



Análise do extrato aquoso da jabuticaba frente ao status redox e mutagênese em camundongos

Ana Paula Simões da CUNHA¹, Ana Júlia Lopes BRAGA²,
Uanderson Queslei Schafranski KAEFER², Marina Mariko SUGUI^{1,2},
Valéria Dornelles Gindri SINHORIN^{1,2*}

¹ Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

² Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, MT, Brasil.

*E-mail: valeriadgindri@gmail.com

(ORCID: 0000-0002-3545-1034; 0000-0001-8859-6045; 0000-0003-0393-9569; 0000-0002-3784-2821; 0000-0002-5070-0043)

Recebido em 15/02/2022; Aceito em 01/03/2022; Publicado em 14/03/2022.

RESUMO: A jabuticaba (*Myrciaria* ssp) é bem conhecida por possuir em sua casca compostos fenólicos com alta atividade antioxidante. Assim, este estudo objetivou avaliar efeitos antioxidantes em fígado e cérebro e antimutagênicos na medula óssea de camundongos *Swiss* machos com o extrato aquoso de jabuticaba (MYR) e como agente indutor de danos mutagênicos a ciclofosfamida (CPA). Foram analisados 4 grupos (N = 6): Controle (C), CPA (25 mg.kg⁻¹), Extrato aquoso de jabuticaba + CPA (MYR + CPA) e Extrato aquoso de jabuticaba (MYR). Através do teste do micronúcleo em células de medula óssea avaliou-se a frequência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos para a atividade antimutagênica/mutagênica. Os parâmetros bioquímicos avaliados foram: Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione-S-transferase (GST), Glutathione reduzida (GSH), Ácido Ascórbico (VIT C) e Carbonil. Os resultados obtidos mostraram que o extrato aquoso da jabuticaba não teve efeito antimutagênico, bem como mutagênico. A Vit C aumentou no tecido hepático no grupo MYR quando comparada ao grupo MYR + CPA. Conclui-se que, nas condições experimentais utilizadas, o extrato da jabuticaba não apresentou potencial protetor aos danos induzidos pela CPA, nem modificou de forma relevante os parâmetros do estresse oxidativo nos animais tratados com MYR.

Palavras-chave: ciclofosfamida; estresse oxidativo; *Myrciaria* ssp; teste de micronúcleos.

Analysis of jabuticaba aqueous extract against redox status and mutagenesis in mice

ABSTRACT: Jabuticaba (*Myrciaria* ssp) is well known for having in its bark phenolic compounds with high antioxidant activity. Thus, this study aimed to evaluate antioxidant effects in the liver and brain and antimutagenic effects in the bone marrow of male *Swiss* mice with the aqueous extract of jabuticaba (MYR) and as a mutagenic damage-inducing agent to cyclophosphamide (CPA). Four groups were analyzed (N = 6): Control (C), CPA (25 mg.kg⁻¹), Aqueous jabuticaba extract + CPA (MYR + CPA) and Aqueous jabuticaba extract (MYR). Through the micronucleus test in bone marrow cells, the frequency of micronuclei in polychromatic erythrocytes was evaluated for antimutagenic/mutagenic activity. The biochemical parameters evaluated were: Superoxide dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione-S-transferase (GST), Reduced Glutathione (GSH), Ascorbic Acid (VIT C) and Carbonyl. The results obtained showed that the aqueous extract of jabuticaba did not have an antimutagenic or mutagenic effect. Vit C increased in liver tissue in the MYR group when compared to the MYR + CPA group. It is concluded that, under the experimental conditions used, the jabuticaba extract did not show protective potential against damage induced by CPA, nor did it significantly modify the parameters of oxidative stress in animals treated with MYR.

Keywords: cyclophosphamide; oxidative stress; *Myrciaria* ssp; micronucleus test.

1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, as plantas são utilizadas como tratamentos terapêuticos para diversas patologias. Na atualidade, o uso desses recursos naturais vem crescendo, assim como o número de pesquisas na área, e a jabuticaba (*Myrciaria* ssp) tem ocupado um lugar favorável neste segmento por possuir alta atividade antioxidante decorrente da presença de compostos fenólicos em sua casca (ANDRADE, 2014). A fruta tipicamente brasileira pode ser categorizada como alimento funcional e assim deve possuir

constituintes benéficos além dos elementos nutricionais básicos, sendo utilizados de maneira convencional nas dietas, pois são capazes de regular as funções corporais, auxiliando na proteção contra enfermidades como: diabetes, hipertensão, câncer, osteoporose e coronariopatias (FERNANDES; SILVA, 2018).

Inúmeras patologias, como câncer, doenças neurodegenerativas - doença de Parkinson, doença de Alzheimer, doenças cardiovasculares e diabetes, são associadas à condição de estresse oxidativo (EO) (BRAICU

et al., 2013). Essa condição é definida como um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, como o excesso de espécies reativas de oxigênio (EROs) quando comparado com os antioxidantes, em um sistema biológico (SIES, 2015; SINGH et al., 2019).

