia, causando um impacto na qualidade de vida do paciente e influenciando negativamente o tratamento contra o câncer (Duncan, Grant, 2003). Além disso, devido as alterações funcionais do tecido a taxa de sobrevivência do paciente é diminuída (Wang et al, 2020; Sougiannis et al, 2021).

As drogas antineoplásicas, como o metotrexato, irinotecano e o 5-FU são as mais relacionadas ao desenvolvimento de mucosite intestinal nos pacientes (Ribeiro et al, 2016). Os principais sintomas e sinais incluem dor abdominal, náuseas e diarreia, levando à diminuição da absorção de nutrientes e à desidratação (Bowen et al 2006; Keefe, 2007; Dahlgren et al, 2021). Além disso, outros efeitos adversos ocasionados pela administração do 5-FU incluem mielossupressão, dermatites e doenças cardíacas (Chang CT et al, 2012).

Infelizmente, os dados sobre a incidência de mucosite intestinal devido ao uso de quimioterápicos não são frequentemente relatados. No entanto alguns estudos relatam incidência entre 40-70% de desenvolvimento da mucosite em pacientes que fazem uso desses medicamentos (Sonis et al, 2015; Huang et al, 2023). Além disso, é importante destacar que a mucosite é dependente da dose utilizada (Peterson et al, 2011; Cinausero et al, 2017). A mucosite ocorre devido à alta proliferação das células epiteliais do trato gastrointestinal, que são particularmente afetadas pelos quimioterápicos (Dahlgren et al, 2021). Esses danos são ocasionados pela inflamação, estresse oxidativo e apoptose (Figura 5) (Bowen et al 2006; Villa, Sonis, 2015; Cinausero et al, 2017).

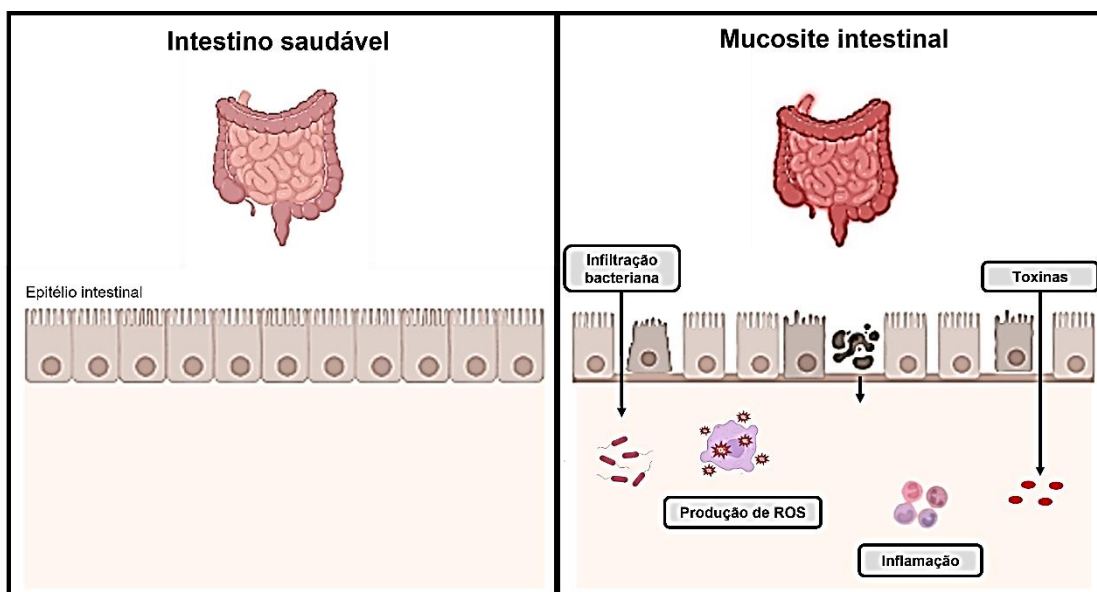


Figura 5: Dano gastrointestinal através do 5-Fluorouracil. As células epiteliais gástricas são danificadas pela administração do medicamento ocasionando apoptose, aumento da permeabilidade celular facilitando a passagem de toxinas e bactérias. Este processo aumenta as espécies reativas de oxigênio e a migração de células inflamatórias. Criado por smart.servier.com.

A mucosite é dividida em 5 fases: Iniciação, sinalização, amplificação, ulceração e cicatrização. Na primeira fase, a iniciação, os quimioterápicos causam danos ao DNA das células epiteliais basais e com isso ocorre o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Sonis, 2004). A fase de sinalização é caracterizada através do aumento de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF- α), devido a resposta imunológica e a apoptose das células epiteliais (Melo et al, 2008; Logan et al, 2009). Nas fases de amplificação e ulceração, ainda é característico o aumento da resposta inflamatória, o que leva a danos teciduais com perda da integridade da mucosa (Kim et al, 2015). A última fase, a cicatrização, envolve a restauração da mucosa gástrica (Sonis, 2004; Kim et al, 2015; Cinausero et al, 2017).

Processos inflamatórios que desencadeiam o estresse oxidativo estão diretamente relacionadas à mucosite (Sultani et al 2012; Atiq et al, 2019). O NFkB é um dos principais mediadores, pois quando ativado pelo uso de

quimioterápicos, estimula a expressão de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6 e IL-1 β) e da cicloxigenase 2 (COX-2), estimulando assim o aumento de produção de ROS, o que contribui para a apoptose e danos no tecido intestinal (Sonis 2002; Logan, et al, 2007; Logan et al 2008; Chang et al, 2012).

Além disso, é importante ressaltar que a inflamação intestinal ocasionada pelo uso de quimioterápicos também é uma consequência da disbiose (Von Bültzingslöwen et al, 2003; Stringer, et al 2008). Os medicamentos quimioterápicos alteram a microbiota e a integridade da barreira intestinal, devido ao aumento da apoptose das criptas e da atrofia das vilosidades intestinais, resultando no aumento da permeabilidade intestinal e, consequentemente para o dano tecidual (Keefe et al, 2000; Melichar, Zezulová 2011)

1.4. Uso de probióticos como alternativas de tratamento da mucosite intestinal: Kefir de leite

Devido às complicações do uso de quimioterápicos e seus significativos efeitos adversos, incluindo a mucosite, a busca por alternativas que minimizam este impacto e melhoram a qualidade de vida do paciente vem crescendo constantemente. O tratamento usual da mucosite consiste na administração de drogas analgésicas e no uso de antibióticos (Carvalho RDO et al, 2017). Além do mais, devemos destacar que, devido a mucosite, o tratamento quimioterápico pode ser interrompido ou alterado, o que pode agravar ainda mais o quadro clínico do paciente e impactar negativamente sua qualidade de vida (Keefe et al, 2014).

Atualmente, estudos sugerem o uso produtos naturais, alguns peptídeos e probióticos para diminuir a toxicidade dos quimioterápicos, podendo ser utilizados na prevenção e no tratamento da mucosite (Lee JM et al, 2019; Yeung CY et al, 2020; Cuba LF et al, 2020). Os probióticos têm ganhado destaque devido a todos seus benefícios para a saúde humana, principalmente no trato

gastrointestinal, promovendo a eubiose e mantendo a integridade da mucosa (Khailova L et al, 2009; Miknevicius P et al, 2021; Camilleri M 2021).

Os probióticos são definidos como microrganismos que, quando administrados em quantidades adequadas promovem benefícios à saúde humana (Touchefeu et al, 2014). Atualmente, é evidenciado que o seu uso promove melhora da microbiota intestinal, da absorção de nutrientes e do sistema imunológico, além de apresentar propriedades preventivas de cânceres, anti-hipertensivas, gastroprotetoras, neuroprotetoras, entre outras (Hirayama, Rafter, 2000; Shi LH et al, 2016; Wang et al, 2020). Normalmente, essas propriedades são devidas às cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* presentes na maioria dos probióticos estudados (Ataie-Jafari A et al, 2009; Friques AG et al, 2015).

O uso de probióticos, atua principalmente sobre o TGI através da adesão celular, aumento da produção de mucina e a modulação do sistema imunológico (Plaza-Diaz et al 2019). Além disso, as cepas probióticas podem atuar por competição de patógenos e produção de bacteriocina (peptídeos antimicrobianos que impedem o crescimento de alguns patógenos como *Helicobacter*, *C. difficile* e *rotavírus*) (Bermudez-Brito et al, 2012; Kumar et al, 2016). Outro mecanismo pelo qual os probióticos promovem benefícios à saúde humana é através do aumento da produção de substâncias benéficas, como os ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs) (acetato, propionato e butirato) que estão relacionados com a melhora da função da barreira intestinal (Liu et al, 2021).

O kefir de leite é um probiótico que vem ganhando muito destaque na comunidade científica devido aos seus benefícios. É uma bebida láctea fermentada através dos grãos de kefir. Originado do Cáucaso, tradicionalmente os grãos são doados de pessoa para pessoa e o seu consumo, para o povo Caucasiano, estava associado ao “sentir-se bem” e relacionado ao aumento da expectativa de vida de quem consumia. A palavra kefir origina-se da língua eslava, no qual keif significa bem-estar (Farak et al, 2020).

Os grãos de kefir se assemelham a aparência de couve-flor ou pipoca, apresentam uma textura gelatinosa e esbranquiçada e o seu tamanho é variado. Os grãos são compostos por uma mistura de microrganismos, incluindo bactérias ácido-láticas e ácido-acéticas, além de leveduras, envolvidas por uma matriz de polissacarídeo denominada *kefiran* (Friquez et al, 2015; Rosa et al, 2017; González-Orozco et al, 2022). O iogurte de kefir é uma bebida com pH ácido (cerca de 4,6) e apresenta um leve teor alcoólico, variando entre 0,5% a 2% de etanol (González-Orozco et al, 2022). Além disso, o kefir de leite contém uma variedade de nutrientes, como vitaminas, proteínas, lipídios e minerais que contribuem para os seus benefícios à saúde (Prado et al, 2015; Farag et al, 2020).

Atualmente, o consumo diário do kefir de leite tem sido associado a diversos benefícios cientificamente comprovados, incluindo efeitos gastroprotetores, neuroprotetores e cardioprotetores (Barboza KRM et al, 2018; Ton et al, 2020; Lemos et al, 2021). Esses benefícios estão principalmente relacionados a modulação da microbiota intestinal pelo kefir de leite, no qual promove um aumento de bactérias benéficas (*Lactobacillus*, *Lactococcus* e *Bifidobacterium*), e uma redução de bactérias patogênicas (*Proteobacteria* e *Enterobacteriaceae*) (Carasi et al, 2015; Kim, Jeong, Kim, Seo, 2019; Kim, et al, 2015). O *kefiran* contribui com esses benefícios, através das suas propriedades bifidogênicas e estimulando a produção de muco por meio do aumento de células caliciformes (Hamet et al, 2016).

Em relação a mucosite intestinal, os probióticos atuam como protetores da mucosa gástrica, minimizando os danos ao TGI (Miknevicius et al, 2021). Esses efeitos estão relacionados por meio da preservação do tecido gástrico, da redução da permeabilidade intestinal, da diminuição da inflamação, do estresse oxidativo e da apoptose, contribuindo assim para diminuição dos efeitos clínicos, como perda de peso e diarreia (Bowen et al, 2007; Wada et al, 2010; Bastos et al, 2016; Yeung et al, 2015; Justino et al, 2015; Mi et al, 2017).

2. JUSTIFICATIVA

A quimioterapia é tratamento oncológico amplamente utilizado no combate ao câncer, no entanto resulta em graves efeitos adversos, com a mucosite intestinal sendo uma das complicações mais comuns. Devido à sua alta toxicidade às células do TGI, a quimioterapia pode causar lesões severas na mucosa gástrica, o que compromete qualidade de vida dos pacientes e pode levar à interrupção do tratamento. Devido a esses fatores, a busca por alternativas que possam prevenir o desenvolvimento da mucosite é de considerável importância.

Os probióticos são uma dessas alternativas promissoras, com benefícios conhecidos para a saúde do TGI. Entre os probióticos, o Kefir de leite tem se destacado por suas propriedades probióticas e prebióticas, que contribuem para manter o equilíbrio da microbiota intestinal. O kefir de leite tradicional, um produto fermentado que contém uma rica combinação de bactérias e leveduras. É uma opção de baixo custo e pode ser consumido várias formas, o que torna acessível para muitos pacientes. No entanto, o sabor amargo poderá ser um desafio para os pacientes. O kefir comercial é disponível em cápsulas que contêm uma rica combinação de bactérias probióticas e oferece a vantagem e a praticidade na adesão do tratamento, embora o seu custo seja mais elevado em comparação com o kefir de leite tradicional.

O kefir de leite, devido aos seus componentes, demonstra ter propriedades benéficas para a saúde intestinal, com melhora na microbiota intestinal, na diminuição da inflamação e do estresse oxidativo. Esse efeito enteroprotetor pode desempenhar um papel importante na proteção da mucosa gástrica contra danos induzidos por quimioterápicos. Para elucidar melhor os mecanismos pelos quais o kefir exerce esses efeitos, investigamos seus benefícios em modelo experimental. Essa pesquisa, portanto, é fundamental para evidenciar a ação dos probióticos e proporcionar uma compreensão mais aprofundada dos estudos clínicos. Assim, o uso de kefir de leite, seja na forma tradicional ou comercial, pode oferecer uma abordagem eficaz para reduzir os efeitos adversos da quimioterapia e melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito enteroprotetor do kefir de leite em modelo experimental de mucosite intestinal induzida por 5-Fluorouracila

3.2. Objetivos específicos

Avaliar a ação do kefir de leite sobre:

- Índice da doença (DAI);
- Motilidade intestinal;
- Permeabilidade intestinal;
- Produção de ROS de células intestinais;
- Apoptose de células intestinais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Para este estudo foram utilizados camundongos machos da linhagem Balb/c, com peso corporal de 20 a 25g, originados do biotério da Universidade Vila Velha (UVV) e mantidos em gaiola, com no máximo 05 animais, com água e comida à vontade e respeitando o ciclo claro/escuro (12h/12h). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA UVV: N° 644-2023) e os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes de cuidados recomendados pelo *National Institutes of Health*.

4.1. Preparação e administração do kefir de leite

A preparação do kefir de Leite foi realizada no Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Transacional da Universidade Vila Velha (LFFT-UVV). Os grãos foram incubados com leite integral UHT (*Ultra Hight Temperature*) na concentração de 4% (m/v) e mantidos em temperatura ambiente por 24 horas, depois foram coados e seu produto mantido por mais 24 horas a 4°C. Por fim, foram separadas alíquotas de 1 ml em microtubos e congeladas a -20°C (Figura 6) (Friques et al, 2015). Os gêneros presentes no kefir são: *Acetobacter spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Leuconostoc spp.* e *Candida spp.*, (7,5 10⁷ UFC/mL) (Côco et al, 2023).

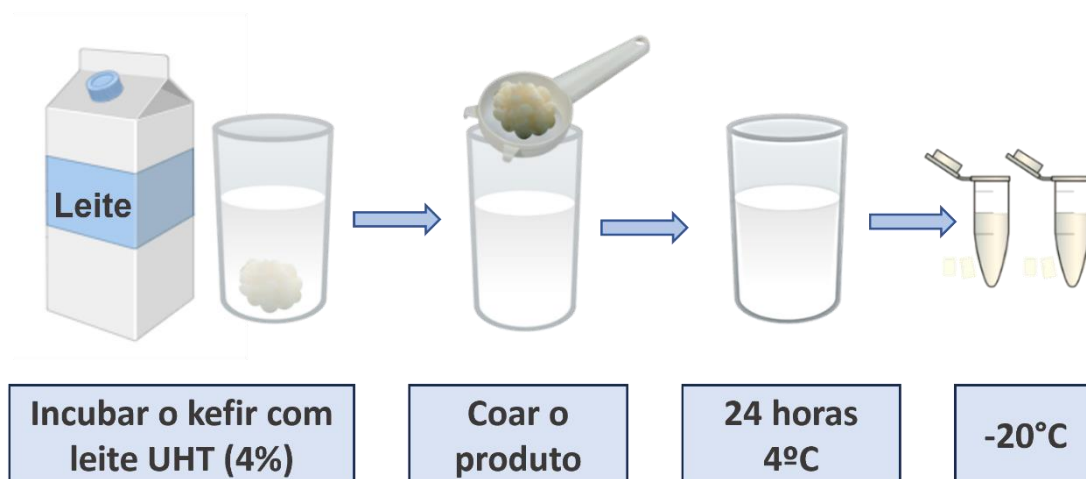


Figura 6: Preparo do leite fermentado do kefir que será utilizado no projeto de pesquisa (Criado por smart.servier.com).

A cápsula utilizada no presente trabalho é da Active Kefir e contém as seguintes espécies: *Bifidobacterium longum* BL986, *Lactobacillus acidophilus* LA1063, *Lactobacillus fermentum* LF26, *Lactobacillus helveticus* LH43, *Lactobacillus Paracasei* LPC12, *Lactobacillus rhamnosus* LRH10 e *Streptococcus thermophilus* ST30. A cápsula foi diluída no leite UHT acidificado (pH 5).

4.2. Desenho experimental e indução de mucosite intestinal

A indução de mucosite intestinal foi realizada de acordo com Li et al (2017). O estudo foi dividido em quatro grupos:

- **Controle:** Recebeu leite acidificado (pH 5) UHT (0,3mL/100g) por via oral, e nos dias 6, 7 e 8, recebeu salina (0,9%) intraperitoneal.

Os demais grupos abaixo receberam 50mg/kg de 5-FU por via intraperitoneal nos dias 6, 7 e 8 dos tratamentos:

- **5-FU:** Recebeu leite acidificado (pH 5) UHT (0,3mL/100g) por via oral.
- **5-FU + KT:** Recebeu kefir de leite tradicional (0,3mL/100g) por via oral.

- **5-FU + KC:** Recebeu kefir de leite comercial (10^7 UFC) por via oral.

O tratamento foi iniciado 05 dias antes do primeiro dia de indução da mucosite e durou 11 dias. No décimo segundo dia, os animais foram eutanasiados com tiopental (150mg/kg) e as amostras de sangue e intestino foram coletadas (Figura 7).

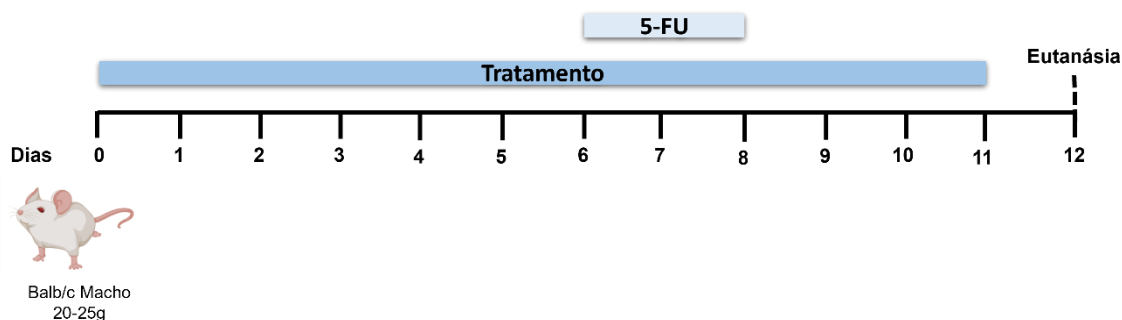


Figura 7: Desenho experimental dos dias de tratamento e indução da mucosite intestinal.

4.3. Índice da atividade doença (DAI)

O DAI é uma medida baseada nos sintomas e sinais clínicos da doença, incluindo perda de peso, consistência das fezes, presença de dor e alterações no comportamento dos animais. No presente estudo, o DAI foi avaliado diariamente conforme descrito na tabela 1 (Bueno et al, 2022).

Tabela 1: Índice da atividade da doença

Observações	Escore
Aparência visual	0: normal (Pelo liso e brilhante, olhos+boca limpos, olhos claros e brilhantes) 1: moderado (pelo um pouco desorganizado) 2: moderado (pele desorganizado, olhos+boca não limpos)

	3: médio (pelo sujo e áspera, olhos/boca/ânus sujos) 4: elevado (olho/boca/ânus com crostas, postura anormal)
Comportamento/Atividade	0: normal (Contato social, interessado, dorme em grupo, reage ao toque) 1: moderado (interesse reduzido em relação aos outros animais do grupo) 2: moderado (atividade atrasada quando a gaiola é mexida) 3: médio (inativo, isola-se do grupo) 4: elevado (mobilidade reduzida)
Dor	0: normal (sem sinais de dor) 1: baixo (contrações abdominais raras, mas existentes, ativo em grupo, subida normal) 2: moderado (padrão de marcha ligeiramente alterado, espasmos abdominais raros, postura curvada não permanente) 3: médio (padrão de marcha alterado, contrações abdominais mais frequentes, padrão respiratório alterado) 4: elevado (contrações abdominais frequentes, pelo áspero, temperatura corporal diminuída, respiração elevada)
Perda de peso (%)	0: estável/ganhando 1: perda de peso <5% 2: perda de peso 5-10% 3: perda de peso 11-15% 4: perda de peso 16-19% 5: perda de peso ≥ 20%
Consistência fecal	0: normal (pellet normais)

	1: muito moderado (pellet moderadamente macio)
	2: moderado (pellet macio, mas granulado)
	3: médio (pellet solto, manchado)
	4: elevado (pellet sem fezes ou completamente líquido)
Sangue nas fezes	0: normal (sem sangue nas fezes)
	1: moderado (vestígios de sangue isolados nas fezes)
	2: moderado (sangue nas fezes claramente visível)
	3: médio (sangue isolado na gaiola visível)
	4: elevado (sangue na gaiola claramente visível)
Score total	

4.4. Motilidade intestinal:

Para avaliação da motilidade intestinal os animais foram submetidos a um período de jejum de 16h, após receberam por via oral 10% de carvão ativado diluído em 5% de goma arábica. Após 30 minutos, os animais foram eutanasiados com tiopental (150mg/kg), o intestino delgado e o grosso foram removidos e colocados sobre uma placa de vidro com papel milimetrado e fotografado e medido através do *software ImageJ* (Domínio público). Foi calculado a porcentagem que o carvão ativado percorreu através da seguinte fórmula: Motilidade intestinal (%) = [(comprimento GI total - distância de trânsito do carvão ativado) / comprimento GI total] × 100 (Kim, et al 2022).

