



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO MINISTRO PETRÔNIO PORTELLA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BIOMONITORAMENTO TOXICOGENÉTICO EM SANGUE PERIFÉRICO DE
PACIENTES COM GASTRITE EM TERAPIA COM OMEPRAZOL

AG-ANNE PEREIRA MELO DE MENEZES

TERESINA – PIAUÍ
FEVEREIRO/2018

AG-ANNE PEREIRA MELO DE MENEZES

**BIOMONITORAMENTO TOXICOGENÉTICO EM SANGUE PERIFÉRICO DE
PACIENTES COM GASTRITE EM TERAPIA COM OMEPRAZOL**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante

Teresina – Piauí

Fevereiro /2018

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde
Serviço de Processamento Técnico

M541b Menezes, Ag-Anne Pereira Melo de.
Biomonitoramento toxicogenético em sangue periférico de pacientes com gastrite em terapia com omeprazol / Ag-Anne Pereira Melo de Menezes. – Teresina, 2018.
181 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2018.
"Orientação : Prof. Dra. Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante."
Bibliografia

1. *Helicobacter pylori*. 2. Morte Celular. 3. Genotoxicidade. I. Título.

CDD 615.73

Elaborada por Fabíola Nunes Brasilino – CRB-3/1014

AG-ANNE PEREIRA MELO DE MENEZES

**BIOMONITORAMENTO TOXICOGENÉTICO EM SANGUE PERIFÉRICO DE
PACIENTES COM GASTRITE EM TERAPIA COM OMEPRAZOL**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante (Orientadora)

Departamento de Bioquímica e Farmacologia | *Campus* Ministro Petrônio Portella

Prof. Dr. João Marcelo de Castro e Sousa (Examinador Interno)

Departamento de Biologia | *Campus* Senador Helvídio Nunes de Barros

Dr. Marcus Vinicius Oliveira Barros de Alencar (Examinador Externo)

Departamento de Bioquímica | *Campus* Ministro Petrônio Portella

Prof. Dr. Edilson Carvalho de Sousa Júnior (Examinador Externo)

Departamento de Medicina | *Campus* Ministro Petrônio Portella

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ

REITOR

Prof. Dr. José de Arimatéia Dantas Lopes

VICE-REITOR

Prof^ª. Dr^ª. Nadir do Nascimento Nogueira

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof^ª. Dr^ª. Regina Lúcia Ferreira Gomes

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Viriato Campos

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS

FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira

VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS

FARMACÊUTICAS

Prof^ª. Dr^ª. Marcília Pinheiro da Costa

*Dedico este trabalho em primeiro lugar a Deus, pois é meu alicerce;
minha família, amigos e professores.*

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus, por se fazer presente em todos os momentos de minha vida. Aos meus pais, Regiane Pereira Melo de Menezes e Sebastião Pereira Menezes, e meu Irmão João Carlos Pereira Melo de Menezes, que de forma especial e carinhosa me deram força e coragem, me apoiando nos momentos de dificuldades.

A Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Departamento de Bioquímica e Farmacologia da Universidade Federal do Piauí, pela oportunidade de obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas com toda a estrutura necessária para o crescimento de excelentes profissionais.

À minha orientadora Prof^a Dr^a Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante pela orientação, apoio, confiança e incentivo que tornaram possível a conclusão desta dissertação. Ao Prof^a Dr^a João Marcelo e a todo o corpo docente da instituição.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Piauí (FAPEPI); aos meus companheiros de turma do PPGCF/UFPI; ao Hospital Getúlio Vargas (HGV) e seus funcionárias pelo apoio na pesquisa.

Agradecendo em especial aos meus amigos e família LAPGENC: Rosália Torres, Antonielly Reis, José Victor, Tonny Lima, Leane Brunelle, Felipe Emmanuel, Ana Maria, Williams, Marcus Vinícius, Torequl Islam, Júnior Gomes, Keyla Machado, Kátia Machado e Márcia Fernanda; pelas alegrias compartilhadas. Com vocês, as pausas entre um parágrafo e outro de produção melhoram tudo.