As EROs podem ser de fontes endógenas e exógenas e suas principais formas incluem ânion de superóxido, ácido hipocloroso, peróxido de hidrogênio, oxigênio singlet, hipoclorito, radical hidroxila e peróxidos lipídicos, que estão envolvidos na progressão, crescimento, morte e diferenciação das células (TAN et al., 2018). O estresse oxidativo, se severo o suficiente, pode modificar a estrutura e função de macromoléculas celulares, incluindo DNA, resultando em crescimento celular, mutação e/ou instabilidade cromossômica (KLAUNIG, 2018).

O câncer, doença caracterizada por um crescimento celular desordenado, é um problema que afeta a saúde pública em escala mundial e a Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou que para o ano de 2030, espera-se cerca de 27 milhões de casos incidentes de câncer, 17 milhões de mortes por câncer e 75 milhões de pessoas vivas, anualmente, com câncer (ABIFICC, 2015). Indo além, à Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) estima que, em todo mundo, são esperados 28,4 milhões de novos casos de câncer em 2040, um aumento de aproximadamente 47% em relação a 2020, ano cujos valores estimados eram de 19 milhões de casos de câncer em todo mundo, com 10 milhões de mortes (SUNG et al., 2021).

Neste contexto, torna-se essencial o desenvolvimento de estratégias nutricionais, capazes de proteger o homem contra danos ao DNA e, principalmente, do desenvolvimento de câncer (SURH; FERGUSON, 2003; FERREIRA et al., 2019). Assim, o presente estudo avaliou o efeito antimutagênico/mutagênico do extrato aquoso de jabuticaba através do teste do micronúcleo, bem como realizou análise de parâmetros bioquímicos do status redox em um modelo de mutagênese induzido por ciclofosfamida.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparação do Extrato

As jabuticabas foram adquiridas junto a pomar doméstico, no município de Sinop/MT em janeiro de 2013. A extração do suco (polpa + semente + casca) seguiu a forma de extração caseira utilizada pela população, através da liquidificação e, posteriormente, a mistura foi peneirada. O extrato aquoso foi estocado em freezer à temperatura de -18 °C e descongelados, no momento do uso, em banho maria 37 °C.

2.2. Modelo Experimental

Camundongos *Mus mus* machos, com 6 semanas de idade, peso médio de ± 25 g foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Mato Grosso, Câmpus de Cuiabá. Os animais permaneceram durante todo o período experimental sob condições controladas de temperatura (25 ± 1 °C), umidade relativa ($51 \pm 2\%$), ciclo de luz (12 horas claro/escuro), exaustão e recebendo ração comercial peletizada e água filtrada *ad libitum*. Este estudo teve a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), UFMT, sob o nº 23108.781486/12-5.

Após o período de duas semanas de aclimação os animais foram divididos em 4 grupos (n=6): CONTROLE (água filtrada + NaCl 0,9%), CPA (água filtrada + 25 mg.kg

¹ ciclofosfamida), MYR+CPA (extrato aquoso de jabuticaba (0,3 mL) + 25 mg.kg⁻¹ ciclofosfamida) e MYR (extrato aquoso de jabuticaba (0,3 mL) + NaCl 0,9%). Os animais foram tratados com água ou extrato aquoso de jabuticaba durante 15 dias, via gavagem, e no 15º dia foi administrado via intraperitoneal a CPA na dose de 25 mg.kg⁻¹ p.c. ou NaCl 0,9%. Após 24 horas, os animais foram anestesiados e sacrificados para a retirada do fêmur e dos órgãos fígado e cérebro. Os tecidos foram congelados em um freezer a -18 °C até a sua utilização.

2.3. Teste do Micronúcleo

A obtenção e preparo das lâminas de eritrócitos de medula óssea para avaliação da frequência de micronúcleo (MN) seguiram a metodologia proposta por MacGregor et al. (1987). Foram analisadas 2000 células por animal em microscópio de luz, sendo 1000 PCEs por lâmina, com aumento de 1000 vezes (imersão) para o registro da frequência de eritrócitos policromáticos micronucleados (PCEMNs). O material foi analisado em teste cego e as lâminas foram decodificadas ao final das análises.

2.4. Análises Bioquímicas

A atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD), expressa em UI SOD mg de proteína⁻¹, foi determinada segundo Misra e Fridovich (1972) e realizada no fígado e no cérebro. A mensuração da atividade da Catalase (CAT) no fígado dos animais foi realizada segundo a metodologia de Nelson e Kiesow (1972) e expressa em $\mu\text{mol.min}^{-1}.\text{mg}$ de proteína⁻¹. A enzima Glutathione-S-transferase (GST) foi mensurada no fígado e no cérebro segundo o método descrito por Habig et al. (1974) e os resultados expressos em $\mu\text{mol GS-DNB.min.mg}$ proteína⁻¹.