4.5. Permeabilidade intestinal:

A avaliação da permeabilidade intestinal foi realizada através da administração de FITC-dextrano (4-kDa). Após o último dia de tratamento, os

animais foram mantidos em jejum por um período de 16 horas e após foi administrado 600mg/kg de FITC-dextrano via oral. Após 2 hora, os animais foram eutanasiados com tiopental (150mg/kg), e o sangue foi coletado e centrifugado a 7200G por 10 minutos. O plasma foi analisado para determinar a concentração de FITC através do espectrofotômetro (Spectra-MAX-190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) com comprimento de onda de excitação de 485nm e de emissão de 528nm. Os resultados foram expressos através da curva padrão (pg/ml de FITC-Dextrano) (Volynets et al, 2015; Woting et al, 2018).

4.6. Isolamento de células epiteliais do intestino delgado

Após eutanásia, o jejuno foi removido, aberto e lavado com solução de PBS gelado. Em seguida, o intestino foi incubado com DEMEN e o epitélio intestinal foi cuidadosamente raspado com auxílio de uma pinça. As células foram filtradas através de uma malha de separação de celular, centrifugadas a 200G durante por 10 minutos, suspensas em solução de armazenamento e congeladas para as análises posteriores. Protocolo adaptado de Kraynak et al (2015).

4.7. Produção de H₂O₂ de células isoladas do intestino

A análise do estresse oxidativo das células isoladas do jejuno foi realizada utilizando o citômetro de fluxo FACSCanto II (*Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, EUA*). Os parâmetros de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foram quantificados através do marcador 2',7'-diacetato de diclorofluoresceína (DCFH-DA). Para isso, as células foram incubadas com 20 µmol/L de DCFH-DA por 30 minutos a 37°C, e as amostras foram analisadas até atingir 1000 eventos. Todo o experimento foi realizado em ambiente escuro. O programa utilizado para aquisição dos dados foi *FCS Express Software* (Côco et al, 2023).

4.8. Apoptose de células isoladas do intestino

A determinação de apoptose celular foi realizada através do citômetro de fluxo FACSCanto II (*Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, EUA*). As células foram ressuspensas em solução tampão e incubadas com anexina V e iodeto de propídio (PI) por 15 minutos a 37°C. A análise foi realizada utilizando os marcadores anexina V conjugada a fluoresceína e o corante intracitoplasmático PI, através do kit comercial (*FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I, BD Pharmingen, Becton Dickinson, USA*). Os dados foram quantificados utilizando o *software FCS Express*, e a porcentagem de células positivas foi avaliada (Côco et al, 2023).

4.9. Determinação de citocinas plasmáticas

A determinação plasmática da citocina anti-inflamatória (IL-10) e das citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-12, INF- γ , TNF- α) foram realizadas utilizando o citômetro de fluxo FACSCanto II (*Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, EUA*), conforme as instruções do kit *Cytometric Bead Array Mouse BD Biosciences*. Os dados foram analisados usando os *softwares FACSDiva (BD)* e *FCAP Array (BD)*, e as concentrações de citocinas foram determinadas a partir da curva padrão de citocinas utilizando o *software FCAP Array (BD)*. Os resultados foram expressos em pg/ml (Côco et al, 2023).

4.10. Análise estatística

O teste de normalidade foi avaliado utilizando teste de Kolmogorov-Smirnov. Para análise do DAI utilizamos ANOVA duas vias, seguido de teste *post hoc* de Tukey. Para os demais testes foram utilizados ANOVA uma via, seguida pelo teste *post hoc* de Tukey. Foi utilizado o *software Prism (Prism 8.0, GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA)*. Os resultados foram expressos

como média $\pm$ EPM e as diferenças serão consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Efeitos da administração do kefir de leite sobre os sinais e sintomas clínicos da mucosite intestinal

A avaliação do DAI foi realizada diariamente, como demonstrado na figura 8. Observou-se que, a partir do terceiro dia de indução da mucosite intestinal, os animais começaram a manifestar sinais e sintomas clássicos de mucosite intestinal. No nono dia de tratamento, a administração do kefir de leite tradicional (grupo 5-FU + KT) reduziu o DAI, contudo, esses resultados não foram consistentes nos dias subsequentes. Por outro lado, no grupo experimental tratado com kefir de leite comercial (grupo 5-FU + KC), observou-se uma diminuição do DAI no décimo primeiro dia, quando comparado com o grupo 5-FU.

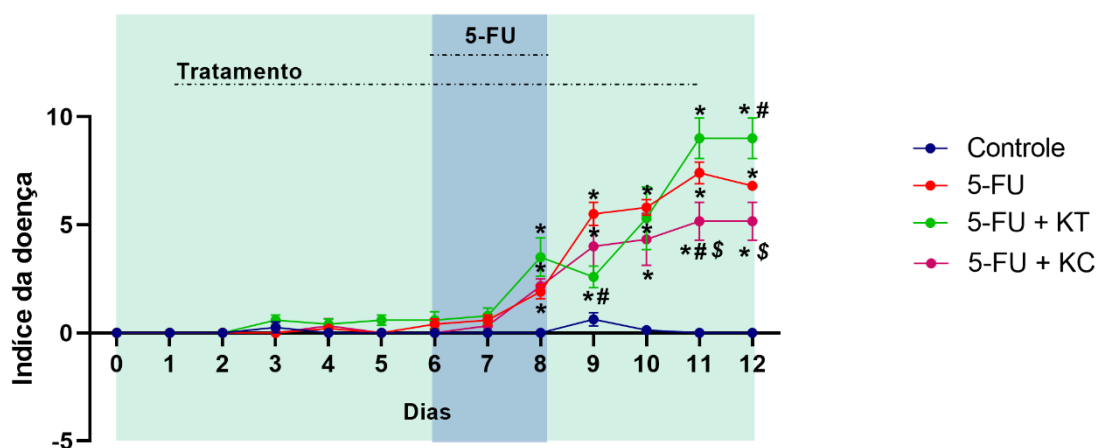


Figura 8: Índice da doença (DAI) da mucosite intestinal avaliado em camundongos divididos em quatro grupos: Controle, 5-FU, 5-FU + KT e 5-FU + KC. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. * $p < 0.05$ vs. Controle. # $p < 0.05$ vs. 5-FU. \$ $p < 0.05$ vs. 5-FU + KT (ANOVA-duas vias, seguido de post hoc de Tuckey).

Foram avaliados dois parâmetros do DAI isoladamente: perda de peso (figura 9) e consistência fecal (figura 10). Em relação à porcentagem de perda de peso, observou-se que os grupos experimentais 5-FU + KT apresentou

recuperação no décimo segundo dia e o grupo 5-FU + KC apresentou recuperação a partir do décimo primeiro dia. Em relação a consistência fecal dos grupos experimentais, notou-se que a administração de kefir de leite tradicional (5-FU + KT) e comercial (5-FU + KC) resultou em uma diminuição no escore da consistência fecal, quando comparado com o grupo 5-FU. No entanto, no décimo segundo dia, não houve diferença entre os grupos 5-FU, 5-FU + KT e 5-FU + KC.

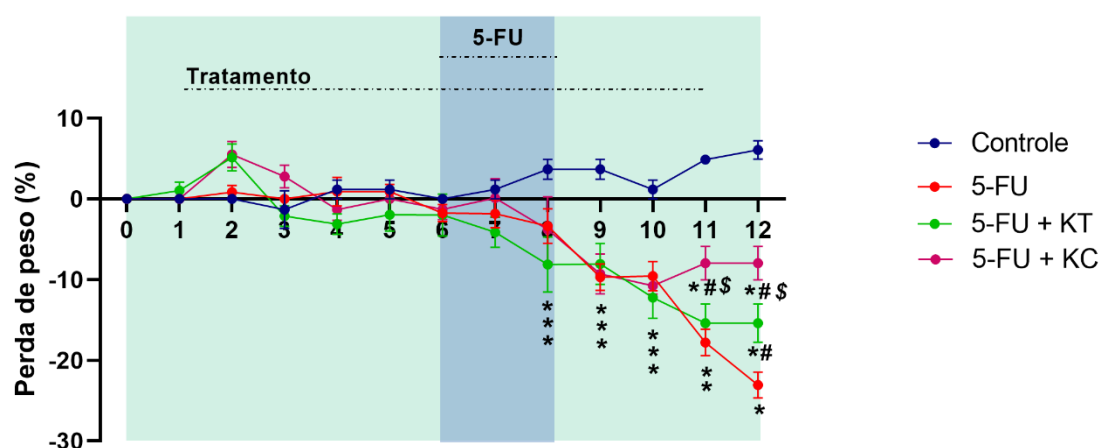


Figura 9: Avaliação diária da porcentagem da perda de peso. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. * $p < 0.05$ vs. Controle. # $p < 0.05$ vs. 5-FU. \$ $p < 0.05$ vs. 5-FU + KT (ANOVA-duas vias, seguido de post hoc de Tuckey).

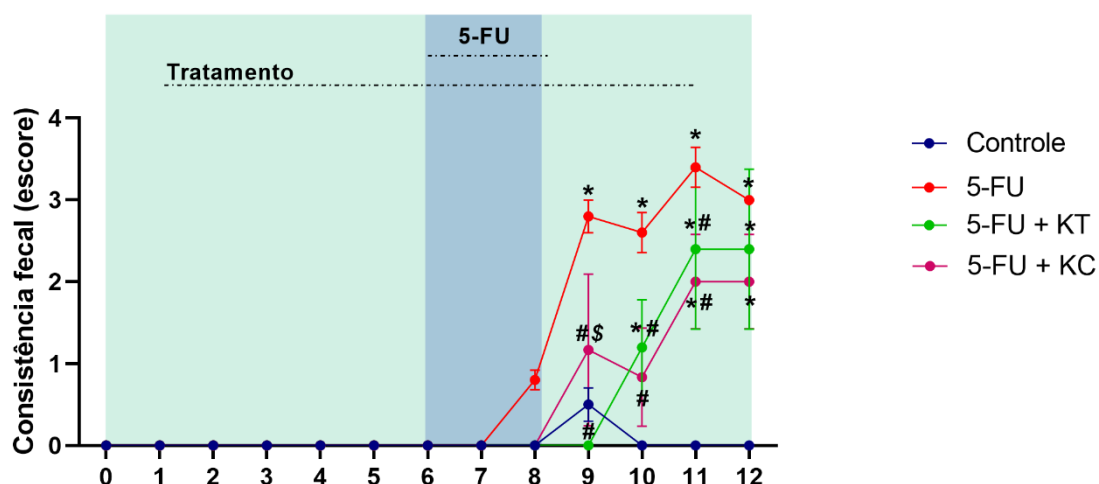


Figura 10: Avaliação diária da consistência fecal. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. * $p < 0.05$ vs. Controle. # $p < 0.05$ vs. 5-FU. \$ $p < 0.05$ vs. 5-FU + KT (ANOVA-duas vias, seguido de post hoc de Tuckey).

5.2. Efeito da administração do kefir de leite sobre a motilidade intestinal e permeabilidade intestinal

Investigamos os efeitos do kefir de leite tradicional e comercial sobre a motilidade (Figura 11 A) e permeabilidade intestinal (Figura 11 B). A indução de mucosite intestinal, bem como os respectivos tratamentos, não foram capazes de alterar significativamente a motilidade intestinal (Controle: $35,74 \pm 22,74$ %; 5-FU: $52,43 \pm 8,50$ %; 5-FU + KT: $44,04 \pm 6,75$ %; 5-FU + KC: $43,30 \pm 5,98$ %) e permeabilidade intestinal (Controle: $0,55 \pm 0,25$ ng/ml; 5-FU: $1,0 \pm 0,39$ ng/ml; 5-FU + KT: $0,81 \pm 0,25$ ng/ml; 5-FU + KC: $0,76 \pm 0,13$ ng/ml) dos grupos experimentais.

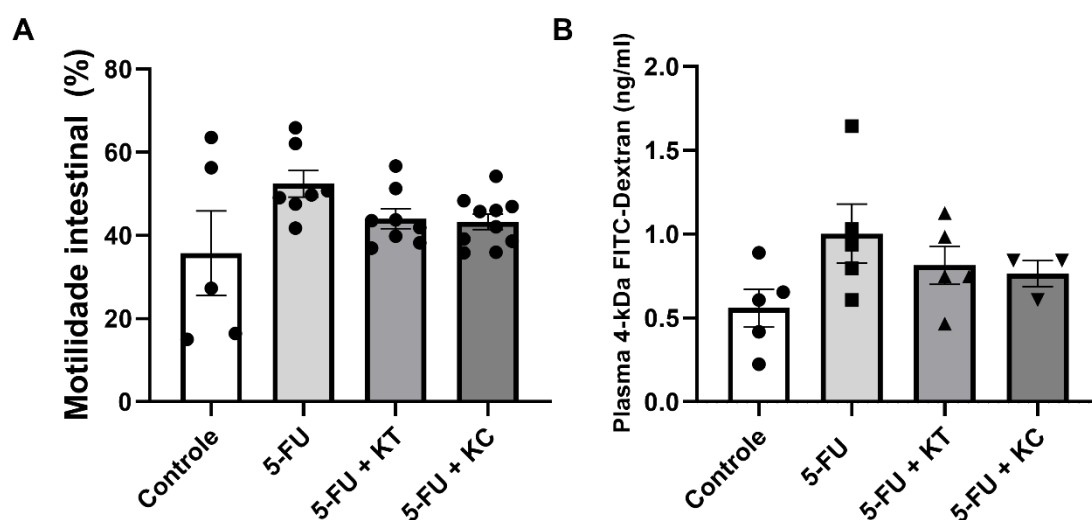


Figura 11: Avaliação da motilidade (A) e permeabilidade (B) intestinal dos grupos experimentais. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA-duas vias, seguido de post hoc de Tuckey.

5.3. Efeito da administração do kefir de leite sobre a produção de H_2O_2 e apoptose de células isoladas do jejuno

Na figura 12 (A e B) demonstra-se os efeitos antioxidantes e antiapoptóticos dos grupos experimentais. Observou-se que a mucosite intestinal aumentou a produção de H_2O_2 e apoptose (DCF: 5-FU $2632 \pm 397,2$ a.u.; Apoptose: $3,217 \pm 0,1115$ %) em células isoladas do jejuno em comparação com o grupo controle (DCF: $1661 \pm 246,0$ a.u.; Apoptose: $2,26 \pm 0,49$ %). Em relação aos tratamentos, foi possível observar que estes reduziram os níveis de H_2O_2 (5-FU + KT: $1089 \pm 151,2$ a.u.; 5-FU + KC: $1362 \pm 271,6$ a.u.) e apoptose (5-FU + KT: $1,71 \pm 0,10$ %; 5-FU + KC: $1,59 \pm 0,39$ %) quando comparados com o grupo 5-FU, demonstrando assim o potencial efeito antioxidante e antiapoptótico do kefir de leite.

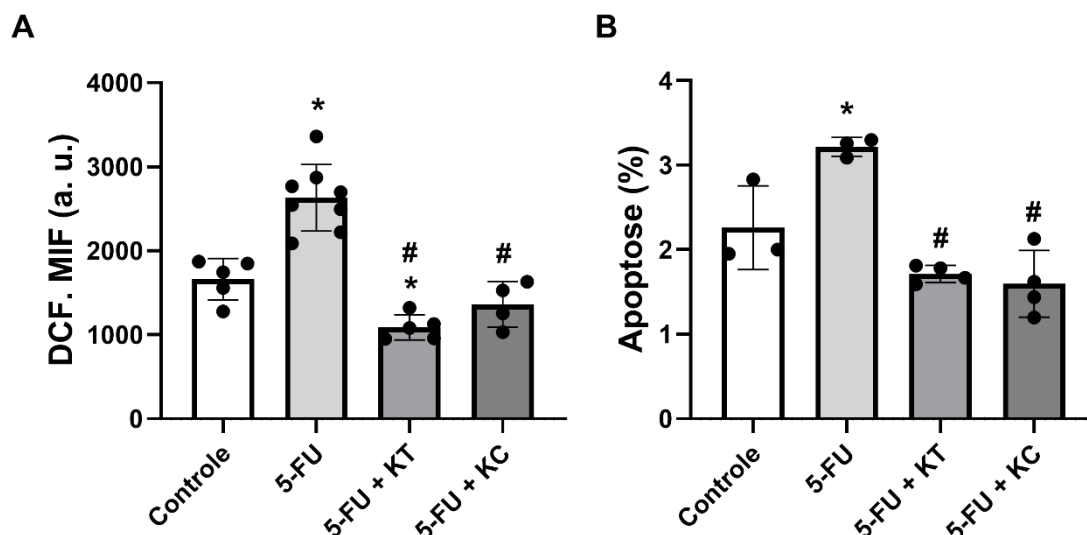


Figura 12: Análise da produção das ROS H₂O₂ (A) e apoptose de células isoladas do jejuno. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. *p < 0.05 vs. Controle. #p < 0.05 vs. 5-FU (ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey).

5.4. Efeito da administração do kefir de leite sobre a produção de citocinas plasmáticas

Observou-se na tabela 2 que a indução de mucosite intestinal e seus respectivos tratamentos não alteraram os níveis plasmáticos de IL-12, IL-6 e IL-10 em comparação com grupo controle. No entanto, o grupo 5FU + KC apresentou níveis reduzidos de IL-6 em comparação com o grupo 5-FU. Em relação aos níveis plasmáticos de TNF- α a mucosite intestinal foi capaz de aumentá-los, e os tratamentos não conseguiram reduzi-lo. Além disso, foi observado um aumento dos níveis de TNF- α no grupo 5-FU + KC em relação ao grupo 5-FU. A única citocina inflamatória que apresentou aumento na produção devido à mucosite intestinal foi INF- γ , quando comparado com o controle. No entanto os tratamentos não foram capazes de atenuar seus níveis.

Tabela 2: Nível sistêmico das citocinas IL-12, TNF- α , INF- γ e IL-6 e IL-10:

Grupos	IL-12	TNF- α	INF- γ	IL-6	IL-10
Controle	168,3 $\pm$ 0,06 pg/ml	139,9 $\pm$ 7,14 pg/ml	11,86 $\pm$ 1,13 pg/ml	155,1 $\pm$ 3,38 pg/ml	486,0 $\pm$ 38,95 pg/ml
5-FU	185,7 $\pm$ 18,34 pg/ml	182,9 $\pm$ 10,38 pg/ml*	16,19 $\pm$ 2,82 pg/ml*	176,9 $\pm$ 17,84 pg/ml	495,0 $\pm$ 24,22 pg/ml
5-FU + KT	199,4 $\pm$ 31,27 pg/ml	210,5 $\pm$ 15,71 pg/ml*	13,46 $\pm$ 0,83 pg/ml	171,4 $\pm$ 9,89 pg/ml [#]	538,6 $\pm$ 61,70 pg/ml
5-FU + KC	179,4 $\pm$ 12,01 pg/ml	222,0 $\pm$ 27,04 pg/ml* [#]	14,74 $\pm$ 2,95 pg/ml	217,2 $\pm$ 23,49 pg/ml**\$	509,9 $\pm$ 39,29 pg/ml

*p < 0.05 vs. Controle. #p < 0.05 vs. 5-FU. \$p < 0.05 vs. 5-FU + KT (ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey).

6. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que os pré-tratamentos com kefir de leite tradicional e comercial não foram capazes de reduzir o índice geral da doença em animais com mucosite intestinal induzida com 5-FU. No entanto, ao avaliar parâmetros específicos, observamos que a administração dos probióticos foram eficazes em reduzir a perda de peso e melhorar a consistência fecal dos animais. Além disso, nossos resultados mostraram que a mucosite intestinal aumentou o nível de estresse oxidativo e apoptose nas células epiteliais do jejuno no grupo 5-FU, enquanto os tratamentos com kefirs diminuíram esses níveis. Em relação a inflamação, não observamos respostas anti-inflamatórias sistêmicas significativas decorrentes dos tratamentos.

A mucosite intestinal é uma condição clínica que acomete grande parte dos pacientes que utilizam tratamento quimioterápico e que reduzem muito a qualidade de vida, podendo ser um fator crucial para a interrupção do tratamento (Dahlgren et al, 2021). Essa condição está relacionada com aumento da inflamação na mucosa do intestino, principalmente no jejuno, devido a apoptose de células epiteliais, resultando em dor, náuseas, diarreia, redução do peso corporal e dependendo de a gravidade evoluir para uma infecção generalizada (Dahlgren et al, 2021; Li et al, 2022). Portanto, terapias alternativas que podem ser utilizadas como prevenção e tratamentos devem ser buscadas.

O DAI, é uma ferramenta utilizada para avaliar a gravidade e a progressão de condições clínicas, como a mucosite intestinal. No presente estudo, a administração de 50mg/kg de 5-FU por 3 dias aumentou significativamente o DAI, destacando-se pelo aumento da perda de peso corporal e alteração da consistência fecal. A administração de kefir de leite tradicional, não foi capaz de reduzir o escore total do DAI, enquanto o kefir de leite comercial mostrou uma redução no dia décimo primeiro dia de tratamento. Esses achados podem estar relacionados com a composição bacteriana dos kefirs utilizados. Uma das espécies encontradas no kefir comercial utilizado neste estudo é o *Streptococcus thermophilus*. Um estudo realizado por Shen e colaboradores (2021)

demonstraram que a administração isolada dessa espécie (5×10^8 UFC/dia de *Streptococcus thermophilus*) no mesmo modelo experimental resultou em melhorias significativas na mucosite intestinal, evidenciadas pela redução de peso corporal, melhora do apetite e diminuição da diarreia.