À Rai Pablo, pessoa com quem amo partilhar a vida. Obrigado pelo carinho, a paciência e por sua capacidade de me trazer paz em meio correria.

... Muito Obrigado!

*“Não existe triunfo sem perda,
não há vitória sem sofrimento,
não há liberdade sem sacrifício”*

O Senhor dos Anéis – O Retorno do Rei, 2003.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
BCL-XL	Linfoma De Células B - Extra Grande
CAT	Catalase
CagA	Citotoxina associada ao gene A
CCK₂	Receptor de Colecistoquinina tipo 2
COX	Ciclooxigenase
Cxcl12	Ligando 12 de Quimioquinas C-X-C
Cxcr4	Receptor de Quimiocina Tipo 4 C-X-C
Egr1	Proteína de Resposta De Crescimento Precoce 1
ERO's	Espécies Reativas de Oxigênio
EGF	Fatores de crescimento epidermal
GPx	Glutaciona Peroxidase
GSH	Glutaciona Redutase
GSSG	Glutaciona oxidada
HGC-27	Células de Câncer Gástrico Humano
HSP70	Proteína de Choque Térmico
H⁺K⁺/ATPase	Bomba de prótons
IGF-1	Fatores de crescimento dependente de insulina-1
Nrf2	Fator Nuclear
Ntrk2	Receptor Neurotrófico Tirosina Quinase 2
OME	Omeprazol
PARP-1	Enzima Poli (ADP-Ribose) Polimerase
PGE2	Prostaglandina E
PGs	Prostaglandinas
PCNA	Antígeno Nuclear de Proliferação Celular
PPAR-γ	Receptor Ativado Por Proliferador De Peroxissomo Γ
RAW264.7	Macrófagos de Camundongos

SH-SY5Y	Células de Neuroblastoma
SOD	Superóxido Dismutase
SP	Substância P
SS	Somatostatina
SHs	Grupos sulfidrílicos não-protéicos
Syk	Proteína Tirosina Quinase
TRADD	Receptor TNF associado ao domínio da morte
TGF	Fator de Transformação do Crescimento
THP	Micróglia Humana
TNF	Fator de necrose tumoral
TNFR1	Receptor de morte tipo I
TRAP	Fosfatase Ácida Resistente Ao Tartarato
VIP	Peptídeo Intestinal Vasoativo

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1. Divisão esquemática do corpo da dissertação.	21
Figura 2: Ilustração esquemática do estômago.	24
Figura 3: Principais mediadores da secreção ácida gástrica.	25
Figura 4: Ilustração esquemática da secreção do ácido clorídrico (HCl) pela célula parietal gástrica.	26
Figura 5. Sistema antioxidante.	30
Figura 6: Estrutura química do omeprazol.	34
Figura 7. Conversão do omeprazol em sulfenamida nos canalículos ácidos da célula parietal.	35
Figura 8: Representação esquemática da via extrínseca da apoptose.	40
Figura 9: Representação esquemática da via intrínseca da apoptose.	41
Figura 10. Alterações nucleares induzidas por agentes citotóxicos e genotóxicos.	44

CAPÍTULO I

Figura 1: Diagrama da obtenção, análise, exclusão e avaliação de artigos científicos	63
Figura 2: Mecanismos de proteção da morte celular	88
Figura 3: Mecanismos de indução da morte celular	93