Os antioxidantes não-enzimáticos foram o ácido ascórbico (ASA), expresso em μmol de ASA.g tecido⁻¹, foi comparado com uma curva padrão e quantificado no fígado e a glutathione reduzida (GSH) expressa em $\mu\text{mol GSH.mg}$ proteína⁻¹ e comparado a uma curva padrão de GSH sendo realizada no tecido hepático e cerebral. As metodologias empregadas foram de acordo com os métodos de Roe (1954) e Sedlack e Lindsay (1968), respectivamente.

O marcador de estresse oxidativo avaliado foram as proteínas carboniladas (Carbonil, marcador de dano proteico) no fígado e cérebro e seguiu a metodologia de Yan et al. (1995) sendo os resultados expressos em nmol carbonil.mg de proteína⁻¹.

O conteúdo proteico foi realizado em todas as técnicas, exceto na determinação de vitamina C, e seguiu o método de Bradford (1976) usando albumina do soro bovino para a realização de uma curva padrão.

2.5. Análise Estatística

A frequência de células micronucleadas nos diferentes grupos experimentais foi avaliada pelo teste qui-quadrado (PEREIRA, 1991). A porcentagem de redução na frequência de MN foi calculada de acordo com Water e colaboradores (1990), através da fórmula:

$$\% \text{ redução} = \frac{\text{freq. de MN em A} - \text{freq. de MN em B}}{\text{freq. de MN em A} - \text{freq. de MN em C}} \times 100 \quad (01)$$

em que: freq.= frequência, MN= micronúcleos, A= grupo tratado com CPA (controle positivo); B= grupo tratado com o extrato aquoso de jabuticaba + CPA e C= grupo tratado com NaCl 0,9% (controle negativo).

Os dados das análises bioquímicas foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP) e analisados de acordo com a análise paramétrica (ANOVA de uma via) e seguida pelo teste *post hoc* de Tukey e a análise não-paramétrica (teste de Kruskal-Wallis) seguida pelo teste *post hoc* de Dunn quando as amostras não obedeciam a distribuição normal de Gauss. Foi estabelecido um nível de significância para rejeição da hipótese nula de 5% ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS

O efeito da jabuticaba sobre danos no DNA, quimicamente induzidos pela ciclofosfamida (CPA), em camundongos pré-tratados com o extrato aquoso *in natura* da fruta mostraram que os grupos tratados com o extrato aquoso (polpa + semente + casca) de jabuticaba e CPA, não apresentaram redução significativa em relação a frequência de micronúcleos em eritrócitos policromáticos de medula óssea, quando comparados com o grupo controle positivo. Apesar do extrato aquoso de jabuticaba não ter apresentado potencial antimutagênico, o mesmo não foi mutagênico ao

grupo tratado somente com a jabuticaba quando comparado com o controle negativo (Tabela 1).

Tabela 1. Frequência de MNPCEs em medula óssea de camundongos *Swiss* machos após pré-tratamento com extrato aquoso de jabuticaba e CPA.

Table 1. Frequency of MNPCEs in bone marrow of male *Swiss* mice after pretreatment with aqueous extract of jabuticaba and CPA.

Tratamentos	Nº de células analisadas	MNPCEs		% Red.
		Nº	%	
Água + NaCl 0,9% ^a	12.000	66	0,55	
Água + CPA (25 mg/kg) ^b	12.000	100	0,83	
MYR + CPA (25 mg/kg)	12.000	102	0,85	- 5,88
MYR + NaCl 0,9% ^c	10.000	22	0,22	

^a Controle negativo; ^b Controle positivo; ^c morreu um animal.

Em relação a avaliação antioxidante do extrato aquoso de jabuticaba, no tecido hepático não foram observadas alterações estatisticamente significativas em nenhuma das análises de antioxidantes enzimáticos realizadas, SOD (Figura 1A), CAT (Figura 1B) e GST (Figura 1C).