O uso de probióticos, principalmente compostos por bactérias do gênero *Lactobacillus* está relacionado com melhora significativa na prevenção e no tratamento de diarreia (Guarino et al, 2015; Wang et al, 2022). A presença de diarreia devido a mucosite intestinal resulta por sua vez na perda de peso devido à má absorção de nutrientes. No presente estudo evidenciamos que a prevenção através do uso dos probióticos, que contêm *Lactobacillus* na sua composição, foi capaz de prevenir o aumento da consistência fecal e, conseqüentemente, recuperar a perda de peso devido ao uso de quimioterápico. Esses dados corroboram com Yeung e colaboradores (2021), no qual evidenciaram que a administração de uma suspensão probiótica de *Lactobacillus*.

Alterações na motilidade e permeabilidade intestinal estão relacionadas com a mucosite intestinal. A motilidade intestinal refere-se aos movimentos dos músculos do trato gastrointestinal, enquanto a permeabilidade intestinal está relacionada com a capacidade da mucosa intestinal em atuar como uma barreira seletiva durante a absorção. Ambos são afetados pela inflamação do tecido. No presente trabalho não observamos alterações nesses parâmetros nos grupos experimentais. No entanto, alguns autores evidenciam que o uso de probióticos podem mediar o relaxamento da motilidade do cólon, como foi observado por Massi e colaboradores (2006) através da utilização dos gêneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*. Justino e colaboradores (2015) evidenciaram que a administração de *Lactobacillus acidophilus* reverteu as alterações induzidas pelo 5-FU na motilidade gastrointestinal, melhorando assim o trânsito intestinal e o esvaziamento gástrico e, conseqüentemente, a diarreia e a redução da perda de peso.

O tratamento quimioterápico causa danos na mucosa intestinal o que leva ao aumento da permeabilidade intestinal, favorecendo a inflamação tecidual

(Choi et al, 2007). Ferreira e colaboradores (2012) demonstraram que a administração de 200 mg/kg de 5-FU durante 3 dias antes da eutanásia aumentou a permeabilidade intestinal dos animais. Song, Park, Sung (2013) avaliaram a permeabilidade intestinal através da expressão das proteínas de junção, ocludina, claudina-1 e ZO-1 e observaram que a os animais que receberam 200 mg/kg de 5-FU foram significativamente reduzidas em comparação com os animais que receberam 100 mg/kg de 5-FU. No presente trabalho, utilizamos a dose de 50mg/kg durante 3 dias e não observamos alteração na permeabilidade intestinal dos grupos experimentais.

Durante a inflamação, as células imunes da mucosa intestinal produzem superóxido e óxido nítrico, aumentando assim a produção de ROS. Esse aumento altera a estrutura e a função do epitélio intestinal danificando as macromoléculas do tecido (Banan et al, 2000; Tian et al, 2017). A utilização de medicamentos quimioterápicos aumenta a produção de malondialdeído e peróxido de hidrogênio e diminuem a atividade antioxidante, através das enzimas glutathione peroxidase (GPx), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) (Rtibi et al, 2018). Os probióticos apresentam um forte potencial antioxidante. Estudos indicaram que os probióticos exercem efeitos antioxidantes através da diminuição das ROS ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical peroxinitrito/hidroxila e, através do aumento dos níveis de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase e catalase (St-Amant A, Bergdahl, 2023, Côco et al, 2023). No presente estudo evidenciamos que a mucosite intestinal aumenta os níveis de H₂O₂ nas células epiteliais do jejuno, enquanto a administração dos probióticos kefir de leite tradicional e comercial foram capazes de reduzir esses níveis. Estudo *in vitro* utilizando células Caco-2 demonstram que *Lactobacillus plantarum* exerceu efeito sobre a diminuição do estresse oxidativo (Levit et al, 2018). Outros estudos demonstram os efeitos benéficos do kefir de leite no tratamento da úlcera gástrica, reduzindo os níveis de ROS, incluindo ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical peroxinitrito/hidroxila, diminuindo consequentemente o dano ao DNA, a desnaturação de proteínas, a peroxidação lipídica e a apoptose celular (Barbosa et al, 2018; Côco 2023). As células do epitélio intestinal são altamente sensíveis

aos quimioterápicos. A apoptose celular devido a esses medicamentos contribuem com aumento da inflamação e, conseqüentemente com alterações estruturais no tecido (Hamouda et al, 2017). No presente trabalho, observamos que a mucosite intestinal induzida por 5-FU aumentou a porcentagem de células em apoptose, enquanto os tratamentos foram capazes de reduzir esse parâmetro. Um estudo conduzido por Côco e colaboradores 2023 evidenciaram que a administração de kefir de leite reduziu apoptose em células gástricas isoladas, em modelo experimental de úlcera gástrica por anti-inflamatório. Demonstrando assim, que o probiótico kefir tem efeito anti apoptótico no sistema gastrointestinal.

Bactérias da microbiota intestinal se ligam aos receptores Toll like, principalmente do tipo 2 e 4, ativando a sinalização do NF- κ B. Esse processo resulta na liberação de citocinas inflamatórias, como IL-6, IL-12, IL-1 β e TNF- α , iniciando uma resposta que contribui para o desenvolvimento da mucosite intestinal (López-Gómez et al, 2023). No presente trabalho, observamos que o kefir de leite tradicional e comercial não apresentaram resposta anti-inflamatória sistêmica. No entanto, outros autores evidenciaram efeitos anti-inflamatórios de probióticos na mucosite intestinal.

A administração do probiótico *Lactobacillus casei* durante 18 dias na indução de mucosite intestinal induzida por 5-FU reduziu a inflamação intestino delgado e grosso, diminuindo os níveis de TNF- α , IL-1 β , IL-6 (Barbosa et al, 2022). O uso de *Lactobacillus delbrueckii* diminui a expressão gênica de TLR-2, TLR-4, Myd88, NF- κ B, além de reduzir as citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e IL-1 β) e aumentar a citocina anti-inflamatória IL-10 (Barroso et al, 2022). Yeung e colaboradores (2015) investigaram a administração dos probióticos *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum* na melhoria da mucosite intestinal induzida por 5-FU (30 mg/kg/dia durante 5 dias) e observaram efeitos anti-inflamatórios através da redução das expressões de mRNA de TNF- α , IL-1 β e IL-6. Como mencionado acima, no presente trabalho não foram encontrados efeitos anti-inflamatórios. No entanto,

as cepas utilizadas no trabalho não foram as mesmas que mencionadas nos trabalhos acima, exceto *Lactobacillus rhamnosus* presente no kefir comercial.

É importante ressaltar que, embora os benefícios do uso do kefir tradicional e comercial possam não estar diretamente relacionados à modulação da resposta inflamatória, os probióticos utilizados oferecem soluções terapêuticas promissoras. Além de potencialmente, melhorar os sinais e sintomas clínicos associados a mucosite intestinal, o kefir de leite tradicional exerce efeitos antioxidantes e anti apoptótico ne epitélio da mucosa gástrica.

7. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram os benefícios do kefir de leite na prevenção da mucosite intestinal. A administração de kefir de leite tradicional e comercial reduziram a perda de peso e a diarreia. Além disso, os tratamentos foram eficazes em diminuir o estresse oxidativo e a apoptose em células do epitélio do jejuno, indicando um potencial efeito protetor e terapêutico para a saúde intestinal.

Capítulo 2

EFEITO DO TRATAMENTO DO KEFIR DE LEITE NA COLITE ULCERATIVA INDUZIDA POR DSS: EXPLORANDO OS SEUS MECANISMOS DE AÇÃO

8. INTRODUÇÃO

8.1. Doença inflamatória intestinal: Colite ulcerativa

A colite ulcerativa é uma doença inflamatória intestinal, idiopática e crônica que afeta a mucosa do colón e do reto (Ordás et al, 2018). Os principais sintomas envolvem dor abdominal, diarreia com ou sem a presença de sangue, perda de peso e falta de apetite (Silva, Pinto, Mateus, 2019). O desenvolvimento da doença vem aumentando consideravelmente em várias regiões do mundo, principalmente em países desenvolvidos, devido ao aumento da industrialização e o estilo de vida moderno (maior consumo de alimentos industrializados, sedentarismo, alcoolismo e estresse). Na América do Norte, a incidência da doença é de 8,8 a 23,1 por 100.000 habitantes. Na Europa, a incidência é de 0,6 a 24,3 por 100.000, e na Oceania, é de 7,3 a 17,4 a cada 10.000 habitantes (Du, Ha, 2020). Na região sudeste do Brasil, a prevalência de colite ulcerativa aumentou consideravelmente no período de 2001 a 2005, sendo de 14,81 casos por 100.000 habitantes (Victoria, Sassak, Nunes, 2009). No Estado do Espírito Santo, a prevalência da doença era de 24,1/100.000 em 2014 (Lima Martins, Volpato, Zago-Gomes, 2018; Quaresma, Kaplan, Kotze, 2019). Isso demonstra que a colite ulcerativa é uma doença com alta incidência e prevalência mundialmente, o que a torna um problema de saúde pública (Ng et al, 2017).

A colite ulcerativa é uma doença multifatorial (Kaser, Zeissig, Blumberg, 2010), envolvendo fatores genéticos e ambientais, sendo que a associação desses contribui significativamente para o desenvolvimento e a evolução da doença (da Silva et al, 2014; Du, Ha, 2020). Cerca de 5% dos pacientes portadores de colite ulcerativa têm algum parente de primeiro grau com a doença, no entanto esses dados estão diminuindo, pois o número de pacientes

desenvolvendo colite ulcerativa por fatores ambientais está aumentando consideravelmente (Ordás et al, 2018; Du, Ha 2020).

8.2. Mecanismo de ação e tratamento da colite ulcerativa

A fisiopatologia da colite ulcerativa envolve lesões celulares e moleculares que desencadeiam uma resposta imunológica ao organismo (Figura 13). A doença surge devido a danos na barreira intestinal, resultando no aumento da permeabilidade devido ao afrouxamento das proteínas de junção, o que facilita a entrada de bactérias nos tecidos e inicia uma resposta inflamatória (Zuo, Ng, 2018).

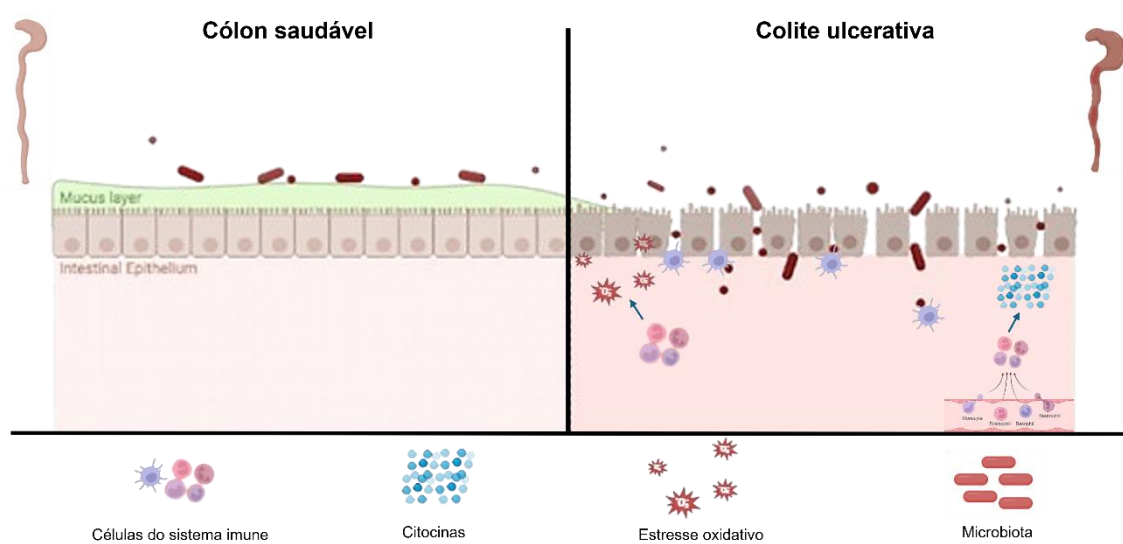


Figura 13: Fisiopatologia da colite ulcerativa. A figura ilustra à esquerda, a mucosa intestinal saudável, destacando a integridade da barreira intestinal e a presença de mucocitoprotetor. À direita, a mucosa com colite ulcerativa é exibida, evidenciando inflamação, estresse oxidativo, aumento da permeabilidade intestinal e diminuição da produção de mucocitoprotetor. Esses fatores contribuem para danos na barreira epitelial, permitindo a entrada de antígenos e patógenos, o que exacerba a resposta inflamatória.

A resposta do sistema imunológico é iniciada com a ativação de macrófagos e células apresentadoras de antígenos (APC) que inicia a liberação de quimiocinas para o recrutamento de neutrófilos. Em seguida, ocorre a diapedese, e os macrófagos começam a produzir citocinas, como TNF- α , IL-12, IL-23 e IL-6, resultando em uma polarização das células T auxiliares tipo 1 e tipo 17 (Th1 e Th17) (Zhang et al, 2023). Além disso, as IL-36 γ derivadas do epitélio inibem as células T reguladoras e induzem a polarização de células T auxiliares (Th9) que inicia a produção de IL-9 e IL-36, importantes na formação de fibrose tecidual. As células *natural killer* (NK) liberam IL-13, contribuindo para o comprometimento da barreira intestinal (Ordás et al, 2012; Ungaro et al, 2017; Kobayashi et al, 2020). Essa resposta inflamatória ativa a mieloperoxidase e induz a neoplasia tecidual. Além disso, o estresse oxidativo decorrente dessa resposta imunológica resulta no aumento de substâncias pró-oxidantes e diminuição de substâncias antioxidantes, contribuindo assim para danos em macromoléculas, como DNA, proteínas e lipídeos (Bourgonje et al, 2020).

O comprometimento da mucosa intestinal resultante da inflamação crônica pode levar a ocasionar efeitos deletérios do organismo. Deficiência nutricional, ocasionada pela má absorção e alterações na motilidade intestinal podem causar sintomas como diarreia crônica ou constipação, impactando na qualidade de vida do paciente. Outro aspecto importante a ser destacado é aumento da permeabilidade intestinal, que permite a passagem de toxinas e antígenos para a corrente sanguínea, desencadeando respostas inflamatórias sistêmicas e contribuindo para a progressão da doença. Isso pode ocasionar o desenvolvimento de efeitos extraintestinais que afetam diversas funções do organismo, incluindo cardiovasculares, neurais e hepáticos (Tian, Wang, Zhang, 2017; Bourgonje et al, 2020).

A doença é crônica e é caracterizada por períodos de exacerbação (com sintomas) e remissão (sem sintomas), sendo assim, o objetivo do tratamento é melhorar a qualidade de vida dos pacientes, minimizando os sintomas e a evolução da doença, ou seja, aumentando o tempo de remissão (Sairenji, Collins, Evans, 2017). A escolha do tratamento consiste em alguns fatores

relacionados a doença, como gravidade e extensão da doença, e ao paciente, como condições e estilo de vida. (Kayal, Shah, 2019). As abordagens terapêuticas para a colite ulcerativa visam reduzir a inflamação no cólon, promover a cicatrização da mucosa, melhorar a qualidade de vida dos pacientes, minimizando os sintomas, e mitigar a progressão da doença, incluindo colectomia e câncer colorretal (Sairenji, Collins, Evans, 2017).

Fatores como gravidade, evolução clínica, bem como condições e estilo de vida dos pacientes devem ser avaliados. Para colite leve e moderada, é utilizado preferencialmente ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) como primeira escolha e corticosteróides como segunda escolha (Ko et al, 2019). Anticorpos monoclonais representam os medicamentos de escolha para o tratamento da colite ulcerativa moderada a grave. Esses incluem infliximabe, adalimumabe e golimumabe, que são agentes anti-TNF- α , e vedolizumabe, que atua contra a glicoproteína $\alpha 4\beta 7$ da superfície celular em linfócitos B e células T (Kayal, Shah, et al, 2019). Em casos de colite ulcerativa grave, é utilizado corticosteróides, infliximabe e ciclosporina (Kayal, Shah. et al, 2019). A ciclosporina inibe diretamente a calcineurina, um componente da transcrição do gene das citocinas, e regula negativamente IL-2, IL-3, IL-4 e TNF- α (Kayal, Shah. et al, 2019).

Muitos pacientes não aderem ao tratamento devido a reações adversas que levaram à descontinuação da terapia. Apesar de serem terapias promissoras, ocorrem efeitos colaterais comuns com esses tratamentos. Os efeitos colaterais do 5-ASA incluem dor abdominal, febre e exacerbação da diarreia. Além de serem medicamentos de alto custo, os anticorpos monoclonais apresentam efeitos colaterais significativos, que incluem febre, erupção cutânea, hipotensão grave, anafilaxia e arritmias (Stawowczyk, Kawalec, 2017; Aslam et al, 2022).

8.3. Modelo experimental de colite ulcerativa induzida por *Dextran sulfate sodium* (DSS)

Devido ao aumento mundial da incidência de colite ulcerativa nos últimos anos, cresceu o interesse em estudar e evidenciar seus mecanismos e possíveis tratamentos para prolongar o tempo de remissão da doença. Atualmente, existem diversos modelos químicos para indução da colite ulcerativa, como o DSS (*Dextran sulfate sodium*), a oxazolona e o TNBS (2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic acid). Além disso, existem os camundongos geneticamente modificados (Wirtz et al, 2017).

O modelo experimental de indução de colite ulcerativa por DSS, desenvolvido por Okayasu e colaboradores em 1990, é o modelo químico mais utilizado devido a sua boa reprodutibilidade e rapidez na indução da doença. No entanto, seu custo é relativamente elevado. O DSS é um polissacarídeo sulfatado, carregado negativamente e solúvel em água, que é administrado nos animais através da água de beber (Chassaing et al, 2014). A eficácia da indução de colite depende de seu peso molecular do DSS, que geralmente varia entre 36-50 kDa. Embora o mecanismo de ação do DSS não seja completamente conhecido, sabe-se que ele atua como um colitogênio químico através das suas propriedades irritativas aos colonócitos e através da ação anticoagulantes. A carga negativa do DSS, resultante dos grupos sulfato, é tóxica para as membranas celulares dos colônicos, que também são carregadas negativamente, induzindo lesões que comprometem a integridade da barreira intestinal. Suas propriedades anticoagulantes agravam o sangramento intestinal. A inflamação intestinal, portanto, é resultado desse dano à monocamada epitelial, permitindo assim a interação de produtos do lúmen intestinal com a lâmina própria (Chassaing et al, 2014; Eichele et al, 2017).

8.4. Alternativas terapêuticas no tratamento da colite ulcerativa: Uso de probióticos

O uso de probióticos tem se tornado comum na prevenção e tratamento de doenças intestinais. Seus mecanismos incluem melhora da microbiota intestinal, preservação e reestruturação do epitélio intestinal, e redução nos

parâmetros de inflamação e do estresse oxidativo. Além disso, a administração de probióticos melhora dos sinais clínicos da doença, como perda de peso e diarreia (Liu et al, 2020; Hu et al, 2020; Leccese et al, 2020; Chen et al, 2021; Dong et al, 2022).

Em relação ao kefir de leite, a administração deste probiótico demonstrou uma melhora significativa na qualidade de vida dos pacientes e dos sinais e sintomas clínicos, que incluindo dor, distensão abdominal e diarreia. Além disso, a quantidade de *Lactobacillus* aumentou significativamente após o uso do kefir (Yılmaz, Dolar, Özpınar et al, 2019; Sevenscan et al, 2019).

9. JUSTIFICATIVA

A colite ulcerativa é uma doença inflamatória crônica que acomete o cólon, com alta incidência associada a fatores do estilo de vida moderno, e impacta significativamente a qualidade de vida dos pacientes. Caracteriza-se por ciclos de exacerbação, nos quais os sintomas clínicos são evidentes, e períodos de remissão, onde esses sintomas diminuem ou desaparecem. As terapias convencionais envolvem o uso de corticosteroides, anti-inflamatórios não esteroidais e agentes imunossupressores, que podem induzir efeitos colaterais adversos, comprometendo ainda mais a qualidade de vida do paciente.

Diante disso, torna-se crucial a exploração de tratamentos alternativos que possam ser capazes de prolongar os períodos de remissão e consequentemente, melhorar a qualidade de vida. O uso de probióticos, incluindo o kefir de leite, vêm se tornando uma opção promissora para o manejo da colite ulcerativa, demonstrando impacto positivo no prolongamento da remissão e na melhoria da qualidade de vida dos pacientes. Esse efeito enteroprotetor desempenha um papel importante na manutenção da barreira de proteção do colón.

Estudos experimentais e clínicos evidenciam esses benefícios através do aumento de *Lactobacillus*, da redução da inflamação e do estresse oxidativo e da melhora da integridade do tecido, principalmente com regulação da permeabilidade intestinal. No entanto, ainda é necessário investigar detalhadamente esses mecanismos pelos quais o kefir exerce esses efeitos. Para isso, vamos investigar seus benefícios em modelo experimental. Sendo assim, essa pesquisa é fundamental para evidenciar a ação dos probióticos no manejo da colite ulcerativa.

10. OBJETIVOS

10.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito do tratamento com kefir de leite no modelo experimental de colite ulcerativa induzida por DSS.

10.2. Objetivos específicos

Avaliar a ação do kefir de leite sobre:

- Índice da doença (DAI);
- Fenotipagem de células imunes do colón;
- Viabilidade, apoptose e necrose de células imunes do colón;
- Marcadores inflamatórios do colón;
- Marcadores de proliferação celular do colón;
- Proteína de junção do colón;
- Motilidade intestinal;
- Permeabilidade intestinal;
- Produção de ROS de células do epitélio do colón;
- Apoptose de células do epitélio do colón.

11. MATERIAIS E MÉTODOS

Para este estudo foram utilizados camundongas fêmeas da linhagem C57/BL6, com peso corporal de 20g, originados do Centro de Biomedicina Experimental da Universidade de Santiago de Compostela (CEBEGA), Espanha (estágio técnico-científico 75 dias) e da Universidade Vila Velha (UVV). Os animais foram mantidos em gaiola, com no máximo 05 animais, com água e comida à vontade e respeitando o ciclo claro/escuro (12h/12h). O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEBEGA e CEUA UVV: N° 673-2023) e os procedimentos experimentais serão realizados de acordo com as diretrizes de cuidados recomendados pelo *National Institutes of Health*.