CAPÍTULO II

Figura 1. Perfil fotomicrográfico de linfócitos de sangue periférico de pacientes em terapias com Omeprazol, analisado por ensaio cometa destacando os aumentos de danos genéticos ao DNA (0 - 4). D0: Dano 0; D1: Dano 1; D2: Dano 2; D3: Dano 3 e D4: dano 4. AP: Apoptoses. Células coradas com nitrato de prata. Microscopia óptica com aumento de 400 X.	122
Figura 2 - Danos genotóxicos em linfócitos de pacientes em terapias com Omeprazol avaliados pelo: (A) Índice de Danos (ID) e (B) Frequência de Danos (FD). SG (Sem Gastrite, n=26); G (Gastrite-n=26); G+HP (Gastrite + <i>H.pylori</i> ,	123

n=16); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, n=22), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, n=26), **G+HP+OME** (Gastrite + *H.pylori* + Omeprazol, n=16). Os valores representam a média ± D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA (R=0,9850)), seguido do teste de Bonferroni (*post hoc test*) ^ap<0,0001 comparado a SG, ^bp<0,0001 comparado a G, ^cp<0,05 em relação a G+HP.

Figura 3 - Danos apoptóticos em linfócitos de pacientes em terapias com Omeprazol. **SG** (Sem Gastrite, n=26); **G** (Gastrite-n=26); **G+HP** (Gastrite + *H.pylori*, n=16); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, n=22), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, n=26), **G+HP+OME** (Gastrite + *H.pylori* + Omeprazol, n=16). Os valores representam a média ± D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA (R=0,9850)), seguido do teste de Bonferroni (*post hoc teste*) ^ap<0,0001 comparado a SG, ^bp<0,0001 comparado a G, ^cp<0,05 em relação a G+HP. 124

Figura 4 - Perfil das dosagens de enzimas antioxidantes em eritrócitos de pacientes com gastrite em terapias com Omeprazol. Em **A** Catalase, **B** Superóxido Dismutase e **C** Glutathione. **SG** (Sem Gastrite, n=26); **G** (Gastrite-n=26); **G+HP** (Gastrite + *H.pylori*, n=16); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, n=22), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, n=26), **G+HP+OME** (Gastrite + *H.pylori* + Omeprazol, n=16). Os valores representam a média ± D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA (R=0,9850)), seguido do teste de Bonferroni (*post hoc test*). ^{***}p<0,0001 comparado a SG. 125

Figura 5 - O Omeprazol no aumento dos níveis de peroxidação lipídica (**A**) e de nitrito (**B**) em eritrócitos de pacientes com gastrite. **SG** (Sem Gastrite, n=26); **G** (Gastrite-n=26); **G+HP** (Gastrite + *H.pylori*, n=16); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, n=22), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, n=26), **G+HP+OME** (Gastrite + *H.pylori* + Omeprazol, n=16). Os valores representam a média ± D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA (R=0,3619)), seguido do teste de Bonferroni (*post hoc test*). ^{***}p<0,0001 comparado a cada grupo separadamente. 126

Figura 6 - Diferenças entre os sexos masculino (n=66) e feminino (n=66) em relação às respostas aos danos genotóxicos (**A**) e perfil de defesas antioxidantes e de danos oxidativos (**B e C**). **SG** (Sem Gastrite, n=26); **G** (Gastrite-n=26); **G+HP** (Gastrite + *H. pylori*, n=16); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, n=22), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, n=26), **G+HP+OME** (Gastrite + *H. pylori* + Omeprazol, n=16). Os valores representam a média ± D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA), seguido do teste de Bonferroni (*post hoc test*) Valores significantes para *p<0,05. 127

Figura 7 - Correlações de *Pearson r* entre os índices de danos ao DNA e percentuais (%) de apoptoses em linfócitos de pacientes em terapias com Omeprazol. **A** (Sem Gastrite); **B** (Sem Gastrite + Omeprazol); **C** (Gastrite); **D** (Gastrite + Omeprazol); **E** (Gastrite + *H .pylori*) e **F** (Gastrite + *H.pylori* + Omeprazol). 128

Figura 8 Possíveis metabólitos do omeprazol OME associados a riscos de genotoxicidade	133
Figura 9 - Possíveis sugestões para mecanismos dos metabólitos do OME frente aos riscos para o câncer	138