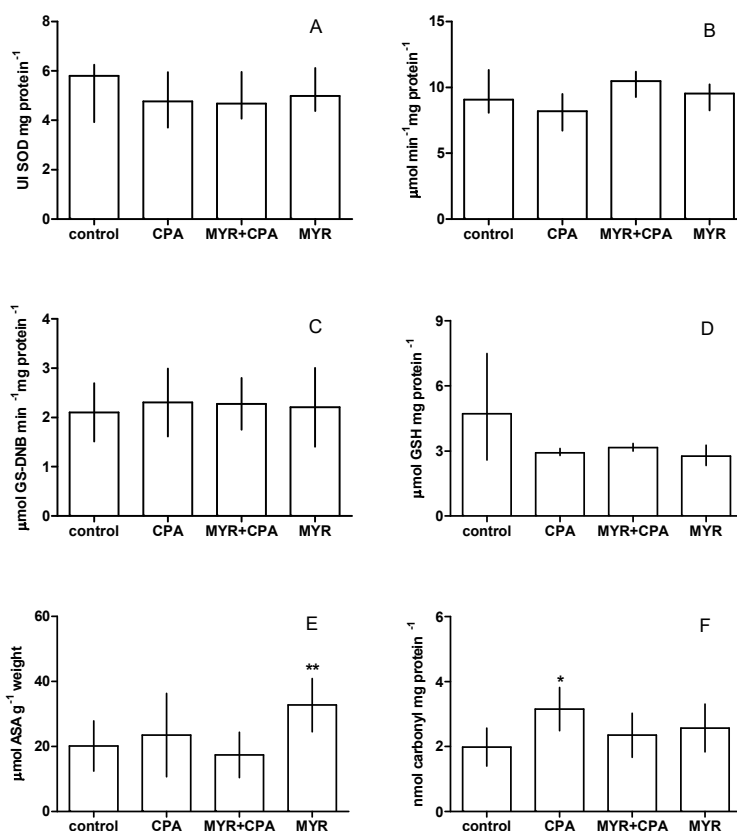


Figura 1. Parâmetros bioquímicos do estresse oxidativo no tecido hepático. (A) SOD; (B) CAT; (C) GST; (D) GSH; (E) Vitamina C; (F) Carbonil. (N = 6). Média \pm desvio padrão. * $p < 0,05$ vs Controle, ** $p < 0,05$ vs MYR+CPA.

Figure 1. Biochemical parameters of oxidative stress in liver tissue. (A) SOD; (B) Catalase; (C) GST; (D) GSH; (E) Vitamin C; (F) Carbonyl. (N = 6). Mean \pm standard deviation. * $p < 0,05$ vs Control, ** $p < 0,05$ vs MYR+CPA.

Não foram observadas diferenças significativas para a GSH (Figura 1D). Enquanto, para a análise da vitamina C (Figura 1E), o grupo tratado apenas com o extrato aquoso da fruta (MYR) com relação ao grupo ao qual foram administrados o extrato aquoso e a ciclofosfamida (MYR + CPA), demonstrou-se superior para este parâmetro. Já a carbonilação de proteínas demonstrou uma diferença significativa entre o grupo controle e o grupo CPA, onde o último obteve valores maiores (Figura 1F).

No cérebro também não foram observadas diferenças significativas para a atividade da enzima SOD (Figura 2A), no entanto, a GST demonstrou um decréscimo para o grupo tratado com o extrato aquoso de jabuticaba, diferindo-se do grupo tratado com ciclofosfamida (Figura 2B). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para GSH (Figura 2C) e para a carbonilação de proteínas (Figura 2D).

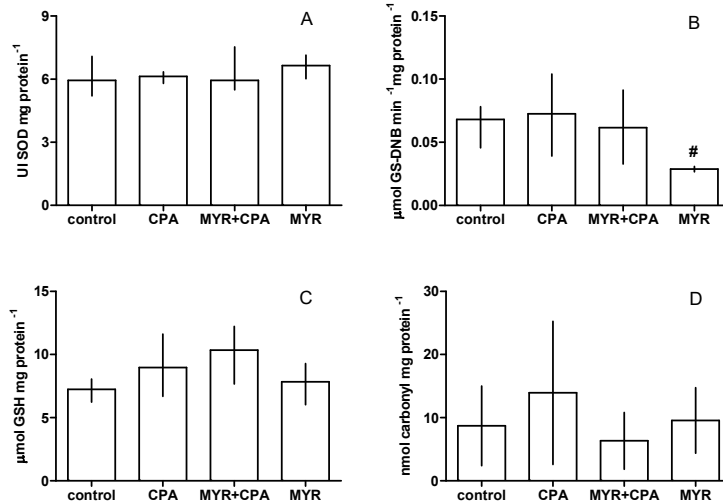


Figura 2. Parâmetros bioquímicos do estresse oxidativo no cérebro. (A) SOD; (B) GST; (C) GSH; (D) Carbonil. (N = 6). Média \pm desvio padrão. # $p < 0.05$ vs CPA.

Figure 2. Biochemical parameters of oxidative stress in the brain. (A) SOD; (B) GST; (C) GSH; (D) Carbonyl. (N = 6). Mean \pm standard deviation. # $p < 0.05$ vs CPA.

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, a administração do extrato preparado a partir da fruta inteira, não apresentou efeito antimutagênico e nem mutagênico. Acredita-se que a atividade protetora do DNA pode estar associada aos grupos fenóis, presentes nas flavonas, que conferem ação antioxidante, agindo como potenciais agentes antimutagênicos (FERREIRA et al., 2009). Vários estudos demonstraram que o fruto inteiro da jabuticaba apresenta atividade antioxidante e conteúdo significativo de antocianinas (EINBOND et al., 2004; LIMA et al., 2008; REYNERTSON et al., 2005; REYNERTSON et al., 2008; SANTOS et al., 2010; SILVA et al., 2010).