11.1. Preparação da cápsula de kefir de leite

A capsula utilizada no presente trabalho é da Active Kefir e é composta pelas seguintes espécies *Bifidobacterium longum* BL986, *Lactobacillus acidophilus* LA1063, *Lactobacillus fermentum* LF26, *Lactobacillus helveticus* LH43, *Lactobacillus Paracasei* LPC12, *Lactobacillus rhamnosus* LRH10 e *Streptococcus thermophilus* ST30. A cápsula foi diluída em água destilada.

11.2. Desenho experimental e indução de colite ulcerativa

A indução de colite ulcerativa por DSS (1,55% a 1,9%) foi realizada de acordo com Conde J et al, 2021 (protocolo adaptado). O projeto foi dividido em 03 grupos: H₂O (Água + água destilada via oral), DSS (DSS + água destilada via oral) e DSS+Kefir (DSS + 10⁷ UFC de kefir de leite via oral). O tratamento foi iniciado cinco dias após o início da administração de DSS, conforme a figura 14. O índice da atividade da doença (DAI) foi avaliado diariamente. Após a eutanásia, amostras de baço, colón e fezes foram retiradas.

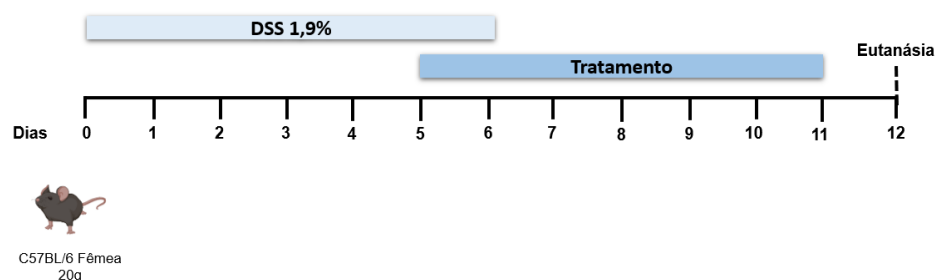


Figura 14: Desenho experimental da indução de colite ulcerativa e seu tratamento.

11.3. Índice da atividade doença (DAI)

O DAI é uma medida baseada nos sintomas e sinais clínicos da doença, incluindo perda de peso, consistência das fezes, presença de dor e alterações no comportamento dos animais. No presente estudo, o DAI foi avaliado diariamente conforme descrito na tabela 4 (Bueno et al, 2022).

Tabela 3: Índice da atividade da doença

Observações	Escores
Aparência visual	0: normal (Pelo liso e brilhante, olhos+boca limpos, olhos claros e brilhantes) 1: moderado (pelo um pouco desorganizado) 2: moderado (pele desorganizado, olhos+boca não limpos) 3: médio (pelo sujo e áspera, olhos/boca/ânus sujos) 4: elevado (olho/boca/ânus com crostas, postura anormal)
Comportamento/Atividade	0: normal (Contato social, interessado, dorme em grupo, reage ao toque) 1: moderado (interesse reduzido em relação aos outros animais do grupo)

Dor	2: moderado (atividade atrasada quando a gaiola é mexida) 3: médio (inativo, isola-se do grupo) 4: elevado (mobilidade reduzida) 0: normal (sem sinais de dor) 1: baixo (contrações abdominais raras, mas existentes, ativo em grupo, subida normal) 2: moderado (padrão de marcha ligeiramente alterado, espasmos abdominais raros, postura curvada não permanente) 3: médio (padrão de marcha alterado, contrações abdominais mais frequentes, padrão respiratório alterado) 4: elevado (contrações abdominais frequentes, pelo áspero, temperatura corporal diminuída, respiração elevada)
Perda de peso (%)	0: estável/ganhando 1: perda de peso <5% 2: perda de peso 5-10% 3: perda de peso 11-15% 4: perda de peso 16-19% 5: perda de peso ≥ 20%
Consistência fecal	0: normal (pellet normais) 1: muito moderado (pellet moderadamente macio) 2: moderado (pellet macio, mas granulado) 3: médio (pellet solto, manchado) 4: elevado (pellet sem fezes ou completamente líquido)
Sangue nas fezes	0: normal (sem sangue nas fezes)

	1: moderado (vestígios de sangue isolados nas fezes) 2: moderado (sangue nas fezes claramente visível) 3: médio (sangue isolado na gaiola visível) 4: elevado (sangue na gaiola claramente visível)
Score total	

11.4. Comprimento do colón e peso do baço

Após a eutanásia, o cólon foi removido e posicionado sobre uma placa de vidro com um padrão de medida (régua), onde foi fotografado. Em seguida, o baço foi removido e pesado.

11.5. Isolamentos das células imunes do colón

Os linfócitos da lâmina própria (LPLs) foram isolados do cólon dos animais conforme descrito por Conde J et al (2021). O tecido foi removido e cortado em pedaços de aproximadamente 0,5 mm³ e incubados com HBSS/EDTA 2 mM por a 37°C sob agitação de 300 rpm, por 15 minutos. Após, o tecido foi lavado com HBSS e novamente incubados em HBSS/EDTA 2 mM por 30 minutos a 37°C em agitação de 300 rpm. Posteriormente, o tecido foi digerido usando um tampão de digestão contendo dispase (0,6 mg/ml) e collagenase IV (0,4 mg/ml) por 20 minutos a 37°C sob agitação a 300 rpm. O tecido foi homogeneizado usando uma seringa e agulha 18G, filtrado através de um filtro de células de 70µm e centrifugado a 1500 rpm durante 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e as células ressuspendidas em PBS. As células foram centrifugadas novamente a 1500 rpm durante 5 minutos. Após a centrifugação, as células foram transferidas para uma placa de 96 poços e fixadas com 100 µl de paraformaldeído 2% por 20 minutos em gelo, antes de serem lavadas com PBS. Novamente, a placa foi

centrifugada a 1500 rpm durante 5 minutos, o sobrenadante foi descartado e as células foram armazenadas a 4°C (validade 2 semanas).

11.6. Análise de fenotipagem de células imunes do colón e viabilidade de neutrófilos através da citometria de fluxo

Para analisar a fenotipagem de células imunes do colón, as células foram incubadas com 40 µl do mix de anticorpos contendo Zombie dye, CD45, CD3, Ly6G, F4/80, CD11, MHCII e Ly6c, marcados com fluoróforos, durante 20 minutos a 4°C. Após a incubação, as células foram lavadas com PBS e centrifugadas a 1500 rpm por 5 minutos, descartando o sobrenadante. As células foram ressuspensas com PBS e analisadas por citometria de fluxo. Os dados foram quantificados através do site Floreada (<https://floreada.io/>) (Conde J et al, 2021).

Para avaliar a viabilidade dos neutrófilos, as células com 40 µl do mix contendo CD45 e Ly6G marcados com fluoróforos por 20 minutos a 4°C. Após isso, foi adicionado PBS, as células foram centrifugadas a 1500 rpm durante 5 minutos e o sobrenadante foi descartado. Em seguida, as células foram ressuspensas em anexina e incubadas por 13 minutos em temperatura ambiente no escuro. Em seguida, foi adicionado 200 µl de Binding buffer, centrifugado a 1500 rpm durante 5 minutos e o sobrenadante foi descartado. Em seguida, foi adicionado PI e as células foram incubadas por mais 10 minutos em temperatura ambiente no escuro. Após, foi adicionado 200 µl de Binding buffer, as células centrifugadas (1500 rpm por 5 minutos), o sobrenadante foi descartado e as células foram analisadas no citômetro de fluxo e os dados foram quantificados através do site Floreada (<https://floreada.io/>) (Conde J et al, 2021).

11.7. Mieloperoxidase

Amostras de cólon (com aproximadamente 0,5 cm de comprimento) foram homogeneizadas em tampão fosfato 50 mM (pH 6, 0) contendo 0,5% de brometo

de hexadeciltrimetilamônio 0,5% e centrifugadas a 4000G por 5 minutos a 4°C. Em seguida, o sobrenadante foi submetido a três ciclos de congelamento em gelo seco e descongelamento a 40°C. Posteriormente, ao sobrenadante foi adicionado 0,02% de dianisidina em tampão fosfato 50 mM, pH 6,0 e 0,0005% de H₂O₂. A atividade de MPO foi expressa em unidades arbitrárias e calculada utilizando uma curva padrão de proteína (Conde J et al, 2021).

11.8. Isolamento de RNA e PCR em tempo real

O RNA total das células do colón foi extraído utilizando o reagente TRIzol e o kit EZNA Total RNA (Omega Bio-tek) de acordo com as instruções do fabricante. A quantidade e qualidade do RNA total foram avaliadas utilizando o espectrofotômetro NanoDrop para determinar a concentração e a pureza do RNA. A reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real com transcrição reversa (RT-qPCR) foi realizada usando um kit Power SYBR[™] Green usando, com 10 ng de RNA total por amostra. Uma amostra de controle foi usada como referência, e um número de ciclo limiar (Ct) arbitrário de 1. A faixa de Ct mais alta foi de 35. Os primers de PCR específicos utilizados estão descritos na Tabela 3. Os níveis de expressão gênica foram normalizados com o gene β -actina.

Gene	Forward	Reverse
m β -actina	CAGCTTCTTTGCAGCTC CTTC	ACCCATTCCCACCATCACAC
mTNF- α	GTCCCCAAAGGGATGA GAAGT	TTTGCTACGACGTGGGCTAC
mIL-6	TCGTGGAAATGAGAAAA GAGTTGTG	GAGCATTGGAAATTGGGGTA GGA
mCCL2	AGCTCTCTCTTCCTCCA CCA	GGTCAGCACAGACCTCTCTC
mLGR5	AACATCAGTCAGCTACC CGC	GCATCTAGGCGCAGGGATT

mBMI1	ACCTGGAGAAGAAATGG	CACTTTCCAGCTCTCCAGCA
	CCC	

11.9. Western blot

Para extração de proteínas do cólon, foi adicionado RIPA às amostras, que foram homogeneizadas no aparelho Tissue Lyser por 2 minutos a 30 Hz. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 4°C, 1300 rpm por 20 minutos, o sobrenadante foi coletado e armazenado para quantificação de proteínas através do método de Bradford. As amostras foram preparadas para eletroforese em géis de separação (30% de acrilamida, 1,5M de Tris pH 8,8, 10% de SDS, 10% de persulfato de amônio, TEMED, água destilada q.s.p.) e empilhamento (30% de acrilamida, 1M de Tris pH 6,8, 10% de SDS, 10% de persulfato de amônio, TEMED, água destilada q.s.p.). A eletroforese foi conduzida a 60V no gel de empilhamento e aumentada para 110V no gel de separação. As proteínas foram transferidas para membranas de nitrocelulose a 350 mA por 1 hora. Após a transferência, as membranas foram bloqueadas com solução de leite (Skim milk poder - Sigma) por 1 hora. Em seguida, as membranas foram incubadas overnight com o anticorpo primário anti-occludina (1:1000) em solução de leite (Skim milk poder - Sigma). Após a incubação, as membranas foram lavadas com TBS-T e incubadas com o anticorpo secundário anti-mouse (1:2000) por 1 hora. Novamente, as membranas foram lavadas com TBS-T e a revelação foi realizada com o kit ECL (Enhanced Chemiluminescence) por 5 minutos. A β -actina foi utilizada como controle interno. As quantificações das bandas foram realizadas utilizando o software *ImageJ* (Domínio público).

11.10. Motilidade intestinal

Para avaliação da motilidade intestinal os animais foram submetidos a um período de jejum de 16h, após receberam por via oral 10% de carvão ativado diluído em 5% de goma arábica. Após 30 minutos, os animais foram eutanasiados com tiopental (150mg/kg), o intestino delgado e o grosso foram

removidos e colocados sobre uma placa de vidro com papel milimetrado e fotografado e medido através do *software ImageJ* (Domínio público). Foi calculado a porcentagem que o carvão ativado percorreu através da seguinte fórmula: Motilidade intestinal (%) = [(comprimento GI total - distância de trânsito do carvão ativado) / comprimento GI total] × 100 (Kim, et al 2022).

11.11. Permeabilidade intestinal:

A avaliação da permeabilidade intestinal foi realizada através da administração de FITC-dextrano (4-kDa). Após o último dia de tratamento, os animais foram mantidos em jejum por um período de 16 horas e após foi administrado 600mg/kg de FITC-dextrano via oral. Após 2 hora, os animais foram eutanasiados com tiopental (150mg/kg), e o sangue foi coletado e centrifugado a 7200G por 10 minutos. O plasma foi analisado para determinar a concentração de FITC através do espectrofotômetro (Spectra-MAX-190, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) com comprimento de onda de excitação de 485nm e de emissão de 528nm. Os resultados foram expressos através da curva padrão (pg/ml de FITC-Dextrano) (Volynets et al, 2015; Woting et al, 2018).

11.12. Isolamento das células epiteliais do colón

Após a remoção, abertura e limpeza do colón com PBS, o isolamento celular foi iniciado. O tecido foi cólon foi lavado com solução A (contendo NaCl 96 mM, citrato de sódio 27 mM, KCl 1,5 mM, KH₂PO₄ 0,8 mM e Na₂HPO₄ 5,6 mM•12H₂O em água destilada, pH 7,4) e, em seguida, cortado em pedaços retangulares e adicionados 1,5 ml de solução A à 37 °C por 10 min com agitação a 300 rpm. Os fragmentos de tecido foram retirados e incubados com 1,5 ml de solução B (EDTA 0,1 mM, NaCl 115 mM, NaHCO₃ 25 mM, K₂HPO₄ 2,4 mM, KH₂PO₄ 0,4 mM e glutamina 2,5 mM em água destilada, pH 7,4) a 37 °C para 30 min com agitação a 300 rpm. A digestão foi interrompida pela adição de 0,5 ml CaCl₂ 100 mM. Após isso, o tecido foi filtrado através de um filtro de células de 70µm, centrifugado a 200G por 10 minutos. As células foram centrifugadas a

300G a 4 °C, o sobrenadante descartado e o pellet suspenso em solução de armazenamento e congelado (Protocolo adaptado de Wu et al, 2019).

11.13. Produção de H₂O₂ de células epiteliais do colón

A análise do estresse oxidativo das células epiteliais isoladas do colón foi realizada utilizando o citômetro de fluxo FACSCanto II (*Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, EUA*). Os parâmetros de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foram quantificados através do marcador 2',7'-diacetato de diclorofluoresceína (DCFH-DA). Para isso, as células foram incubadas com 20 µmol/L de DCFH-DA por 30 minutos a 37°C, e as amostras foram analisadas até atingir 1000 eventos. Todo o experimento foi realizado em ambiente escuro. O programa utilizado para aquisição dos dados foi *FCS Express Software* (Côco et al, 2023).

11.14. Apoptose de células de células epiteliais do colón

A determinação de apoptose celular foi realizada através do citômetro de fluxo FACSCanto II (*Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, EUA*). As células foram ressuspendidas em solução tampão e incubadas com anexina V e iodeto de propídio (PI) por 15 minutos a 37°C. A análise foi realizada utilizando os marcadores anexina V conjugada a fluoresceína e o corante intracitoplasmático PI, através do kit comercial (*FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I, BD Pharmingen, Becton Dickinson, USA*). Os dados foram quantificados utilizando o *software FCS Express*, e a porcentagem de células positivas foi avaliada (Côco et al, 2023).

11.15. Análise estatística

O teste de normalidade foi avaliado utilizando teste de Kolmogorov-Smirnov. Para análise do DAI utilizamos ANOVA duas vias, seguido de teste post hoc de Tukey. Para os demais testes foram utilizados ANOVA uma via, seguido

de teste post hoc de Tukey. Foi utilizado o software Prisma (Prisma 8.0, GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, EUA). Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM e as diferenças serão consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

12.RESULTADOS

12.1. Efeitos da administração do kefir de leite sobre os sinais e sintomas clínicos da colite ulcerativa

A avaliação do DAI foi realizada diariamente, conforme demonstrado na figura 15. No quarto dia observamos um aumento significativo do DAI nos grupos DSS e DSS+KEFIR em comparação com o grupo controle, indicando que o modelo experimental foi bem-sucedido. O tratamento foi iniciado um dia antes do último dia da indução da colite, ou seja, no quinto dia. Começamos a observar os efeitos benéficos do kefir de leite a partir do sétimo dia do experimento, ou seja, no terceiro dia de tratamento, quando houve uma diferença significativa com o grupo DSS.

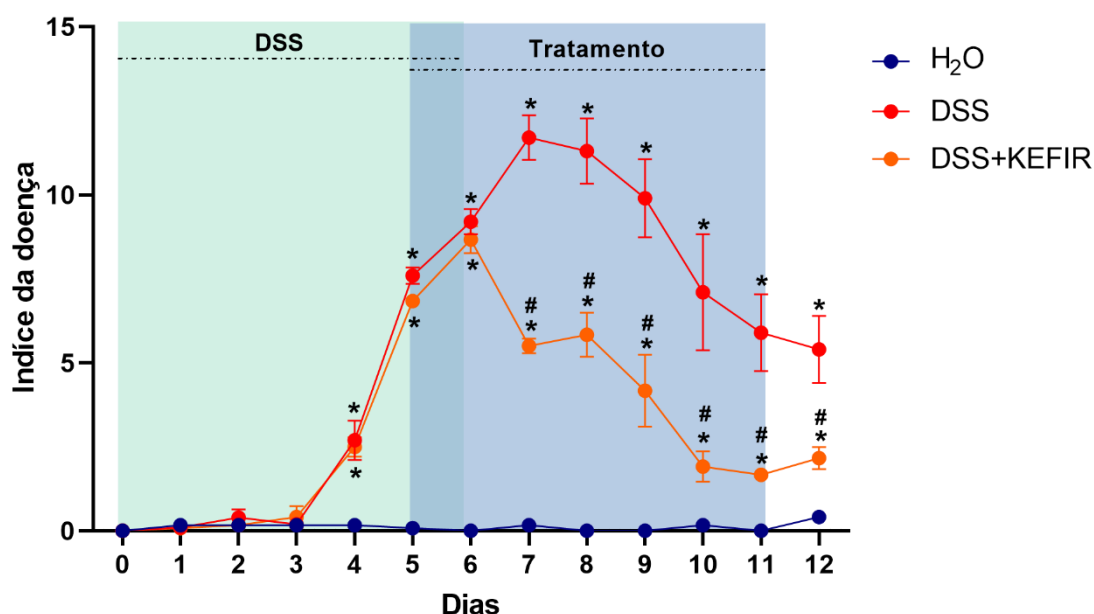


Figura 15: Índice da doença (DAI) de colite ulcerativa avaliado em camundongos divididos em três grupos: H₂O, DSS e DSS + Kefir. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. * $p < 0.05$ vs. H₂O (ANOVA-duas vias, seguido de post hoc de Tuckey)

A perda de peso também é uma característica da colite ulcerativa. Portanto, avaliamos a porcentagem de perda de peso dos grupos experimentais (Figura 16). Como esperado, o grupo controle não apresentou alteração no peso do peso corporal. No grupo DSS, observamos uma significativa perda de peso em relação ao controle a partir do quinto dia do experimento, continuando até o dia da eutanásia. Em relação ao grupo DSS+KEFIR, a partir do nono dia de experimento, ou seja, quinto dia de tratamento, os animais começaram a recuperar o peso perdido, sendo, portanto, diferente do grupo DSS.

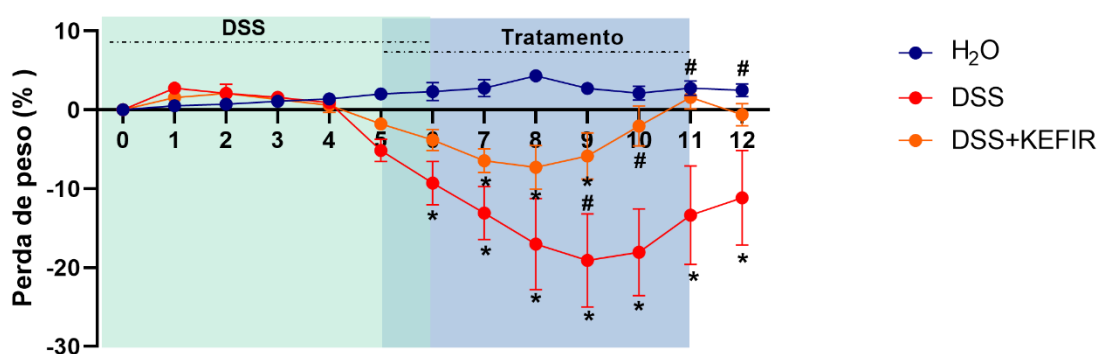


Figura 16: Avaliação da porcentagem de perda de peso diário dos grupos experimentais. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. * $p < 0.05$ vs. H₂O (ANOVA-duas vias, seguido de post hoc de Tuckey).

12.2. Efeitos da administração do kefir de leite sobre o tamanho do colón e peso do baço

Diminuição do tamanho do colón e aumento do baço também são características clínicas da colite ulcerativa. No presente experimento não observamos alterações do tamanho do colón (H₂O: $7,18 \pm 0,88$ cm; DSS: $5,96 \pm 0,80$ cm; DSS + KEFIR $6,38 \pm 1,03$ cm), como demonstrado na Figura 17 A e B. Em relação ao peso do baço também não houve diferença entre os grupos experimentais (H₂O: $64,68 \pm 5,017$ mg; DSS: $85,04 \pm 42,56$ mg; DSS + KEFIR: $117,7 \pm 15,93$ mg).