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Atividade antioxidante do OME em estudos não clínicos.	65
Tabela 2: Atividade anti-inflamatória do OME em estudos clínicos e não clínicos	70
Tabela 3: Atividade gastroprotetora do OME em estudos não clínicos	76
Tabela 4: Atividade antinecrótica do OME em estudos não clínicos	82
Tabela 5: Atividade antiapoptótica do OME em estudos não clínicos	84
Tabela 6: Atividade apoptótica do OME em estudos não clínicos	90

CAPÍTULO II

Tabela 1 – Aspectos socioculturais dos pacientes com gastrite em terapias com Omeprazol no Hospital Getúlio Vargas (Teresina-PI/2017)	120
Tabela 2 - Aspectos de saúde e terapêuticos dos pacientes em terapias com Omeprazol no Hospital Getúlio Vargas (Teresina-PI/2017)	121
Tabela 3 - Correlações entre os biomarcadores citogenéticos, enzimáticos, oxidativos e parâmetros sócio-culturais e de saúde em pacientes em terapias com Omeprazol.	129

SUMÁRIO

RESUMO	17
ABSTRACT	18
1 INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	22
2.1 Geral	22
2.2 Específicos	22
3 REFERENCIAL TEÓRICO	23
3.1 Caracterização anátomo-fisiológica do estômago e predisposição para as lesões gástricas	23
3.2 A <i>Helicobacter pylori</i> e lesões gástricas	27
3.3 Mecanismos de proteção e agressão da mucosa gástrica	27
3.4 Patologias gástricas	32
3.5 As terapias de patologias gástricas com IBP's	33
3.6 O omeprazol em terapias gástricas	34
3.7 Genotoxicidade de fármacos	36
3.8 Alterações nucleares induzidas por agentes mutagênicos: apoptose e necrose	38
3.9 Biomarcadores citogenéticos	42
REFERÊNCIAS	45
<i>Capítulo 1 - POSSÍVEIS EFEITOS DO OMEPRAZOL ASSOCIADOS À MORTE</i>	
CELULAR	58
RESUMO	59
ABSTRACT	60
1 INTRODUÇÃO	61
2 METODOLOGIA	62
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4 CONCLUSÃO	93
REFERÊNCIAS	94
<i>Capítulo II - RISCOS DE INSTABILIDADE GENÉTICA INDUZIDOS PELO</i>	
OMEPRAZOL EM PACIENTES COM GASTRITE	108
RESUMO	109

ABSTRACT	110
1 INTRODUÇÃO	111
2 METODOLOGIA	113
3 RESULTADOS	118
4 DISCUSSÃO	129
5 CONCLUSÃO	140
REFERÊNCIAS	141
CONSIDERAÇÕES FINAIS	153
ANEXOS	155
ANEXO I – CARTA DE SUBMISSÃO DO ARTIGO REFERENTE AO CAPÍTULO I	155
ANEXO II - INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS - QUESTIONÁRIO PESSOAL	157
ANEXO III - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	161
ANEXO IV- PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP	168

Biomonitoramento toxicogenético em sangue periférico de pacientes com gastrite em terapia com omeprazol. AG-ANNE PEREIRA MELO DE MENEZES. Orientadora: Dra. Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante. 181p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF, Universidade Federal do Piauí - UFPI, 2018.