Segundo Volp et al. (2008), alguns dados têm revelado que a jabuticaba é rica em polifenóis, principalmente contidos na casca. Dentre os polifenóis detectados, as antocianinas estão presentes em relativa abundância sendo responsáveis pela sua coloração avermelhada e ação antioxidante (YUE et al., 2019). Dessa forma, esperava-se que o extrato aquoso de jabuticaba apresentasse um efeito protetor contra danos induzidos ao DNA pela CPA, nas condições experimentais realizadas. No entanto, a caracterização química seria necessária para relacionar os compostos biológicos ativos da jabuticaba usada neste estudo, porém estas análises não foram realizadas.

De acordo com Fortes et al. (2008) existem variações, algumas menos e outras mais pronunciadas, nos teores de compostos fenólicos durante a maturação da jabuticaba. No estudo citado, o fruto inteiro apresentou aumento de antocianinas e redução de taninos e fenóis totais em quatro estágios de maturação (verde, de vez, maduro e muito maduro), apesar da casca e as sementes serem importantes fontes de compostos fenólicos com comprovada atividade antioxidante.

Assim, podemos sugerir que o tempo de maturação da jabuticaba utilizada nesse estudo pode não ter sido o ideal para que os compostos bioativos, com ação antioxidante, apresentassem possíveis efeitos protetores sobre os danos ao DNA induzidos pela CPA. Além disso, o teor de antocianinas neste fruto pode apresentar variações (TEIXEIRA et al., 2008). Tais alterações podem ser atribuídas as diferenças

entre frutos oriundos de diferentes condições e locais de cultivo, além das variações entre métodos de extração e análise, temperatura de armazenamento e fração estudada (COSTA; ROSA, 2006).

Sabe-se que a CPA é capaz de induzir uma imunossupressão e proporcionar ao organismo uma condição de estresse oxidativo (SILVA, 2014). As ERO produzidas durante a condição de estresse oxidativo podem oxidar as estruturas das proteínas e lipídios que, por vezes, podem fazer com que os aminoácidos das proteínas sejam desfragmentados, conduzindo a alterações no funcionamento de várias enzimas, em outras palavras, a oxidação dos aminoácidos é acompanhada pelo aumento relativo do nível de proteínas carboniladas (SILVA et al., 2009).

Assim, também é importante saber que as enzimas SOD, CAT e GST, atuam buscando uma homeostase do organismo quando este se encontra sob estresse oxidativo (STOLF, 2016). Então, alterações em seus valores pode indicar danos ou favorecimento das células, mas neste trabalho não se observou alterações significativas em suas atividades, confirmando os resultados encontrados durante a avaliação microscópica de micronúcleos.

Estudos como o de Zhang et al. (2021), mostraram que uma dosagem de 40 mg kg⁻¹ de CPA foi capaz de interferir no ganho de peso dos camundongos, fazendo com que a média fosse menor ao grupo tratado com o quimioterápico, além de demonstrar um aumento na atividade da enzima SOD no fígado, e retratar possíveis danos hepáticos e lipídicos nos animais, devido aos altos níveis de alanina transaminase (ALT) e Malondialdeído (MDA). A SOD é uma enzima antioxidante de primeira fase, que catalisa a conversão do ânion superóxido (O₂⁻) em peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e oxigênio (O₂) (SILVEIRA, 2017), e a enzima CAT, referente à segunda fase na linha de defesa contra as EROs não apresentaram alterações significativas com relação ao modelo experimental proposto. Isso pode ser justificado pela baixa dosagem de ciclofosfamida utilizada a fim de causar danos celulares.

Barbosa et al. (2018), utilizando 25 mg.kg⁻¹ de ciclofosfamida, também relatou resultados semelhantes, nos quais não foram observadas variações significativas para a atividade da enzima CAT. Por outro lado, Luiz et al. (2020), usando 75 mg kg⁻¹, em seus dois trabalhos, e Godoy et al. (2020), com 100 mg kg⁻¹, observaram que o potencial mutagênico da CPA foi expressivo e que os extratos de *Carica papaya*, *Cecropia distachya* e *Cissus spinosa* Cambess, nos respectivos estudos, foram capazes de diminuir ou retardar os efeitos da CPA.

Assim como, diferente ao encontrado neste estudo, Lenquiste et al. (2015) observaram que a suplementação com casca de jabuticaba em pó e seu extrato promoveu aumento nas atividades de SOD, CAT e glutatona, além de reverter a peroxidação lipídica induzida pela dieta gordurosa no plasma e fígado de ratos. Viana (2017) mostrou em seu estudo resultados nos quais se observaram uma restauração das atividades de SOD, CAT e GST no tecido aórtico de coelhos com hipercolesterolemia submetidos à administração diária de extrato fenólico da casca de jabuticaba (EFCJ).

Embora outros parâmetros antioxidantes não mudaram tanto no fígado quanto no cérebro, a vitamina C hepática foi aumentada no grupo MYR, diferindo do grupo que teve CPA administrada i.p. Gürgen et al. (2013) demonstrou que o ácido ascórbico (Vit C) é um antioxidante que tem o potencial de atrasar a formação e propagação de tumores em todas suas fases. No entanto, essa diferença achada em nosso estudo pode ser devido a capacidade da ciclofosfamida de interferir na replicação do DNA e na transcrição do RNA (BENVEGNÚ, 2010), pois é um fármaco conhecido por seus efeitos mutagênicos, sendo muito utilizado em estudos de genotoxicidade (ARENCEBIA et al., 2011).