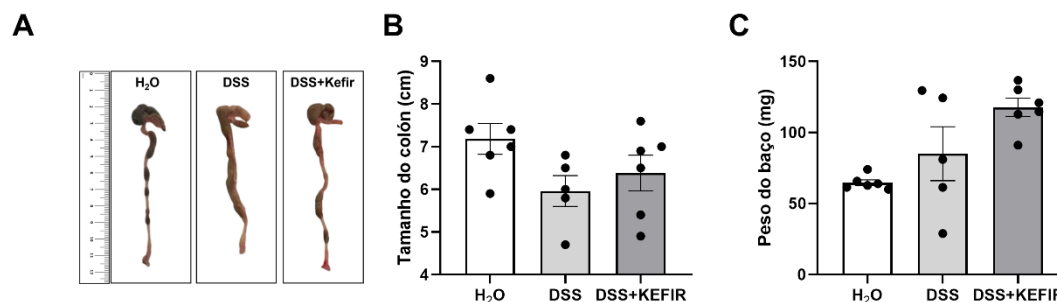


Figura 17: Figura representativa dos colóns dos grupos experimentais (A). Avaliação do tamanho do colón (B) e do peso do baço (C). Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey.

12.3. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a fenotipagem de células imunes isoladas do colón

Após avaliar esses parâmetros, que se caracterizam por sinais e sintomas clássicos da doença, iniciamos uma investigação sobre os possíveis mecanismos de ação do kefir na colite ulcerativa. Primeiramente, analisamos as propriedades imunomoduladoras do kefir diretamente no colón dos animais, considerando que a colite ulcerativa é uma doença inflamatória crônica e que apresenta uma resposta imune exacerbada.

Podemos observar na figura 18 A-F, que o kefir de leite não atuou sobre a diminuição dos neutrófilos (H₂O: $0,18 \pm 0,27$; DSS: $6,01 \pm 3,16$; DSS+Kefir: $5,53 \pm 1,71$ %), dendríticas (H₂O: $2,09 \pm 1,14$; DSS: $5,16 \pm 2,89$; DSS+Kefir: $5,81 \pm 2,60$ %), CD3 (H₂O: $25,19 \pm 15,91$; DSS: $20,82 \pm 4,75$; DSS+Kefir: $23,35 \pm 7,38$ %), macrófagos totais (H₂O: $5,41 \pm 4,28$; DSS: $9,26 \pm 3,53$; DSS+Kefir: $9,26 \pm 1,90$ %) macrófagos pró inflamatórios (H₂O: $4,12 \pm 2,55$; DSS: $6,78 \pm 3,94$; DSS+Kefir: $5,93 \pm 3,77$ %) e macrófagos anti-inflamatórios (H₂O: $62,90 \pm 10,96$; DSS: $56,09 \pm 20,65$; DSS+Kefir: $64,92 \pm 8,69$ %). Portanto, evidenciamos que as propriedades benéficas do kefir não são imunomoduladoras.

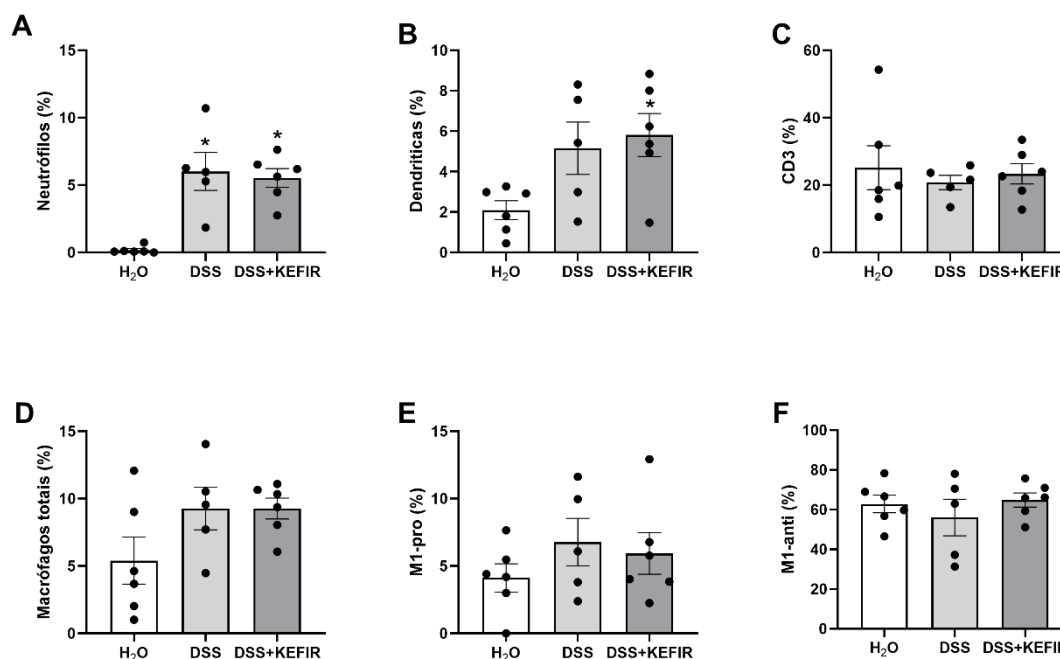


Figura 18: Fenotipagem de células imunes isoladas do colón: Neutrófilos (A), dendríticas (B) CD3 (C), macrófagos totais, (D) macrófagos pró-inflamatórios (E) e macrófagos anti-inflamatórios (F). Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey.

12.4. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a viabilidade dos neutrófilos isolados do colón

Após isso, realizamos uma análise sobre a a viabilidade, necrose, apoptose inicial e tardia neutrófilos (Figura 19A-D). Podemos observar que a indução de colite ulcerativa aumentou a viabilidade dos neutrófilos dos grupos DSS ($69,99 \pm 18,71$ %) e DSS+Kefir ($62,24 \pm 25,50$ %) quando comparados com o grupo H₂O ($24,25 \pm 19,63$ %). Essa resposta, comumente é observada em doenças inflamatórias intestinais, bem como a colite ulcerativa. Em relação a Necrose (H₂O: $3,62 \pm 6,09$ %; DSS: $1,31 \pm 2,93$ %; DSS + KEFIR: $4,51 \pm 5,54$ %), Apoptose inicial (H₂O: $34,01 \pm 37,04$ %; DSS: $7,11 \pm 10,04$ %; DSS + KEFIR: $6,38 \pm 11,00$ %) e tardia (H₂O: $30,07 \pm 37,70$ %; DSS: $2,20 \pm 4,88$ %; DSS + KEFIR: $5,55 \pm 9,47$ %) não houve diferença significativa entre os grupos.

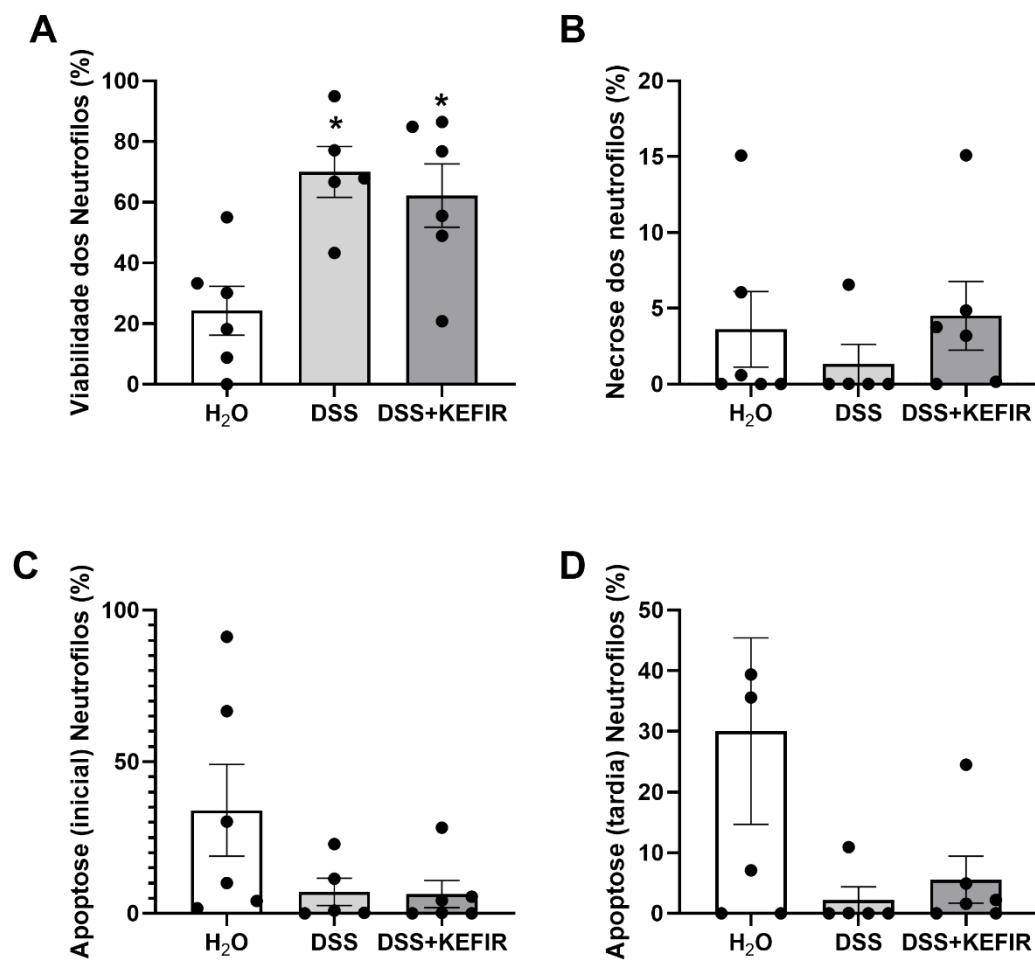


Figura 19: Análise de Viabilidade (A), necrose (B) apoptose inicial (C) e apoptose tardia (D) dos neutrófilos isolados do colón dos grupos experimentais. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. * $p < 0.05$ vs. H₂O (ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey).

12.5. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a resposta inflamatória

Após verificar que o kefir de leite não apresenta efeitos sobre as células imunes do cólon, bem como na diminuição da viabilidade dos neutrófilos, decidimos avaliar alguns marcadores de inflamação. O primeiro avaliado foi a quantificação da enzima mieloperoxidase e não observamos diferença entre os grupos experimentais (H₂O: $4,252e-005 \pm 9,844e-006$ a.u./mg de proteína; DSS: $0,0001227 \pm 6,349e-005$ a.u./mg de proteína; DSS + KEFIR ($0,0001998 \pm 0,0001922$ a.u./mg de proteína) (Figura 20).

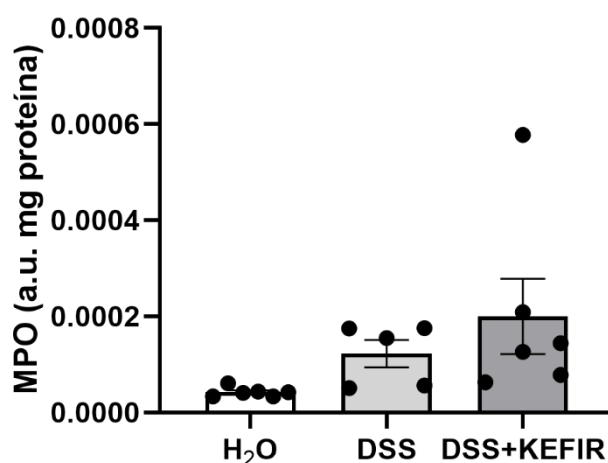


Figura 20: Medida dos níveis de MPO do cólon dos grupos experimentais. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey.

Além disso, avaliamos a expressão gênica de marcadores por PCR (Figura 21A-C). Observamos que os níveis de TNF α aumentaram significativamente no grupo DSS ($4,19 \pm 1,81$ a.u) em comparação com o grupo H₂O ($1,38 \pm 0,65$ a.u). Não houve diferença nos níveis de TNF α entre os grupos DSS+kefir ($2,71 \pm 1,04$ a.u) e os grupos H₂O e DSS. Ao avaliar os níveis de IL-6 (H₂O $0,43 \pm 0,33$; DSS $14,89 \pm 24,97$; DSS+Kefir: $2,24 \pm 1,55$ a.u) e CCL2 (H₂O:

0,86± 0,32 a.u.; DSS (3,57± 2,35 a.u.; DSS + KEFIR (1,08± 0,62 a.u.) não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos.

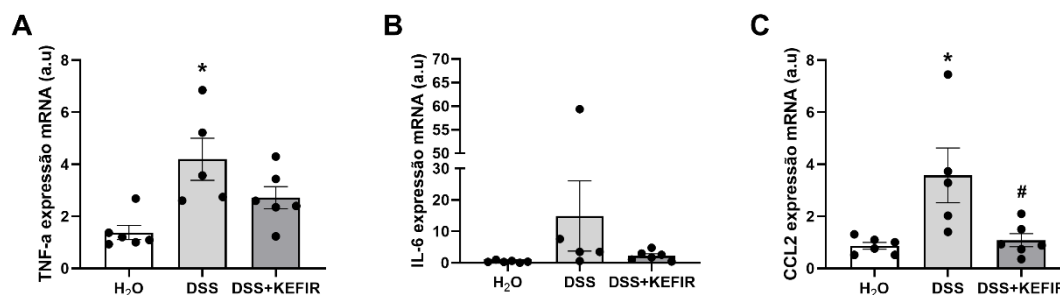


Figura 21: Expressão dos genes TNF- α (A), IL-6 (B) e CCL2 (C) do colón. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. *p < 0.05 vs. H₂O. #p < 0.05 vs. DSS (ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey).

12.6. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a regeneração celular

Após essas descobertas, decidimos investigar a ação do kefir de leite sobre dois genes responsáveis pela regeneração celular (LGR5 e BMI1) via células-tronco da cripta intestinal. Na figura 22A observamos que o grupo DSS (0,22±0,14 a.u) e o grupo DSS+Kefir (0,29±0,18 a.u) apresentaram uma diminuição na expressão gênica do LGR5 quando comparados com o grupo H₂O (0,79±0,29 a.u). Em relação ao BMI1 não foram identificadas diferença significativa entre os grupos (H₂O: 1,33±0,38; DSS: 2,39±1,45; DSS+Kefir: 2,64±1,34) (Figura 22B). Portanto, esses resultados sugerem que o kefir de leite não atua significativamente na recuperação celular mediada por esses genes.

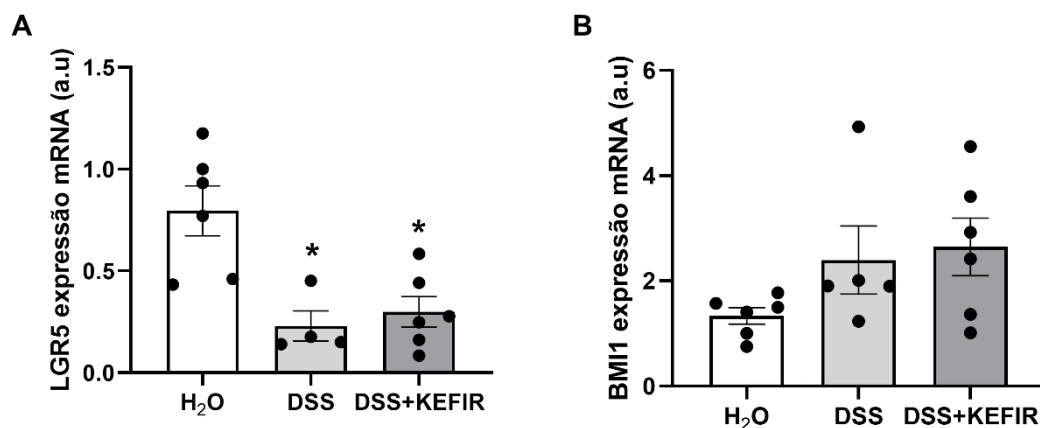


Figura 22: Expressão dos genes LGR5 (A) e BMI1 (B) do colón. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. * $p < 0.05$ vs. H₂O (ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey).

12.7. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a integridade de barreira

Ao avaliar se a administração de kefir atua sobre a expressão de ocludina, uma importante proteína de junção, não observamos diferenças significativas entre os grupos experimentais (H₂O: $1,43 \pm 0,46$; DSS: $0,29 \pm 0,15$; DSS+Kefir: $1,03 \pm 0,35$ a.u) (Figura 23A e B).

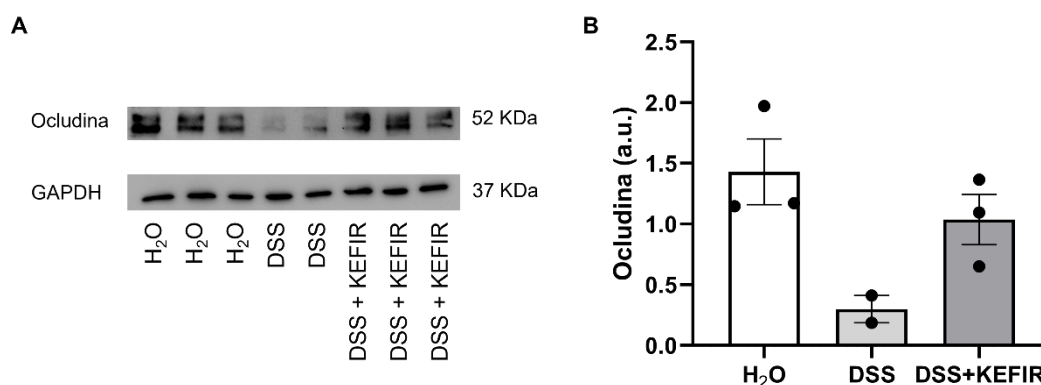


Figura 23: Fotografia representativa de Western Blot mostrando a expressão da proteína occludina em tecidos de cólon (A). Quantificação de occludina do tecido do cólon dos grupos experimentais (B). Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey.

12.8. Efeito da administração do kefir de leite sobre a motilidade intestinal e permeabilidade intestinal

Investigamos os efeitos do kefir de leite tradicional e comercial sobre a motilidade (Figura 24A) e permeabilidade intestinal (Figura 24B). A indução de colite ulcerativa e os tratamentos, não foram capazes de alterar a motilidade intestinal (H₂O: $65,41 \pm 6,22\%$; DSS: $64,56 \pm 8,61\%$; DSS+Kefir: $69,77 \pm 11,51\%$) e permeabilidade intestinal (H₂O: $0,81 \pm 0,40 \text{ ng/ml}$; DSS: $1,46 \pm 0,69 \text{ ng/ml}$; DSS+Kefir: $0,97 \pm 0,44 \text{ ng/ml}$) dos grupos experimentais.

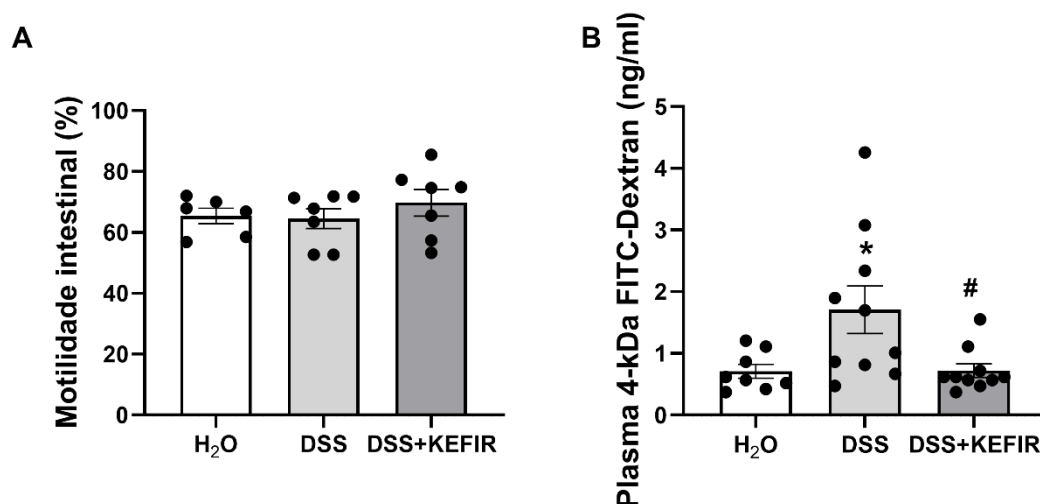


Figura 24: Avaliação da motilidade (A) e permeabilidade (B) intestinal dos grupos experimentais. Os resultados foram expressos pela média $\pm$ erro padrão da média. ANOVA-duas vias, seguido de post hoc de Tuckey.

12.9. Efeitos da administração do kefir de leite sobre a produção de H_2O_2 e apoptose de células epiteliais isoladas do colón

No presente trabalho evidenciamos que o modelo experimental de indução de colite ulcerativa por DSS resultou em um aumento nos níveis de H_2O_2 (figura 25 A) (DSS: $3306 \pm 374,9$ a.u.) em comparação com o grupo H_2O ($1042 \pm 186,0$ a.u.). Além disso, observamos que a administração de kefir durante 07 dias (DSS + KEFIR: $1538 \pm 76,92$ a.u.) demonstrou atenuar esses níveis. Em relação a apoptose (figura 25 B), encontramos resultados semelhantes, em que o grupo DSS ($3,429 \pm 0,68$ %) apresentou uma maior porcentagem de células epiteliais apoptóticas em comparação com o grupo H_2O ($1,28 \pm 0,92$ %). Enquanto a administração de kefir atenuou esses níveis (DSS + KEFIR: $1,05 \pm 0,36$ %), demonstrando uma redução na apoptose.