Tendo em vista que na literatura é observado o aumento da atividade de enzimas antioxidantes utilizando concentrados de polpa ou casca em pó, pode-se estimar que a quantidade de extrato utilizado, por se tratar de uma solução aquosa não concentrada contendo todo o fruto (presença da casca, polpa e semente), este pode conter anti-nutrientes, que são substâncias que atuam como um interferente, impedindo os efeitos antioxidantes. Por outro lado, os danos ao DNA causados pela administração de ciclofosfamida não foram efetivos no órgão em questão, apesar da dosagem utilizada demonstrar seu potencial toxicológico e mutagênico em células de medula óssea.

É possível que a quantidade de animais utilizados no protocolo experimental tenha influenciado nessa ausência do efeito estatístico. Diferentemente dos nossos achados, Hsu et al. (2016) obtiveram em seu trabalho usando extrato de jabuticaba uma relação de aumento na GSH, assim como para as enzimas SOD, CAT, GST e GPx, quando avaliaram ratos em um modelo de nefropatia diabética.

A semelhança dos resultados nos diferentes tecidos analisados, sugere que a dosagem de ciclofosfamida utilizada não foi capaz de induzir danos aos tecidos e que o extrato aquoso de jabuticaba não demonstrou seu potencial antioxidante na modulação de alterações aos parâmetros bioquímicos. Além disso, não foram encontrados outros estudos avaliando os efeitos do extrato aquoso de jabuticaba no tecido cerebral para possíveis comparações.

Assim, os resultados obtidos da avaliação do efeito da *Myrciaria* ssp (jabuticaba), nas condições experimentais utilizadas, sugerem que o extrato aquoso de jabuticaba possui compostos que não reduziram significativamente a frequência de células micronucleadas da medula óssea de

camundongos *Swiss*, bem como interferência aos parâmetros bioquímicos analisados.

5. CONCLUSÕES

Concluímos que o extrato aquoso da jabuticaba, apesar de possuir compostos com características antioxidantes e fenólicas, não mostrou seus efeitos antioxidantes e antimutagênicos no modelo de estresse oxidativo induzido por CPA. Sabendo que na literatura a *Myrciaria* spp. apresenta efeitos antioxidantes para diversas patologias, pode-se supor que os compostos presentes nessa fruta não demonstraram sua efetiva ação no organismo dos animais ou os compostos ativos poderiam estar presentes em quantidades insuficientes para um efeito biológico relevante.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Universidade Federal de Mato Grosso pelo suporte logístico e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsas de estudo para A. P. S. C. e A. J. L. B.

7. REFERÊNCIAS

- ABIFICC_Associação Brasileira de Instituições Filantrópicas de Combate ao Câncer. **Em 2030, haverá mais de 27 milhões de casos incidentes de câncer.** 2015. Disponível em: < <https://abificc.org.br/noticia/em-2030-havera-mais-de-27-milhoes-de-casos-incidentes-de-cancer/>>.
- ANDRADE, D. M. L. **Avaliação da atividade antioxidante, hipotensora e vasodilatadora da Jabuticaba, *Myrciaria cauliflora* Berg.** 100f. Dissertação [Mestrado em Ciências Farmacêuticas] - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.
- ARENCEBIA, D. F. Biomodelos para a indução de micronúcleos em células da medula óssea por ciclofosfamida e bleomicina. **Vaccimonitor**, v. 20, n. 1, p. 28-33, 2011.
- BARBOSA, F. G.; SUGUI, M. M.; SINHORIN, V. D. G.; BICUDO, R. C.; MOURA, F. R.; SINHORIN, A. P. First phytochemical and biological study of the ethanolic extract from leaves of *Capirona devorticans* (Rubiaceae). **Acta Amazonica**, v. 48, n. 4, p. 338-346, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-4392201703483>
- BENVEGNÚ, D. M. **Ação protetora da *Carya illinoensis* sobre a toxicidade induzida por ciclofosfamida em ratos.** 107f. Dissertação [Mestrado em Farmácia] - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976. DOI: 10.1006/abio.1976.9999
- BRAICU, C.; LADOMERY, M. R.; CHEDEA, V. S.; IRIMIE, A.; BERINDAN-NEAGOE, I. The relationship between the structure and biological actions of green tea catechins. **Food Chemistry**, v. 141, p. 3282-3289, 2013. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.05.122
- COSTA, N. M. B; ROSA, C. O. B. **Alimentos Funcionais.** Viçosa: UFV - Ed. Newton Paiva, 2006. 202p.
- EINBOND, L. S.; REYNERTSON, K. A.; LUO, X.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. **Food Chemistry**, v. 84,

- p. 23-28, 2004. DOI: 10.1016/S0308-8146(03)00162-6
- FERNANDES, L. L.; SILVA, B. M. Alimento funcional: propriedades da jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Revista Farol**, Rolim de Moura, v. 6, n. 6, p. 49-60, 2018.
- FERREIRA, F. G.; REGASINI, L. O.; OLIVEIRA, A. M.; CAMPOS, J. A. D. B.; SILVA, D. H. S.; CAVALHEIRO, A. J.; SANTOS, R. A.; BASSI, C. L.; BOLZANI, V. S.; SOARES, C. P. Avaliação de mutagenicidade e antimutagenicidade de diferentes frações e *Pterogyne nitens* (leguminosae) utilizando ensaio de micronúcleo em *Tradescantia pallida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1A, p. 61-7, 2009.
- FERREIRA, J. B.; MARTINS, B. H. B.; TOMINAGA, W. M.; LISBOA, E. M. J.; ALBIERO, L. R.; ROSA, A. C.; SUGUI, M. M. Avaliação da atividade antimutagênica/mutagênica da romã (*Punica granatum* L.) através do teste do micronúcleo in vivo. **Scientific Electronic Archives**, v. 10, n. 3, p. 76-82, 2017.
- FORTES, G. A. C.; GODOI, F. F. F.; NAVES, S. S.; FERRI, P. H.; SANTOS, C. S. Variações nos teores de polifenóis durante o amadurecimento do fruto da jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*). In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 31, Águas de Lindóia – SP, v. 94, 2008. **Anais...** Disponível em: <http://sec.s bq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T0282-1.pdf>
- GÜRGEN, S. G.; ERDOGAN, D.; ELMAS, Ç.; KAPLANOGLU, G. T.; ÖZER, Ç. Chemoprotective effect of ascorbic acid, α -tocopherol, and selenium on cyclophosphamide-induced toxicity in the rat ovary. **Nutrition**, v. 29, n. 5, p. 777-784, 2013. DOI: 10.1016/j.nut.2012.11.004
- HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JACOBY, W. B. Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 249, p. 7130-7139, 1974. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)42083-8
- HSU, J.; WU, C.; HUNG, C.; WANG, C.; HUANG, H. *Myrciaria cauliflora* extract improves diabetic nephropathy via suppression of oxidative stress and inflammation in streptozotocin-nicotinamide mice. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, p. 730-737, 2016. DOI: 10.1016/j.jfda.2016.03.009
- KLAUNIG, J. E. Oxidative Stress and Cancer. **Current Pharmaceutical Design**, n. 24, p. 4771-4778, 2018. DOI: 10.2174/1381612825666190215121712
- LENQUISTE, S. A.; MARINELLI, R. S.; MORAES, E. A.; DIONÍSIO, A. P.; BRITO, E. S.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Jaboticaba peel and jaboticaba peel aqueous extract shows in vitro and in vivo antioxidant properties in obesity model. **Food Research International**, v. 77, p. 162-170, 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.07.023
- LIMA, A. D. J.; DUARTE, C. A.; CARVALHO, A. A. P.; PATTO, A. C. M.; DANTAS-BARROS, A. M. Caracterização química do fruto jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 58, p. 416-421, 2008.
- LUIZ, T. C.; CUNHA, A. P. S.; AGUIAR, D.; SUGUI, M. M.; BICUDO, R. C.; SINHORIN, A. P.; SINHORIN, V. D. G. Antioxidant potential of *Carica papaya* Linn (Caricaceae) leaf extract in mice with cyclophosphamide induced oxidative stress. **Scientia Medica**, v. 30, p. 1-15, 2020. DOI: 10.15448/1980-6108.2020.1.34702
- LUIZ, T. C.; RIALTO, L. H.; MOURA, F. R.; AGUIAR, D. H.; SUGUI, M. M.; BICUDO, R. C.; SINHORIN, A. P.; SINHORIN, V. D. G. Chemoprotective effect of leaf extracts of *Cecropia distachya* Huber (Urticaceae) in mice submitted to oxidative stress induced by cyclophosphamide. **Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 9, n. 2, p. 103-127, 2020. DOI: 10.21664/2238-8869.2020v9i2.p103-127
- MacGREGOR, J. T.; HEDDLE, J. A.; HITE, M.; MARGOLIN, B. H.; RAMEL, C.; SALAMONE, M. F.; TIA, R. R.; WILD, D. Guidelines for the conduct of micronucleus assay in mammalian bone marrow erythrocytes. **Mutation Research**, v. 189, p. 103-12, 1987. DOI: 10.1016/0165-1218(87)90016-4
- MISRA, H. P.; FRIDOVICH, I. The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 247, p. 3170-3175, 1972. DOI: 10.1016/S0021-9258(19)45228-9
- NELSON, D. P.; KIESOW, L. A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25°C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solution in the UV). **Analytical Biochemistry**, v. 49, p. 474-478, 1972. DOI: 10.1016/0003-2697(72)90451-4
- PEREIRA, C. A. B. Teste estatístico para comparar proporções em problemas de citogenética, In: RABELLO-GAY, M. N.; RODRIGUES, M. A.; MONTELEONE-NETO, La R. (Eds.) **Mutagênese, teratogênese e carcinogênese: métodos e critérios de avaliação**. São Paulo: FCA, 1991. p.113-21.
- REYNERTSON, K. A.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Antioxidant potential of seven myrtaceae fruits. **Ethnobotan Research & Applications**, v. 3, p. 25-35, 2005. DOI: 10.17348/era.3.0.25-36
- REYNERTSON, K. A.; YANG, G.; JIANG, B.; BASILE, M. J.; KENNELLY, M. E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food chemistry**, v. 109, p. 883-890, 2008. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.01.021
- SANTOS, D. T.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: yield, composition and economical evaluation. **Journal of Food Engineering**, v. 101, p. 23-31, 2010. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2010.06.005
- SEDLACK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein bound, and nonprotein sulphhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1968. DOI: 10.1016/0003-2697(68)90092-4
- SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, v. 4, p. 180-183, 2015. DOI: 10.1016/j.redox.2015.01.002
- SILVA, G. J. F.; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*Myrciaria sp.*) **Alimentos e Nutrição**, v. 21, p. 429-436, 2010.
- SILVA, L. A.; ROCHA, L. G. C.; SCHEFFER, D.; SOARES, F. S.; PINHO, C. A.; POLIZELLI, A. B.; SILVEIRA, P. C. L.; PINHO, R. A. Resposta de duas sessões de natação sobre parâmetros de estresse oxidativo em nadadores. **Revista Brasileira de Cineantropometria & Desempenho Humano**, v. 11, n. 2, p. 160-165, 2009. DOI: 10.5007/1980-