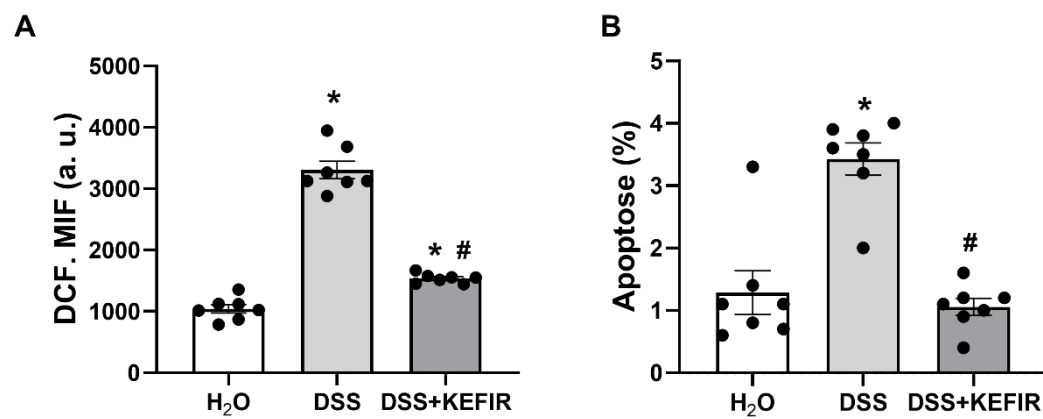


Figura 25: Análise da produção das ROS H₂O₂ (A) e apoptose (B) de células isoladas do cólon. Os resultados foram expressos pela média ± erro padrão da média. *p < 0.05 vs. H₂O. #p < 0.05 vs. DSS (ANOVA-uma via, seguido de post hoc de Tuckey).

13.DISCUSSÃO

O presente trabalho evidenciou os benefícios da administração de kefir de leite durante 07 dias através redução do índice da doença e da recuperação a perda de peso de animais com colite ulcerativa induzida por DSS. Além disso, foi observado que os seus efeitos benéficos são devido a diminuição da inflamação, através da redução dos níveis de CCL2 e dos efeitos antioxidantes e anti apoptóticos.

A colite ulcerativa é uma doença idiopática e crônica que afeta a mucosa do colón e do reto, caracterizada por sintomas como dor abdominal, diarreia com ou sem a presença de sangue e perda de peso. Para avaliar o impacto do probiótico kefir de leite na redução desses sintomas clínicos, utilizamos o DAI, que considera parâmetros como comportamento, peso, consistência e presença de sangue nas fezes. Observamos que a administração de kefir de leite durante 7 dias foi eficaz na redução desses escores, resultando em uma diminuição significativa do DAI no terceiro dia de tratamento, em comparação com o grupo DSS no qual o parâmetro aumentou consideravelmente. Esses dados corroboram com Nascimento da Silva e colaboradores (2022), no qual avaliaram a administração de kefir *ad libitum* em ratos Wistar por 6 dias. Sevenscan e colaboradores (2019) também evidenciaram que a administração de kefir diminuiu episódios de diarreia e sangramento retal, em modelo experimental de colite ulcerativa induzida por TNBS.

Estudos em modelos animais e clínicos evidenciam os benefícios dos probióticos no tratamento da colite ulcerativa. Em modelo animal, a administração de *Lactobacillus plantarum* HNU082 e *Lactobacillus plantarum* 15 foram capazes de exibir um papel protetor através da diminuição do DAI (Yu et al, 2020; Wu et al, 2022). A administração combinada de cepas probióticas contendo *Lactobacillus reuteri*, *Bacillus coagulans*, *Bifidobacterium longum* e *Clostridium butyricum* exibiu um papel protetor em alguns sintomas clássicos da doença, como diarreia e hematoquezia (Wang et al, 2020).

Alguns estudos clínicos corroboram esses achados demonstrando os benefícios dos probióticos na doença. A administração de *Escherichia coli* Nissle 1917 ($2,5-25 \times 10^9$ UFC) por 12 meses sustentou a remissão da colite ulcerativa reduzindo o DAI, produzindo resultados semelhantes ao tratamento com mesalazina (Kruis et al, 2004). Além disso, o uso de probióticos como *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* e *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* mostrou-se promissor como terapia adjuvante à mesalazina e os seus benefícios podem ser atribuídos à sua modulação da microbiota intestinal (Chen et al, 2020). Um estudo realizado por Bibiloni e colaboradores (2005) avaliaram trinta e quatro pacientes ambulatoriais com colite ulcerativa que receberam o probiótico VSL#3, composta pelas espécies *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* e *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (3.600 bilhões de UFC/dia durante 6 semanas). Esse tratamento resultou em redução dos sintomas e remissão da doença em 77% dos pacientes, além disso durante o uso do probiótico não houve aparecimento de eventos adversos.

Um ensaio clínico randomizado avaliou a administração de 400 ml/dia de kefir duas vezes ao dia durante 4 semanas ($2,0 \times 10^{10}$ UFC/mL de *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus kefir* e *Lactobacillus lindneri*) e evidenciaram melhora da qualidade de vida nos portadores de doença inflamatória intestinal (doença de crohn e colite ulcerativa), além disso observaram aumento significativo dos níveis de *Lactobacillus spp.* no grupo de tratamento (10^4 - 10^9 UFC/g) em comparação com o grupo de controle (0 - 10^5 UFC/g) (Yılmaz, Dolar, Özpınar 2019).

Esses resultados podem ser justificados através aumento das bactérias do gênero *Lactobacillus*, no qual desempenham atividade enteroprotetora na mucosa intestinal (Yu et al, 2015). Seus mecanismos envolvem a regulação de junções estreitas e o aumento da produção de muco através da regulação positiva dos genes Muc2 e Muc3 nas células caliciformes, produção de substâncias antimicrobiana e ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs), resultando

na diminuição da inflamação do epitélio (Martín et al, 2019; Al-Sadi et al, 2021; Anjana, Tiwari, 2022; Xu et al, 2024).

Um dos sinais clínicos da colite ulcerativa é a inflamação tecidual que ocasiona mudanças estruturais e funcionais do cólon, incluindo redução do tamanho do cólon, que ocorre devido a inflamação tecido. No presente trabalho não observamos diferenças entre os tamanhos do cólon nos grupos experimentais. No entanto, podemos justificar esses dados devido a interrupção da administração do DSS 7 dias antes da eutanásia, induzindo uma possível transição dos animais para a fase de recuperação. O aumento da inflamação que ocorre decorrente da doença não afeta somente o cólon, mas pode ter manifestações extraintestinais, como no baço. A colite ulcerativa pode desencadear aumento do peso do baço devido ao aumento de mediadores inflamatórios sistêmicos. No presente trabalho não foram evidenciadas diferenças do tamanho do baço entre os grupos experimentais.

Para avaliar o perfil inflamatório da colite ulcerativa, investigamos a composição das células imunes do cólon. A patogênese da colite ulcerativa envolve uma reação exacerbada das células do sistema imunológico. No presente estudo, não observamos efeitos imunomoduladores significativos do kefir de leite, visto que a administração de DSS ocasionou um aumento de neutrófilos no tecido em comparação com o grupo H₂O. Os neutrófilos desempenham um papel crucial como primeira linha de defesa na inflamação, recrutando quimiocinas e outras células do sistema imunológico, aumentando a produção ROS e resultando em danos a barreira epitelial (Wéra et al, 2016; Zhang et al, 2023). As células dendríticas são apresentadoras de antígenos que iniciam a resposta inflamatória adaptativa. O presente estudo demonstrou um aumento no número de células dendríticas em resposta ao tratamento com kefir de leite.

No entanto, alguns estudos evidenciam que os probióticos podem ter um efeito benéfico na modulação dos mecanismos imunológicos e inflamatórios do sistema gastrointestinal, como foi demonstrado por Yao e colaboradores 2017

no qual observaram um aumento da resposta imunológica na colite ulcerativa através dos receptores *toll like* 2 e 4 e evidenciaram efeito imunomodulador do probiótico Golden bifid® inibindo essa resposta. Consequentemente, a produção de citocinas inflamatórias foi diminuída. Os efeitos imunomoduladores dos probióticos podem estar relacionados à restauração da eubiose proporcionada pelo uso de probióticos. O equilíbrio microbiano saudável pode levar ao aumento da produção de muco e à diminuição da permeabilidade intestinal. Além disso, a eubiose pode reduzir a quantidade de lipopolissacarídeos que se ligam aos receptores *Toll-like* tipo 2 e 4 (TLR2 e TLR4) nas células de defesa, diminuindo assim a ativação inflamatória principalmente através da liberação da citocina inflamatórias (Medina et al, 2017; Cristofori et al, 2021).

Durante o processo inflamatório, os neutrófilos são ativados e migram para o local da inflamação. Esses neutrófilos têm uma vida útil curta e, após realizar suas ações normalmente entram em apoptose, no qual é essencial para amenizar a inflamação e prevenir danos teciduais excessivos. Entretanto, a presença prolongada de neutrófilos ativos no intestino pode ocorrer devido à presença contínua de sinais inflamatórios, como as citocinas inflamatórias IL-1 β , TNF- α e IFN- γ , que prolongam a sobrevivência dos neutrófilos, exacerbando a inflamação. Além disso, é importante ressaltar que essa cascata inflamatória aumenta a produção ROS, resultando ainda mais em danos à mucosa intestinal, ulcerações e comprometimento da barreira epitelial (Kunst et al, 2023). No presente trabalho, observamos que a viabilidade dos neutrófilos foi aumentada em comparação com o grupo H₂O, evidenciando assim que o kefir de leite não atua através da imuno modulação.

Alguns autores evidenciam que um dos mecanismos que envolve a enteroproteção dos probióticos é através da diminuição dos processos inflamatórios através da modulação da microbiota intestinal (Yu et al, 2020; Wang, et al, 2020). Os microrganismos patogênicos aumentam diretamente a produção de citocinas inflamatórias na microbiota intestinal. Esses microrganismos comprometem as barreiras de defesa intestinal, penetram no epitélio intestinal e ativam vias de sinalização como os receptores *toll-like* e

fosfatidilinositol 3 quinase/proteína quinase B (PI3K/AKT), estimulando assim a produção de TNF- α , IL -6 e IL-1 β (Zhou et al, 2018).

No presente trabalho evidenciamos ação anti-inflamatória do kefir de leite através da diminuição de CCL2. Essa citocina induz a infiltração de macrófagos que aumentam a produção de IL-6 (Zhang et al, 2023). Durante a exacerbação da colite ulcerosa, os macrófagos intensificam a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α e IL-6) que estimulam o sistema imunológico, aumentando a migração de neutrófilos e danificando a barreira epitelial intestinal (Kawamoto et al, 2019; Martini et al, 2017). Ao avaliar a expressão dessas duas citocinas inflamatórias (TNF- α e IL-6) não observamos diferença entre os grupos experimentais.

O TNF α é uma das principais citocinas pró-inflamatória que desempenha um papel crucial na patogênese da colite ulcerativa (Sands et al 2007). Estudos sugerem que a administração de probióticos pode reduzir os níveis de TNF- α , potencialmente através da modulação da via de sinalização TLR4-NF- κ B (D'Incà et al, 2011; Wang et al, 2019). Esse efeito foi demonstrado pela administração de VSL#3 num modelo experimental de colite ulcerosa induzida por TNBS (Wang et al, 2019). O estudo de Cui e colaboradores (2004) reforça o potencial protetor e anti-inflamatório dos probióticos. A administração de *Bifidobacterium spp.* preveniu a ativação de NF- κ B, reduziu a expressão de TNF- α e IL-1 β e simultaneamente elevou a expressão de IL-10. No entanto, em outra investigação clínica, a administração de *Bifidobacterium infantis* 35624 não resultou numa diminuição dos níveis sistêmicos de TNF- α (Groeger et al, 2013). Além disso, esse estudo revelou uma redução nos níveis sistêmicos de IL-6 (Groeger et al, 2013).

Além disso, investigamos a ação do kefir de leite na proliferação celular através do o LGR5 e o BMI1 (Sangiorgi, Capecchi, 2008; Sato, Clevers, 2013). Esses dois genes são importantes para manutenção da homeostase do intestino. Em nosso estudo, não foram evidenciadas alterações nesses genes durante o tratamento com kefir, no entanto alguns autores evidenciaram que probióticos

podem afetar a expressão gênica de LGR5 e BMI1. *Lactobacillus* aumenta a proliferação epitelial do intestinal, através do aumento da expressão gênica de LGR5 e, consequentemente reduzindo o dano intestinal causado pelo tratamento com TNF- α (Hou et al, 2018). Athiyyah e colaboradores (2018) investigaram o efeito do probiótico *Lactobacillus plantarum* IS-10506 na ativação e regeneração celular através dos genes LGR5 e BMI1 em ratos após exposição ao lipopolissacarídeo (LPS) do sorotipo 055:B5 de *Escherichia coli*. Esse estudo evidenciou que o probiótico ativou esses genes e, portanto, manteve a saúde intestinal.

Alterações na estrutura das junções intercelulares contribuem significativamente para a inflamação e apoptose das células intestinais e, consequentemente, para o desenvolvimento da colite ulcerosa. Os danos nas junções intercelulares aumentam a permeabilidade intestinal em pacientes com colite ulcerosa, mesmo em períodos de remissão (Katinios et al, 2020). No presente estudo avaliamos a expressão da proteína ocludina, uma proteína de junção intercelular que participa da regulação da permeabilidade intestinal. Não observamos diferença entre os grupos experimentais. No entanto, esses resultados podem ser justificados através do baixo n amostral.

Estudos sugerem que a administração de probióticos atua como protetor intestinal pela melhora da barreira física e pela manutenção da homeostase intestinal. *In vitro*, *Bifidobacterium infantis* e *Lactobacillus acidophilus* foram capazes de restaurar a barreira intestinal através da normalização dos *Tight Junctions* ocludina e claudina1 em células Caco-2 (Guo et al, 2017). Ocludina e ZO-1 são proteínas de junção presentes na mucosa do cólon. A colite ulcerativa reduziu o ZO-1 (Kuo et al, 2021). Num modelo experimental de colite ulcerosa por DSS, a administração de *Lactobacillus acidophilus* C4 aumentou a expressão de ocludina e ZO-1, demonstrando assim o seu potencial na reparação e proteção da barreira mucosa intestinal (Liu et al, 2023).

Estudos sugerem que a redução da resistência epitelial significa comprometimento da barreira, característica observada na colite ulcerosa,

intensificando-se com a exacerbação da doença. A regulação negativa dessas junções estreitas tem sido associada a um aumento na passagem paracelular de macromoléculas e, conseqüentemente, a um aumento na captação de antígeno, resultando em uma resposta inflamatória exacerbada (Krug et al, 2017; Hu et al, 2021).

Condições inflamatórias que afetam o intestino, como a colite ulcerativa, podem alterar a motilidade intestinal e a permeabilidade intestinal (Moynes et al, 2014; Bassotti et al, 2014; Vanuytsel et al, 2021). No entanto, no presente trabalho não foram observadas alterações significativas de motilidade e permeabilidade intestinal entre os grupos experimentais. No entanto, um estudo realizado por da Silva Watanabe e colaboradores (2023) investigou como a colite ulcerativa, em modelo experimental, altera a motilidade intestinal. Os resultados demonstraram que, a colite ulcerativa aguda não altera a motilidade do cólon inicialmente, no entanto, a colite crônica leva a uma motilidade reduzida e mais lenta na porção média do cólon, com contrações mais fortes nas extremidades proximal e distal. As alterações no cólon que justificaria esses achados são espessamento da parede do cólon e redução de células caliciformes e de tufo, sugerindo uma relação entre a inflamação tecidual e a motilidade intestinal. Em relação a permeabilidade, Li e colaboradores (2017) demonstraram que a administração de 3% de DSS por 7 dias aumentou significativamente a permeabilidade intestinal em camundongos. Neste estudo, a concentração de DSS utilizada foi de 1,5%, o que pode explicar a ausência de alterações significativas observadas na permeabilidade intestinal.

Para investigar os benefícios do kefir de leite em modelo experimental de colite ulcerativa induzida por DSS, avaliamos sua ação antioxidante e anti apoptótica em células epiteliais da mucosa intestinal. No presente estudo, observamos que a colite ulcerativa aumenta os níveis de estresse oxidativo e a porcentagem de apoptose. Entretanto, o tratamento com kefir de leite reduziu esses efeitos significativamente. O aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) é através do aumento da reação inflamatória, principalmente através dos neutrófilos (Canli et al, 2017). O acúmulo de ROS resulta em danos às macromoléculas, como danos ao DNA, desnaturação de proteínas e

peroxidação lipídica. Além disso, causa apoptose e aumenta a permeabilidade da barreira mucosa intestinal (Yasuda et al, 2006). Os probióticos apresentam um forte potencial antioxidante. Vários estudos indicaram que os probióticos exercem efeitos antioxidantes, diminuindo os níveis de ROS (ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical peroxinitrito/hidroxila) e aumentando os níveis de enzimas antioxidantes (superóxido dismutase e catalase) (Barboza et al, 2018, Côco et al, 2023). Níveis elevados de peróxido de hidrogênio estão associados ao desenvolvimento de tumores, inclusive gastrointestinais (Lisanti et al, 2011). *Lactococcus lactis* produz catalase, e um estudo demonstrou seu efeito protetor contra o desenvolvimento de câncer de cólon em modelo experimental (de Moreno de LeBlanc et al, 2018). Além disso, outros estudos ressaltaram os efeitos benéficos do kefir probiótico no tratamento da úlcera gástrica, reduzindo os níveis de ROS, incluindo ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e radical peroxinitrito/hidroxila, diminuindo consequentemente o dano ao DNA, a desnaturação de proteínas, a peroxidação lipídica e a apoptose celular (Barbosa et al, 2018) Em experimento modelo de colite ulcerativa por DSS, a administração de *Lactobacillus acidophilus* C4 aumenta as enzimas antioxidantes como superóxido dismutase (SOD), glutathione (GSH) e catalase (CAT) (Liu et al, 2023).

14. CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados deste estudo destacam o potencial do kefir de leite como um tratamento eficaz para colite ulcerativa, promovendo a redução da inflamação e a recuperação da saúde intestinal, através da diminuição do estresse oxidativo. No entanto, são necessários estudos adicionais para elucidar os mecanismos de ação e avaliar esses achados estudos clínicos.

15.REFERÊNCIAS

1. AL-SADI, R. et al. **Lactobacillus acidophilus induces a strain-specific and toll-like receptor 2-dependent enhancement of intestinal epithelial tight junction barrier and protection against intestinal inflammation.** American Journal of Pathology, v. 191, n. 5, p. 872-884, 2021. DOI: 10.1016/j.ajpath.2021.02.003.
2. ALTUN, İ.; SONKAYA, A. **The most common side effects experienced by patients were receiving first cycle of chemotherapy.** Iranian Journal of Public Health, v. 47, n. 8, p. 1218-1219, 2018.
3. ANJANA; TIWARI, S. K. **Bacteriocin-producing probiotic lactic acid bacteria in controlling dysbiosis of the gut microbiota.** Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, v. 12, 851140, 2022. DOI: 10.3389/fcimb.2022.851140.
4. ASLAM, N. et al. **A review of the therapeutic management of ulcerative colitis.** Therapeutic Advances in Gastroenterology, v. 15, 17562848221138160, 2022. DOI: 10.1177/17562848221138160.
5. ATAIE-JAFARI, A. et al. **Cholesterol-lowering effect of probiotic yogurt in comparison with ordinary yogurt in mildly to moderately hypercholesterolemic subjects.** Annals of Nutrition and Metabolism, v. 54, n. 1, p. 22-27, 2009. DOI: 10.1159/000203284.
6. ATHIYYAH, A. F. et al. **Lactobacillus plantarum IS-10506 activates intestinal stem cells in a rodent model.** Beneficial Microbes, v. 9, n. 5, p. 755-760, 2018. DOI: 10.3920/BM2017.0118.
7. ATIQ, A. et al. **Diadzein ameliorates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis by suppressing oxidative stress and inflammatory mediators in rodents.** European Journal of Pharmacology, v. 843, p. 292-306, 2019. DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.12.014.
8. BANAN, A. et al. **Nitric oxide and its metabolites mediate ethanol-induced microtubule disruption and intestinal barrier dysfunction.** Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 294, n. 3, p. 997-1008, 2000.

9. BARBOSA, S. J. A. et al. **The beneficial effects of *Lactobacillus casei* on the small intestine and colon of Swiss mice against the deleterious effects of 5-fluorouracil.** *Frontiers in Immunology*, v. 13, 954885, 2022. DOI: 10.3389/fimmu.2022.954885.
10. BARBOZA, K. R. M. et al. **Gastroprotective effect of oral kefir on indomethacin-induced acute gastric lesions in mice: Impact on oxidative stress.** *Life Sciences*, v. 209, p. 370-376, 2018. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.08.035.
11. BARROSO, F. A. L. et al. ***Lactobacillus delbrueckii* CIDCA 133 ameliorates chemotherapy-induced mucositis by modulating epithelial barrier and TLR2/4/Myd88/NF- κ B signaling pathway.** *Frontiers in Microbiology*, v. 13, 858036, 2022. DOI: 10.3389/fmicb.2022.858036.
12. BASSOTTI, G. et al. **Colonic motility in ulcerative colitis.** *United European Gastroenterology Journal*, v. 2, n. 6, p. 457-462, 2014. DOI: 10.1177/2050640614548096.
13. BASTOS, R. W. et al. ***Saccharomyces cerevisiae* UFMG A-905 treatment reduces intestinal damage in a murine model of irinotecan-induced mucositis.** *Beneficial Microbes*, v. 7, n. 4, p. 549-557, 2016. DOI: 10.3920/BM2015.0190.
14. BERMUDEZ-BRITO, M. et al. **Probiotic mechanisms of action.** *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 61, n. 2, p. 160-174, 2012. DOI: 10.1159/000342079.
15. BIBILONI, R. et al. **VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis.** *American Journal of Gastroenterology*, v. 100, n. 7, p. 1539-1546, 2005. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41794.x.
16. BLACKADAR, C. B. **Historical review of the causes of cancer.** *World Journal of Clinical Oncology*, v. 7, n. 1, p. 54-86, 2016. DOI: 10.5306/wjco.v7.i1.54.
17. BLONDY, S. et al. **5-Fluorouracil resistance mechanisms in colorectal cancer: From classical pathways to promising processes.** *Cancer Science*, v. 111, n. 9, p. 3142-3154, 2020. DOI: 10.1111/cas.14532.