0037.2009v11n2p160

- SILVA, R. B. M. **Modulação das alterações funcionais e sintomáticas relacionadas à cistite hemorrágica induzida por ciclofosfamida em camundongos através do bloqueio medular dos canais de cálcio voltagem-dependentes dos subtipos p/q e n.** 84f. Dissertação [Mestrado em Medicina e Ciências da Saúde] - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- SILVEIRA, C. M. M. **Efeito do kefir de água no estresse oxidativo, na inflamação e na esteatose hepática em ratos *Wistar*.** 109f. Tese [Doutorado em Bioquímica Aplicada] - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.
- SINGH, A.; KUKRETI, R.; SASO, L.; KUKRETI, S. Oxidative Stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. **Molecules**, v. 24, n. 8, e1583, 2019. DOI: 10.3390/moléculas 24081583
- STOLF, A. M. **Efeitos da Silimarina sobre a angiogênese e Estresse Oxidativo em camundongos normoglicêmicos e diabéticos.** 85f. Tese [Doutorado em Farmacologia] - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.
- SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F.; Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021. DOI: 10.3322/caac.21660
- SURH, Y. J.; FERGUNSON, L. R. Dietary and medicinal antimutagens and anticarcinogens: molecular mechanisms and chemopreventive potencial. **Mutation Research**, v. 523-524, p. 1-278, 2003. DOI: 10.1016/s0027-5107(02)00343-3
- TAN, B. L.; NORHAIZAN, M. E. LIEW, W. Nutrients and Oxidative Stress: Friend or Foe? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-24, 2018. DOI: 10.1155/2018/9719584
- TEIXEIRA, L. N.; STRINGUETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297-304, 2008.
- VIANA, K. W. C. **Efeito do consumo do extrato fenólico da casca de Jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (VELL.) O. Berg) na prevenção da aterosclerose e da doença hepática gordurosa não alcoólica em coelhos alimentados com dieta hipercolesterolemizante.** 103f. Tese [Doutorado em Ciências e Tecnologia de Alimentos] - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.
- VOLP, A. C.; RENHE, I. R.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonoides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v. 23, n. 2, p. 141-149, 2008.
- YAN, L. J.; TRABER, M. G.; PACKER, L. Spectrophotometric method for determination of carbonyls in oxidatively modified apolipoprotein B of human lowdensity lipoproteins. **Analytical Biochemistry**, v. 228, p. 349-351, 1995. DOI: 10.1006/abio.1995.1362
- YUE, E.; TUGUZBAEVA, G.; CHEN, X.; QIN, Y.; LI, A.; SUN, X.; SHAN, Q. Anthocyanin is involved in the activation of pyroptosis in oral squamous cell carcinoma. **Phytomedicine**, v. 56, p. 286-294, 2019. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.09.223
- ZHANG, Z.; PAN, T.; LIU, C.; SHAN, X.; XU, Z.; HONG, H.; LIN, H.; CHEN, J.; SUN, H. Cyclophosphamide induced physiological and biochemical changes in mice with an emphasis on sensitivity analysis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 211, p. 1-6, 2021. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111889
- WATERS, M. D.; BRADY, A. L.; STACK, H. F.; BROOKMAN, H. E. Antimutagenic profiles for some model compounds. **Mutation Research**, v. 238, p. 57-85, 1990. DOI: 10.1016/0165-1110(90)90039-e