18. BOURGONJE, A. R. et al. **Oxidative stress and redox-modulating therapeutics in inflammatory bowel disease.** Trends in Molecular Medicine, v. 26, n. 11, p. 1034-1046, 2020. DOI: 10.1016/j.molmed.2020.06.006.
19. BOWEN, J. M. et al. **Intestinal mucositis: the role of the Bcl-2 family, p53 and caspases in chemotherapy-induced damage.** Supportive Care in Cancer, v. 14, n. 7, p. 713-731, 2006. DOI: 10.1007/s00520-005-0004-7.
20. BOWEN, J. M. et al. **VSL#3 probiotic treatment reduces chemotherapy-induced diarrhea and weight loss.** Cancer Biology & Therapy, v. 6, n. 9, p. 1449-1454, 2007. DOI: 10.4161/cbt.6.9.4622.
21. BUENO, L. R. et al. **Protective effect of dietary polysaccharides from yellow passion fruit peel on DSS-induced colitis in mice.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2022, 6298662, 2022. DOI: 10.1155/2022/6298662.
22. CAMILLERI, M. **Human intestinal barrier: Effects of stressors, diet, prebiotics, and probiotics.** Clinical and Translational Gastroenterology, v. 12, n. 1, e00308, 2021. DOI: 10.14309/ctg.0000000000000308.
23. CANLI, Ö. et al. **Myeloid cell-derived reactive oxygen species induce epithelial mutagenesis.** Cancer Cell, v. 32, n. 6, p. 869-883.e5, 2017. DOI: 10.1016/j.ccell.2017.11.004.
24. CARASI, P. et al. **Impact of kefir derived Lactobacillus kefir on the mucosal immune response and gut microbiota.** Journal of Immunology Research, v. 2015, 361604, 2015. DOI: 10.1155/2015/361604.
25. CARVALHO, R. D. O. et al. **Use of wild type or recombinant lactic acid bacteria as an alternative treatment for gastrointestinal inflammatory diseases: A focus on inflammatory bowel diseases and mucositis.** Frontiers in Microbiology, v. 8, 800, 2017. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00800.
26. CHANG, C. T. et al. **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, e31808, 2012. DOI: 10.1371/journal.pone.0031808.

27. CHASSAING, B. et al. **Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice.** Current Protocols in Immunology, v. 104, p. 15.25.1-15.25.14, 2014. DOI: 10.1002/0471142735.im1525s104.
28. CHEN, P. et al. **Modulation of gut mucosal microbiota as a mechanism of probiotics-based adjunctive therapy for ulcerative colitis.** Microbial Biotechnology, v. 13, n. 6, p. 2032-2043, 2020. DOI: 10.1111/1751-7915.13661.
29. CHEN, Z. et al. **Lactobacillus fermentum ZS40 ameliorates inflammation in mice with ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium.** Frontiers in Pharmacology, v. 12, 700217, 2021. DOI: 10.3389/fphar.2021.700217.
30. CHOI, K. et al. **The effect of oral glutamine on 5-fluorouracil/leucovorin-induced mucositis/stomatitis assessed by intestinal permeability test.** Clinical Nutrition, v. 26, n. 1, p. 57-62, 2007. DOI: 10.1016/j.clnu.2006.07.003.
31. CINAUSERO, M. et al. **New frontiers in the pathobiology and treatment of cancer regimen-related mucosal injury.** *Frontiers in Pharmacology*, v. 8, p. 354, 8 jun. 2017. DOI: 10.3389/fphar.2017.00354.
32. CÔCO, L. Z. et al. **Unravelling the gastroprotective potential of kefir: Exploring antioxidant effects in preventing gastric ulcers.** *Cells*, v. 12, n. 24, p. 2799, 8 dez. 2023. DOI: 10.3390/cells12242799.
33. CONDE, J. et al. **Titanium dioxide presents a different profile in dextran sodium sulphate-induced experimental colitis in mice lacking the IBD risk gene Ptpn2 in myeloid cells.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 2, p. 772, 14 jan. 2021. DOI: 10.3390/ijms22020772.
34. CRISTOFORI, F. et al. **Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of probiotics in gut inflammation: A door to the body.** *Frontiers in Immunology*, v. 12, p. 578386, 26 fev. 2021. DOI: 10.3389/fimmu.2021.578386.
35. CUBA, L. F. et al. **Cannabidiol on 5-FU-induced oral mucositis in mice.** *Oral Diseases*, v. 26, n. 7, p. 1483-1493, out. 2020. DOI: 10.1111/odi.13413.

36. CUI, H. H. et al. **Effects of probiotic on intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis.** *World Journal of Gastroenterology*, v. 10, n. 10, p. 1521-1525, 15 mai. 2004. DOI: 10.3748/wjg.v10.i10.1521.
37. DA SILVA, B. C. et al. **Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis.** *World Journal of Gastroenterology*, v. 20, n.8, p. 9458-9467, 28 jul. 2014. DOI: 10.3748/wjg.v20.i28.9458.
38. DA SILVA WATANABE, P. et al. **Colonic motility adjustments in acute and chronic DSS-induced colitis.** *Life Sciences*, v. 321, p. 121642, 15 mai. 2023. DOI: 10.1016/j.lfs.2023.121642.
39. DAHLGREN, D. et al. **Chemotherapeutics-induced intestinal mucositis: Pathophysiology and potential treatment strategies.** *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 681417, 4 mai. 2021. DOI: 10.3389/fphar.2021.681417.
40. DE MORENO DE LeBLANC, A. et al. **Oral administration of a catalase-producing Lactococcus lactis can prevent a chemically induced colon cancer in mice.** *Journal of Medical Microbiology*, v. 57, n. 1, p. 100-105, jan. 2008. DOI: 10.1099/jmm.0.47403-0.
41. DEBELA, D. T. et al. **New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives.** *SAGE Open Medicine*, v. 9, p. 20503121211034366, 12 ago. 2021. DOI: 10.1177/20503121211034366.
42. DERISSEN, E. J. et al. **Exploring the intracellular pharmacokinetics of the 5-fluorouracil nucleotides during capecitabine treatment.** *British Journal of Clinical Pharmacology*, v. 81, n. 5, p. 949-957, mai. 2016. DOI: 10.1111/bcp.12877.
43. D'INCÀ, R. et al. **Rectal administration of Lactobacillus casei DG modifies flora composition and Toll-like receptor expression in colonic mucosa of patients with mild ulcerative colitis.** *Digestive Diseases and Sciences*, v. 56, n. 4, p. 1178-1187, abr. 2011. DOI: 10.1007/s10620-010-1384-1.
44. DONG, Y. et al. **Bifidobacterium BLa80 mitigates colitis by altering gut microbiota and alleviating inflammation.** *AMB Express*, v. 12, n. 1, p. 67, 7 jun. 2022. DOI: 10.1186/s13568-022-01411-z.

45. DU, L.; HA, C. **Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis.** *Gastroenterology Clinics of North America*, v. 49, n. 4, p. 643-654, dez. 2020. DOI: 10.1016/j.gtc.2020.07.005.
46. DUNCAN, M.; GRANT, G. **Oral and intestinal mucositis - causes and possible treatments.** *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, v. 18, n. 9, p. 853-874, 1 nov. 2003. DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01784.x.
47. EICHELE, D. D.; KHARBANDA, K. K. **Dextran sodium sulfate colitis murine model: An indispensable tool for advancing our understanding of inflammatory bowel diseases pathogenesis.** *World Journal of Gastroenterology*, v. 23, n. 33, p. 6016-6029, 7 set. 2017. DOI: 10.3748/wjg.v23.i33.6016.
48. EL-SHERIF, A. et al. **Ovarian cancer: Lifestyle, diet and nutrition.** *Nutrition and Cancer*, v. 73, n. 7, p. 1092-1107, 2021. DOI: 10.1080/01635581.2020.1792948.
49. FARAG, M. A. et al. **The many faces of kefir fermented dairy products: Quality characteristics, flavour chemistry, nutritional value, health benefits, and safety.** *Nutrients*, v. 12, n. 2, p. 346, 28 jan. 2020. DOI: 10.3390/nu12020346.
50. FERREIRA, T. M. et al. **Oral supplementation of butyrate reduces mucositis and intestinal permeability associated with 5-Fluorouracil administration.** *Lipids*, v. 47, n. 7, p. 669-678, jul. 2012. DOI: 10.1007/s11745-012-3680-3.
51. FRIQUES, A. G. et al. **Chronic administration of the probiotic kefir improves the endothelial function in spontaneously hypertensive rats.** *Journal of Translational Medicine*, v. 13, p. 390, 30 dez. 2015. DOI: 10.1186/s12967-015-0759-7.
52. GHAFOURI-FARD, S. et al. **5-Fluorouracil: A narrative review on the role of regulatory mechanisms in driving resistance to this chemotherapeutic agent.** *Frontiers in Oncology*, v. 11, p. 658636, 19 abr. 2021. DOI: 10.3389/fonc.2021.658636.
53. GIATAGANA, E. M. et al. **Lumican in carcinogenesis-revisited.** *Biomolecules*, v. 11, n. 9, p. 1319, 6 set. 2021. DOI: 10.3390/biom11091319.

54. GONZÁLEZ-OROZCO, B. D. et al. **Invited review: Milk kefir microbiota - Direct and indirect antimicrobial effects.** **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 5, p. 3703-3715, mai. 2022. DOI: 10.3168/jds.2021-21382.
55. GROEGER, D. et al. **Bifidobacterium infantis 35624 modulates host inflammatory processes beyond the gut.** **Gut Microbes**, v. 4, n. 4, p. 325-339, jul.-ago. 2013. DOI: 10.4161/gmic.25487.
56. GUARINO, A.; GUANDALINI, S.; LO VECCHIO, A. **Probiotics for prevention and treatment of diarrhea.** **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 49, Suppl. 1, p. S37-45, nov.-dez. 2015. DOI: 10.1097/MCG.0000000000000349.
57. GUO, S. et al. **Secretions of Bifidobacterium infantis and Lactobacillus acidophilus protect intestinal epithelial barrier function.** **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 64, n. 3, p. 404-412, mar. 2017. DOI: 10.1097/MPG.0000000000001310.
58. HAMET, M. F. et al. **Oral administration of kefir exerts a bifidogenic effect on BALB/c mice intestinal microbiota.** **Beneficial Microbes**, v. 7, n. 2, p. 237-246, 2016. DOI: 10.3920/BM2015.0103.
59. HAMOUDA, N. et al. **Apoptosis, dysbiosis and expression of inflammatory cytokines are sequential events in the development of 5-Fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice.** **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 121, n. 3, p. 159-168, set. 2017. DOI: 10.1111/bcpt.12793.
60. HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. **Hallmarks of cancer: The next generation.** **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646-674, 4 mar. 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
61. HIRAYAMA, K.; RAFTER, J. **The role of probiotic bacteria in cancer prevention.** *Microbes and Infection*, v. 2, n. 6, p. 681-686, maio 2000. DOI: 10.1016/s1286-4579(00)00357-9.
62. HOU, Q. et al. **Lactobacillus accelerates ISCs regeneration to protect the integrity of intestinal mucosa through activation of STAT3 signaling pathway induced by LPLs secretion of IL-22.** *Cell Death & Differentiation*, v. 25, n. 9, p. 1657-1670, set. 2018. DOI: 10.1038/s41418-

- 018-0070-2. Epub 2018 fev. 19. Erratum in: Cell Death & Differentiation, v. 28, n. 6, p. 2025-2027, jun. 2021. DOI: 10.1038/s41418-020-00630-w.
63. HU, J. E. et al. **Expression of tricellular tight junction proteins and the paracellular macromolecule barrier are recovered in remission of ulcerative colitis.** BMC Gastroenterology, v. 21, n. 1, p. 141, 31 mar. 2021. DOI: 10.1186/s12876-021-01723-7.
64. HU, T. et al. **Preventive effect of Lactobacillus acidophilus XY27 on DSS-induced ulcerative colitis in mice.** Drug Design, Development and Therapy, v. 14, p. 5645-5657, 22 dez. 2020. DOI: 10.2147/DDDT.S284422.
65. HUANG, C. Y. et al. **A review on the effects of current chemotherapy drugs and natural agents in treating non-small cell lung cancer.** Biomedicine (Taipei), v. 7, n. 4, p. 23, dez. 2017. DOI: 10.1051/bmdcn/2017070423.
66. HUANG, L. et al. **Study of prevalence and risk factors of chemotherapy-induced mucositis in gastrointestinal cancer using machine learning models.** Frontiers in Oncology, v. 13, p. 1138992, 28 set. 2023. DOI: 10.3389/fonc.2023.1138992.
67. JIANG, L.; NICK, A. M.; SOOD, A. K. **Fundamental principles of cancer biology: Does it have relevance to the perioperative period?** Current Anesthesiology Reports, v. 5, n. 3, p. 250-256, set. 2015. DOI: 10.1007/s40140-015-0122-9.
68. JUSTINO, P. F. et al. **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, mar. 2015. DOI: 10.1007/s00280-014-2663-x.
69. KASER, A.; ZEISSIG, S.; BLUMBERG, R. S. **Inflammatory bowel disease.** Annual Review of Immunology, v. 28, p. 573-621, 2010. DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225.
70. KATINIOS, G. et al. **Increased colonic epithelial permeability and mucosal eosinophilia in ulcerative colitis in remission compared with irritable bowel syndrome and health.** Inflammatory Bowel Diseases, v. 26, n. 7, p. 974-984, 18 jun. 2020. DOI: 10.1093/ibd/izz328.

71. KAWAMOTO, A. et al. **Ubiquitin D is upregulated by synergy of Notch signalling and TNF- α in the inflamed intestinal epithelia of IBD patients.** *Journal of Crohn's and Colitis*, v. 13, n. 4, p. 495-509, 30 mar. 2019. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjy180.
72. KAYAL, M.; SHAH, S. **Ulcerative colitis: Current and emerging treatment strategies.** *Journal of Clinical Medicine*, v. 9, n. 1, p. 94, 30 dez. 2019. DOI: 10.3390/jcm9010094.
73. KEEFE, D. M. et al. **Chemotherapy for cancer causes apoptosis that precedes hypoplasia in crypts of the small intestine in humans.** *Gut*, v. 47, n. 5, p. 632-637, nov. 2000. DOI: 10.1136/gut.47.5.632.
74. KEEFE, D. M. et al. **Risk and outcomes of chemotherapy-induced diarrhea (CID) among patients with colorectal cancer receiving multi-cycle chemotherapy.** *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, v. 74, n. 4, p. 675-680, out. 2014. DOI: 10.1007/s00280-014-2526-5.
75. KEEFE, D. M. **Intestinal mucositis: Mechanisms and management.** *Current Opinion in Oncology*, v. 19, n. 4, p. 323-327, jul. 2007. DOI: 10.1097/CCO.0b013e3281214412.
76. KHAILOVA, L. et al. **Bifidobacterium bifidum improves intestinal integrity in a rat model of necrotizing enterocolitis.** *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, v. 297, n. 5, p. G940-G949, nov. 2009. DOI: 10.1152/ajpgi.00141.2009.
77. KIM, D. H. et al. **Modern perspectives on the health benefits of kefir in next generation sequencing era: Improvement of the host gut microbiota.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 59, n. 11, p. 1782-1793, 2019. DOI: 10.1080/10408398.2018.1428168.
78. KIM, J. E. et al. **Dysbiosis of fecal microbiota in Tg2576 mice for Alzheimer's disease during pathological constipation.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 23, p. 14928, 29 nov. 2022. DOI: 10.3390/ijms232314928.
79. KIM, D. H.; CHON, J. W.; KIM, H.; SEO, K. H. **Modulation of intestinal microbiota in mice by kefir administration.** *Food Science and Biotechnology*, v. 24, n. 4, p. 1397-1403, 2015.

80. KO, C. W. et al. **AGA Clinical Practice Guidelines on the Management of Mild-to-Moderate Ulcerative Colitis.** *Gastroenterology*, v. 156, n. 3, p. 748-764, fev. 2019. DOI: 10.1053/j.gastro.2018.12.009.
81. KOBAYASHI, T. et al. **Ulcerative colitis.** *Nature Reviews Disease Primers*, v. 6, n. 1, p. 74, 10 set. 2020. DOI: 10.1038/s41572-020-0205-x.
82. KRAYNAK, A. R. et al. **Alkaline comet assay in liver and stomach, and micronucleus assay in bone marrow, from rats treated with 2-acetylaminofluorene, azidothymidine, cisplatin, or isobutyraldehyde.** *Mutation Research: Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, v. 786-788, p. 77-86, jul. 2015. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2015.03.005.
83. KRUG, S. M. et al. **Tricellulin is regulated via interleukin-13-receptor $\alpha 2$, affects macromolecule uptake, and is decreased in ulcerative colitis.** *Mucosal Immunology*, v. 11, n. 2, p. 345-356, mar. 2018. DOI: 10.1038/mi.2017.52.
84. KRUIS, W. et al. **Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine.** *Gut*, v. 53, n. 11, p. 1617-1623, nov. 2004. DOI: 10.1136/gut.2003.037747.
85. KUMAR, M. et al. **Antimicrobial effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* against multidrug-resistant enteroaggregative *Escherichia coli*.** *International Journal of Antimicrobial Agents*, v. 48, n. 3, p. 265-270, set. 2016. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.05.014.
86. KUNST, C. et al. **The influence of gut microbiota on oxidative stress and the immune system.** *Biomedicines*, v. 11, n. 5, p. 1388, 8 maio 2023. DOI: 10.3390/biomedicines11051388.
87. KUO, W. T. et al. **The tight junction protein ZO-1 is dispensable for barrier function but critical for effective mucosal repair.** *Gastroenterology*, v. 161, n. 6, p. 1924-1939, dez. 2021. DOI: 10.1053/j.gastro.2021.08.047.
88. LECCESE, G. et al. **Probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains counteract adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) virulence and hamper IL-23/Th17 axis in ulcerative colitis, but not in**

- Crohn's disease.** Cells, v. 9, n. 8, p. 1824, 1 ago. 2020. DOI: 10.3390/cells9081824.
89. LEE, J. M. et al. **Dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4) inhibitor ameliorates 5-fluorouracil induced intestinal mucositis.** BMC Cancer, v. 19, n. 1, p. 1016, 29 out. 2019. DOI: 10.1186/s12885-019-6231-y.
 90. LEMOS, V. R. et al. **Benefits of multi-day supplementation with probiotic kefir in Rasmussen encephalitis: the first case report.** Nutrition Neuroscience, p. 1-8, 30 ago. 2021. DOI: 10.1080/1028415X.2021.1970299.
 91. LEVIT, R. et al. **Protective effect of the riboflavin-overproducing strain Lactobacillus plantarum CRL2130 on intestinal mucositis in mice.** Nutrition, v. 54, p. 165-172, out. 2018. DOI: 10.1016/j.nut.2018.03.056.
 92. LI, C. et al. **Therapeutic effects and mechanisms of plant-derived natural compounds against intestinal mucositis.** Frontiers in Pharmacology, v. 13, p. 969550, 21 set. 2022. DOI: 10.3389/fphar.2022.969550.
 93. LI, H. L. et al. **Alteration of gut microbiota and inflammatory cytokine/chemokine profiles in 5-fluorouracil induced intestinal mucositis.** Frontiers in Cellular Infection Microbiology, v. 7, p. 455, 26 out. 2017. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00455.
 94. LI, M. et al. **Upregulation of intestinal barrier function in mice with DSS-induced colitis by a defined bacterial consortium is associated with expansion of IL-17A producing gamma delta T cells.** Frontiers in Immunology, v. 8, p. 824, 12 jul. 2017. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00824.
 95. LIMA MARTINS, A.; VOLPATO, R. A.; ZAGO-GOMES, M. D. P. **The prevalence and phenotype in Brazilian patients with inflammatory bowel disease.** BMC Gastroenterology, v. 18, n. 1, p. 87, 18 jun. 2018. DOI: 10.1186/s12876-018-0822-y.
 96. LISANTI, M. P. et al. **Hydrogen peroxide fuels aging, inflammation, cancer metabolism and metastasis: the seed and soil also needs "fertilizer".** Cell Cycle, v. 10, n. 15, p. 2440-2449, 1 ago. 2011. DOI: 10.4161/cc.10.15.16870.

97. LIU, L. et al. **Biological function of short-chain fatty acids and its regulation on intestinal health of poultry.** *Frontiers in Veterinary Science*, v. 8, p. 736739, 18 out. 2021. DOI: 10.3389/fvets.2021.736739.
98. LIU, Q. et al. **Alleviation of DSS-induced colitis in mice by a new-isolated *Lactobacillus acidophilus* C4.** *Frontiers in Microbiology*, v. 14, p. 1137701, 20 abr. 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1137701.
99. LIU, Z. et al. **Study of the alleviation effects of a combination of *Lactobacillus rhamnosus* and inulin on mice with colitis.** *Food & Function*, v. 11, n. 5, p. 3823-3837, 1 mai. 2020. DOI: 10.1039/c9fo02992c.
100. LOGAN, R. M. et al. **Nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expression in the oral mucosa following cancer chemotherapy.** *Oral Oncology*, v. 43, n. 4, p. 395-401, abr. 2007. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2006.04.011.
101. LOGAN, R. M. et al. **Is the pathobiology of chemotherapy-induced alimentary tract mucositis influenced by the type of mucotoxic drug administered?** *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, v. 63, n. 2, p. 239-251, jan. 2009. DOI: 10.1007/s00280-008-0732-8.
102. LOGAN, R. M. et al. **Serum levels of NFkappaB and pro-inflammatory cytokines following administration of mucotoxic drugs.** *Cancer Biology & Therapy*, v. 7, n. 7, p. 1139-1145, jul. 2008. DOI: 10.4161/cbt.7.7.6207.
103. LONGLEY, D. B.; HARKIN, D. P.; JOHNSTON, P. G. **5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies.** *Nature Reviews Cancer*, v. 3, n. 5, p. 330-338, mai. 2003. DOI: 10.1038/nrc1074.
104. LÓPEZ-GÓMEZ, L.; ALCORTA, A.; ABALO, R. **Probiotics and probiotic-like agents against chemotherapy-induced intestinal mucositis: a narrative review.** *Journal of Personalized Medicine*, v. 13, n. 10, p. 1487, 12 out. 2023. DOI: 10.3390/jpm13101487.
105. MARTÍN, R. et al. **The potential probiotic *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-3690 strain protects the intestinal barrier by stimulating both mucus production and cytoprotective response.**

- Scientific Reports, v. 9, n. 1, p. 5398, 1 abr. 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-41738-5.
106. MARTINI, E. et al. **Mend your fences: the epithelial barrier and its relationship with mucosal immunity in inflammatory bowel disease.** Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology, v. 4, n. 1, p. 33-46, 23 mar. 2017. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2017.03.007.
 107. MARU, G. B. et al. **Understanding the molecular mechanisms of cancer prevention by dietary phytochemicals: from experimental models to clinical trials.** World Journal of Biological Chemistry, v. 7, n. 1, p. 88-99, 26 fev. 2016. DOI: 10.4331/wjbc.v7.i1.88.
 108. MASSI, M. et al. **Effects of probiotic bacteria on gastrointestinal motility in guinea-pig isolated tissue.** World Journal of Gastroenterology, v. 12, n. 37, p. 5987-5994, 7 out. 2006. DOI: 10.3748/wjg.v12.i37.5987.
 109. MEDINA, M. et al. **Differential immunomodulatory properties of Bifidobacterium logum strains: relevance to probiotic selection and clinical applications.** Clinical and Experimental Immunology, v. 150, n. 3, p. 531-538, dez. 2007. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2007.03522.x.
 110. MELICHAR, B.; ZEŽULOVÁ, M. **The significance of altered gastrointestinal permeability in cancer patients.** Current Opinion in Supportive and Palliative Care, v. 5, n. 1, p. 47-54, mar. 2011. DOI: 10.1097/SPC.0b013e328343a043.
 111. MELO, M. L. et al. **Role of cytokines (TNF-alpha, IL-1beta and KC) in the pathogenesis of CPT-11-induced intestinal mucositis in mice: effect of pentoxifylline and thalidomide.** Cancer Chemotherapy and Pharmacology, v. 61, n. 5, p. 775-784, abr. 2008. DOI: 10.1007/s00280-007-0534-4.
 112. MI, H. et al. **Bifidobacterium infantis ameliorates chemotherapy-induced intestinal mucositis via regulating T cell immunity in colorectal cancer rats.** Cell Physiology and Biochemistry, v. 42, n. 6, p. 2330-2341, 2017. DOI: 10.1159/000480005.
 113. MIKNEVICIUS, P. et al. **The impact of probiotics on intestinal mucositis during chemotherapy for colorectal cancer: a**

- comprehensive review of animal studies.** International Journal of Molecular Sciences, v. 22, n. 17, p. 9347, 28 ago. 2021. DOI: 10.3390/ijms22179347.
114. MOYNES, D. M. et al. **Effects of inflammation on the innervation of the colon.** Toxicologic Pathology, v. 42, n. 1, p. 111-117, jan. 2014. DOI: 10.1177/0192623313505929.
 115. NAIDU, M. U. et al. **Chemotherapy-induced and/or radiation therapy-induced oral mucositis complicating the treatment of cancer.** Neoplasia, v. 6, n. 5, p. 423-431, set.-out. 2004. DOI: 10.1593/neo.04169.
 116. NASCIMENTO DA SILVA, K. et al. **Effects of kefir fermented milk beverage on sodium dextran sulfate (DSS)-induced colitis in rats.** Heliyon, v. 9, n. 1, p. e12707, 29 dez. 2022. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e12707.
 117. NG, S. C. et al. **Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies.** The Lancet, v. 390, n. 10114, p. 2769-2778, 23 dez. 2017. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)32448-0. Erratum in: The Lancet. 2020, v. 396, n. 10256, p. e56.
 118. NURGALI, K.; JAGOE, R. T.; ABALO, R. **Editorial: Adverse effects of cancer chemotherapy: anything new to improve tolerance and reduce sequelae?** Frontiers in Pharmacology, v. 9, p. 245, 22 mar. 2018. DOI: 10.3389/fphar.2018.00245.
 119. OKAYASU, I. et al. **A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice.** Gastroenterology, v. 98, n. 3, p. 694-702, mar. 1990. DOI: 10.1016/0016-5085(90)90290-H.
 120. ORDÁS, I. et al. **Ulcerative colitis.** The Lancet, v. 380, n. 9853, p. 1606-1619, 3 nov. 2012. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0.
 121. PETERSON, D. E.; BENSADOUN, R. J.; ROILA, F.; ESMO GUIDELINES WORKING GROUP. **Management of oral and gastrointestinal mucositis: ESMO Clinical Practice Guidelines.** Annals of Oncology, v. 22, supl. 6, p. vi78-vi84, set. 2011. DOI:

- 10.1093/annonc/mdr391. Erratum em: Annals of Oncology, v. 23, n. 3, p. 810, mar. 2012.
122. PLAZA-DIAZ, J. et al. **Mechanisms of action of probiotics.** Advances in Nutrition, v. 10, supl. 1, p. S49-S66, 1 jan. 2019. DOI: 10.1093/advances/nmy063. Erratum em: Advances in Nutrition, v. 11, n. 4, p. 1054, jul. 2020.
 123. PRADO, M. R. et al. **Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products.** Frontiers in Microbiology, v. 6, p. 1177, 30 out. 2015. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01177.
 124. QUARESMA, A. B.; KAPLAN, G. G.; KOTZE, P. G. **The globalization of inflammatory bowel disease: the incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in Brazil.** Current Opinion in Gastroenterology, v. 35, n. 4, p. 259-264, jul. 2019. DOI: 10.1097/MOG.0000000000000534.
 125. RIBEIRO, R. A. et al. **Irinotecan- and 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis: insights into pathogenesis and therapeutic perspectives.** Cancer Chemotherapy and Pharmacology, v. 78, n. 5, p. 881-893, nov. 2016. DOI: 10.1007/s00280-016-3139-y.
 126. ROSA, D. D. et al. **Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits.** Nutrition Research Reviews, v. 30, n. 1, p. 82-96, jun. 2017. DOI: 10.1017/S0954422416000275.
 127. RTIBI, K. et al. **Contribution of oxidative stress in acute intestinal mucositis induced by 5 fluorouracil (5-FU) and its pro-drug capecitabine in rats.** Toxicological Mechanisms and Methods, v. 28, n. 4, p. 262-267, mai. 2018. DOI: 10.1080/15376516.2017.1402976.
 128. RUMGAY, H. et al. **Global burden of cancer in 2020 attributable to alcohol consumption: a population-based study.** The Lancet Oncology, v. 22, n. 8, p. 1071-1080, ago. 2021. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00279-5.
 129. SAIRENJI, T.; COLLINS, K. L.; EVANS, D. V. **An update on inflammatory bowel disease.** Primary Care, v. 44, n. 4, p. 673-692, dez. 2017. DOI: 10.1016/j.pop.2017.07.010.

130. SANDS, B. E.; KAPLAN, G. G. **The role of TNF α in ulcerative colitis.** Journal of Clinical Pharmacology, v. 47, n. 8, p. 930-941, ago. 2007. DOI: 10.1177/0091270007301623.
131. SANGIORGI, E.; CAPECCHI, M. R. **Bmi1 is expressed in vivo in intestinal stem cells.** Nature Genetics, v. 40, n. 7, p. 915-920, jul. 2008. DOI: 10.1038/ng.165.
132. SARKAR, S. et al. **Cancer development, progression, and therapy: an epigenetic overview.** International Journal of Molecular Sciences, v. 14, n. 10, p. 21087-21113, 21 out. 2013. DOI: 10.3390/ijms141021087.
133. SATO, T.; CLEVERS, H. **Growing self-organizing mini-guts from a single intestinal stem cell: mechanism and applications.** Science, v. 340, n. 6137, p. 1190-1194, 7 jun. 2013. DOI: 10.1126/science.1240500.
134. SETHY, C.; KUNDU, C. N. **5-Fluorouracil (5-FU) resistance and the new strategy to enhance the sensitivity against cancer: implication of DNA repair inhibition.** Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 137, p. 111285, mai. 2021. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111285.
135. SEVENCAN, N. O. et al. **Dose dependent effects of kefir on colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid in rats.** Food Science & Nutrition, v. 7, n. 9, p. 3110-3118, 22 ago. 2019. DOI: 10.1002/fsn3.1174.
136. SHEN, S. R. et al. **Amelioration of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis by Streptococcus thermophilus ST4 in a mouse model.** PLoS One, v. 16, n. 7, p. e0253540, 26 jul. 2021. DOI: 10.1371/journal.pone.0253540.
137. SHEWACH, D. S.; KUCHTA, R. D. **Introduction to cancer chemotherapeutics.** Chemical Reviews, v. 109, n. 7, p. 2859-2861, jul. 2009. DOI: 10.1021/cr900208x.
138. SHI, L. H. et al. **Beneficial properties of probiotics.** Tropical Life Sciences Research, v. 27, n. 2, p. 73-90, ago. 2016. DOI: 10.21315/tlsr2016.27.2.6.
139. SILVA, I. et al. **Preclinical study in vivo for new pharmacological approaches in inflammatory bowel disease: a systematic review of**

- chronic model of TNBS-induced colitis.** Journal of Clinical Medicine, v. 8, n. 10, p. 1574, 1 out. 2019. DOI: 10.3390/jcm8101574.
140. SONG, M. K.; PARK, M. Y.; SUNG, M. K. **5-Fluorouracil-induced changes of intestinal integrity biomarkers in BALB/c mice.** Journal of Cancer Prevention, v. 18, n. 4, p. 322-329, dez. 2013. DOI: 10.15430/jcp.2013.18.4.322.
 141. SONIS, S. et al. **Unanticipated frequency and consequences of regimen-related diarrhea in patients being treated with radiation or chemoradiation regimens for cancers of the head and neck or lung.** Supportive Care in Cancer, v. 23, n. 2, p. 433-439, fev. 2015. DOI: 10.1007/s00520-014-2395-9.
 142. SONIS, S. T. **The biologic role for nuclear factor-kappaB in disease and its potential involvement in mucosal injury associated with anti-neoplastic therapy.** Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, v. 13, n. 5, p. 380-389, 2002. DOI: 10.1177/154411130201300502.
 143. SONIS, S. T. **The pathobiology of mucositis.** Nature Reviews Cancer, v. 4, n. 4, p. 277-284, abr. 2004. DOI: 10.1038/nrc1318.
 144. SOUGIANNIS, A. T. et al. **Understanding chemotherapy-induced intestinal mucositis and strategies to improve gut resilience.** American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology, v. 320, n. 5, p. G712-G719, 1 maio 2021. DOI: 10.1152/ajpgi.00380.2020.
 145. ST-AMANT, A.; BERGDAHL, A. **A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials investigating the effects of probiotics on oxidative stress in healthy adults.** Clinical Nutrition ESPEN, v. 54, p. 180-186, abr. 2023. DOI: 10.1016/j.clnesp.2023.01.016.
 146. STAWOWCZYK, E.; KAWALEC, P. **Cost-effectiveness of biological treatment of ulcerative colitis - a systematic review.** Przegląd Gastroenterologiczny, v. 12, n. 2, p. 90-97, 2017. DOI: 10.5114/pg.2017.68166.
 147. STRINGER, A. M. et al. **Faecal microflora and beta-glucuronidase expression are altered in an irinotecan-induced**

- diarrhea model in rats.** Cancer Biology & Therapy, v. 7, n. 12, p. 1919-1925, dez. 2008. DOI: 10.4161/cbt.7.12.6940.
148. SULTANI, M. et al. **Anti-inflammatory cytokines: important immunoregulatory factors contributing to chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis.** Chemotherapy Research and Practice, v. 2012, p. 490804, 2012. DOI: 10.1155/2012/490804.
 149. SUNG, H. et al. **Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries.** CA: A Cancer Journal for Clinicians, v. 71, n. 3, p. 209-249, mai. 2021. DOI: 10.3322/caac.21660.
 150. TIAN, T.; WANG, Z.; ZHANG, J. **Pathomechanisms of oxidative stress in inflammatory bowel disease and potential antioxidant therapies.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2017, p. 4535194, 2017. DOI: 10.1155/2017/4535194.
 151. TON, A. M. M. et al. **Oxidative Stress and Dementia in Alzheimer's Patients: Effects of Synbiotic Supplementation.** Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2020, p. 2638703, 13 jan. 2020. DOI: 10.1155/2020/2638703.
 152. TOUCHEFEU, Y. et al. **Systematic review: the role of the gut microbiota in chemotherapy- or radiation-induced gastrointestinal mucositis - current evidence and potential clinical applications.** Alimentary Pharmacology & Therapeutics, v. 40, n. 5, p. 409-421, set. 2014. DOI: 10.1111/apt.12878.
 153. UNGARO, R. et al. **Ulcerative colitis.** The Lancet, v. 389, n. 10080, p. 1756-1770, 29 abr. 2017. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)32126-2.
 154. VANUYSTSEL, T.; TACK, J.; FARRE, R. **The Role of Intestinal Permeability in Gastrointestinal Disorders and Current Methods of Evaluation.** Frontiers in Nutrition, v. 8, p. 717925, 26 ago. 2021. DOI: 10.3389/fnut.2021.717925.
 155. VICTORIA, C. R.; SASSAK, L. Y.; NUNES, H. R. **Incidence and prevalence rates of inflammatory bowel diseases, in midwestern of São Paulo State, Brazil.** Arquivos de Gastroenterologia, v. 46, n. 1, p. 20-25, jan.-mar. 2009. DOI: 10.1590/s0004-28032009000100009.

156. VILLA, A.; SONIS, S. T. **Mucositis: pathobiology and management.** Current Opinion in Oncology, v. 27, n. 3, p. 159-164, mai. 2015. DOI: 10.1097/CCO.0000000000000180.
157. VOLYNETS, V. et al. **Assessment of the intestinal barrier with five different permeability tests in healthy C57BL/6J and BALB/cJ mice.** Digestive Diseases and Sciences, v. 61, n. 3, p. 737-746, mar. 2016. DOI: 10.1007/s10620-015-3935-y.
158. VON BÜLTZINGSLÖWEN, I. et al. **Oral and intestinal microflora in 5-fluorouracil treated rats, translocation to cervical and mesenteric lymph nodes and effects of probiotic bacteria.** Oral Microbiology and Immunology, v. 18, n. 5, p. 278-284, out. 2003. DOI: 10.1034/j.1399-302x.2003.00075.x.
159. WADA, M. et al. **Effects of the enteral administration of Bifidobacterium breve on patients undergoing chemotherapy for pediatric malignancies.** Supportive Care in Cancer, v. 18, n. 6, p. 751-759, jun. 2010. DOI: 10.1007/s00520-009-0711-6. Epub 2009 ago 14. Erratum em: Supportive Care in Cancer, v. 18, n. 9, p. 1235-1236, set. 2010.
160. WANG, F. et al. **Meta-analysis of the efficacy of probiotics to treat diarrhea.** Medicine (Baltimore), v. 101, n. 38, p. e30880, 23 set. 2022. DOI: 10.1097/MD.00000000000030880.
161. WANG, H. et al. **Mechanism of Probiotic VSL#3 inhibiting NF- κ B and TNF- α on colitis through TLR4-NF- κ B signal pathway.** Iranian Journal of Public Health, v. 48, n. 7, p. 1292-1300, jul. 2019.
162. WANG, L. et al. **Dihydrotanshinone attenuates chemotherapy-induced intestinal mucositis and alters fecal microbiota in mice.** Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 128, p. 110262, ago. 2020. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110262.
163. WANG, Y. et al. **Probiotic supplements: hope or hype?** Frontiers in Microbiology, v. 11, p. 160, 28 fev. 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00160.
164. WANG, Y. et al. **Combination of probiotics with different functions alleviate DSS-induced colitis by regulating intestinal**

- microbiota, IL-10, and barrier function.** Applied Microbiology and Biotechnology, v. 104, n. 1, p. 335-349, jan. 2020. DOI: 10.1007/s00253-019-10259-6.
165. WÉRA, O.; LANCELOTTI, P.; OURY, C. **The dual role of neutrophils in inflammatory bowel diseases.** Journal of Clinical Medicine, v. 5, n. 12, p. 118, 17 dez. 2016. DOI: 10.3390/jcm5120118.
 166. WIRTZ, S. et al. **Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation.** Nature Protocols, v. 12, n. 7, p. 1295-1309, jul. 2017. DOI: 10.1038/nprot.2017.044. Epub 1 jun. 2017.
 167. WOTING, A.; BLAUT, M. **Small intestinal permeability and gut-transit time determined with low and high molecular weight fluorescein isothiocyanate-dextrans in C3H mice.** Nutrients, v. 10, n. 6, p. 685, 28 maio 2018. DOI: 10.3390/nu10060685.
 168. WU, Y. et al. **Probiotics (Lactobacillus plantarum HNU082) supplementation relieves ulcerative colitis by affecting intestinal barrier functions, immunity-related gene expression, gut microbiota, and metabolic pathways in mice.** Microbiology Spectrum, v. 10, n. 6, p. e0165122, 21 dez. 2022. DOI: 10.1128/spectrum.01651-22.
 169. WU, Y. et al. **Inflammatory bowel disease-associated ubiquitin ligase RNF183 promotes lysosomal degradation of DR5 and TRAIL-induced caspase activation.** Scientific Reports, v. 9, n. 1, p. 20301, 30 dez. 2019. DOI: 10.1038/s41598-019-56748-6.
 170. XU, B. et al. **Milk-derived Lactobacillus with high production of short-chain fatty acids relieves antibiotic-induced diarrhea in mice.** Food & Function, v. 15, n. 10, p. 5329-5342, 20 maio 2024. DOI: 10.1039/d3fo04706g.
 171. YAO, P. et al. **Effects of probiotics on Toll like receptor expression in ulcerative colitis rats induced by 2,4,6 trinitro benzene sulfonic acid.** Molecular Medicine Reports, v. 15, n. 4, p. 1973-1980, abr. 2017. DOI: 10.3892/mmr.2017.6226.
 172. YASUDA, T. et al. **Breakdown of intestinal mucosa via accelerated apoptosis increases intestinal permeability in**

- experimental severe acute pancreatitis.** Journal of Surgical Research, v. 135, n. 1, p. 18-26, set. 2006. DOI: 10.1016/j.jss.2006.02.050.
173. YEUNG, C. Y. et al. **Amelioration of chemotherapy-induced intestinal mucositis by orally administered probiotics in a mouse model.** PLoS One, v. 10, n. 9, p. e0138746, 25 set. 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0138746. Erratum em: PLoS One, v. 10, n. 10, p. e0141402, 20 out. 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0141402.
 174. YEUNG, C. Y. et al. **Amelioration of chemotherapy-induced intestinal mucositis by orally administered probiotics in a mouse model.** PLoS One, v. 10, n. 9, p. e0138746, 25 set. 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0138746. Erratum em: PLoS One, v. 10, n. 10, p. e0141402, 20 out. 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0141402.
 175. YEUNG, C. Y. et al. **Modulations of probiotics on gut microbiota in a 5-fluorouracil-induced mouse model of mucositis.** Journal of Gastroenterology and Hepatology, v. 35, n. 5, p. 806-814, mai. 2020. DOI: 10.1111/jgh.14890.
 176. YEUNG, C. Y. et al. **Immune modulation effects of Lactobacillus casei variety rhamnosus on enterocytes and intestinal stem cells in a 5-FU-induced mucositis mouse model.** Gastroenterology Research and Practice, v. 2021, p. 3068393, 25 jan. 2021. DOI: 10.1155/2021/3068393.
 177. YILMAZ, İ.; DOLAR, M. E.; ÖZPINAR, H. **Effect of administering kefir on the changes in fecal microbiota and symptoms of inflammatory bowel disease: a randomized controlled trial.** Turkish Journal of Gastroenterology, v. 30, n. 3, p. 242-253, mar. 2019. DOI: 10.5152/tjg.2018.18227.
 178. YU, P. et al. **Lactobacillus plantarum L15 alleviates colitis by inhibiting LPS-mediated NF- κ B activation and ameliorates DSS-induced gut microbiota dysbiosis.** Frontiers in Immunology, v. 11, p. 575173, 2 out. 2020. DOI: 10.3389/fimmu.2020.575173.
 179. YU, Q. et al. **Lactobacillus protects the integrity of intestinal epithelial barrier damaged by pathogenic bacteria.** Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, v. 5, p. 26, 25 mar. 2015. DOI:

- 10.3389/fcimb.2015.00026. Erratum em: *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 10, p. 585198, 29 out. 2020. DOI: 10.3389/fcimb.2020.585198.
180. ZHANG, C. et al. **Identifying neutrophil-associated subtypes in ulcerative colitis and confirming neutrophils promote colitis-associated colorectal cancer.** *Frontiers in Immunology*, [S.l.], v. 14, p. 1095098, 10 fev. 2023. doi: 10.3389/fimmu.2023.1095098. Erratum em: *Frontiers in Immunology*, [S.l.], v. 15, p. 1376797, 10 abr. 2024. doi: 10.3389/fimmu.2024.1376797.
181. ZHANG, M. et al. **Roles of macrophages on ulcerative colitis and colitis-associated colorectal cancer.** *Frontiers in Immunology*, [S.l.], v. 14, p. 1103617, 16 mar. 2023. doi: 10.3389/fimmu.2023.1103617.
182. ZHANG, N.; YIN, Y.; XU, S. J.; CHEN, W. S. **5-Fluorouracil: mechanisms of resistance and reversal strategies.** *Molecules*, [S.l.], v. 13, n. 8, p. 1551-1569, 5 ago. 2008. doi: 10.3390/molecules13081551.
183. ZHOU, M. et al. **Boosting mTOR-dependent autophagy via upstream TLR4-MyD88-MAPK signalling and downstream NF- κ B pathway quenches intestinal inflammation and oxidative stress injury.** *EBioMedicine*, [S.l.], v. 35, p. 345-360, set. 2018. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.08.035.
184. ZUO, T.; NG, S. C. **The Gut Microbiota in the Pathogenesis and Therapeutics of Inflammatory Bowel Disease.** *Frontiers in Microbiology*, [S.l.], v. 9, p. 2247, 25 set. 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.02247.