RESUMO

A gastrite é uma inflamação na parede do estômago, devido ao desequilíbrio entre os agentes lesivos (ácido clorídrico e pepsina) e os de proteção da mucosa gástrica. Os principais fármacos de escolha no tratamento de patologias associadas aos efeitos do ácido gástrico incluem os inibidores da bomba de prótons (IBP's) que promovem um bloqueio eficaz da secreção ácida basal. Porém, os IBP's estão associados com algumas alterações patológicas, pois esses fármacos são de uso prolongado e intermitente, o que pode acarretar alguns danos genotóxicos e/ou efeitos carcinogênicos. O presente estudo teve por objetivo avaliar os efeitos do omeprazol associados à morte celular e monitorar seus efeitos toxicogenéticos em terapias clínicas de pacientes com gastrite. Para os estudos de toxicogenética clínica com aplicação da versão alcalina do ensaio cometa, bem como determinação do perfil antioxidante endógeno, 132 pacientes foram distribuídos nos grupos sem gastrite (26 pacientes); com gastrite (26 pacientes); com gastrite infectados com *Helicobacter pylori* (16 pacientes); sem gastrite em terapia com omeprazol (22 pacientes); com gastrite em terapia com omeprazol (26 pacientes); com gastrite e *H. pylori* em terapia com omeprazol (16 pacientes). Os estudos apontaram que o omeprazol apresenta efeitos controversos, pois pode prevenir a morte celular e ter capacidade apoptótica. O omeprazol induziu danos genotóxicos e apoptoses em pacientes com gastrite na presença e na ausência do *H. pylori*, entretanto, os danos ao DNA em linfócitos dos pacientes foram significativamente aumentados na terapia com omeprazol. Também foi observado danos oxidativos, especialmente por peroxidação lipídica e aumento de nitrito, bem como aumento de catalase e superóxido dismutase, que mesmo com aumento de defesas antioxidantes ainda levam a apoptose e instabilidade genética por genotoxicidade. Correlações positivas foram evidenciadas entre os biomarcadores citogenéticos, bem como entre o tabagismo, exercício físico e exposição a químicos com os danos ao DNA e com apoptose. Em síntese, a instabilidade genética e apoptose induzidas pelo OME podem estar relacionadas aos seus efeitos oxidativos. Assim, o estudo aponta a necessidade de biomonitoramento clínico da terapia com omeprazol.

Palavras Chave: *Helicobacter pylori*. Morte Celular. Genotoxicidade.

Biomonitoramento toxicogenético em sangue periférico de pacientes com gastrite em terapia com omeprazol. AG-ANNE PEREIRA MELO DE MENEZES. Orientadora: Dra. Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante. 181p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF, Universidade Federal do Piauí - UFPI, 2017.

ABSTRACT

Gastritis is an infiltration of the gastric mucosa that inducing inflammation in the stomach wall due to the imbalance between the harmful agents (hydrochloric acid and pepsin) and mucous gastric protection. The major drugs of choice in the treatment of pathologies associated with the effects of gastric acid include Proton Pump Inhibitors (PPIs) which promote effective blockade of basal acid secretion. However, PPIs are associated with some pathological alterations, since these drugs are prolonged and intermittent use, which can lead to some genotoxic damage and / or carcinogenic effects. The present study aimed to evaluate the effects of omeprazole associated with cell death and to monitor its toxicogenic effects in clinical therapies of patients with gastritis. Clinical toxicogenic studies with application of the alkaline version of the comet test were applied, as well as dosage of endogenous antioxidant profile. 132 patients were distributed in the groups without gastritis (26 patients); with gastritis (26 patients); with gastritis infected with *Helicobacter pylori* (16 patients); without gastritis in omeprazole therapy (22 patients); with gastritis in omeprazole therapy (26 patients); with gastritis and *H. pylori* on therapy with omeprazole (16 patients). Studies show that omeprazole has controversial effects, since it can prevent cell death and it may have apoptotic capacity. Omeprazole induced genotoxic damage and apoptosis in a patient with gastritis in the presence and absence of *H. pylori*, however DNA damage in patients lymphocytes was significantly increased in omeprazole therapy. It was also observed an increase of catalase and superoxide dismutase, even with the increasement of oxidant defences this lead to apoptose and genetic instability by genotoxicity. Positive correlations were evidenced between cytogenetic biomarkers, as well as between smoking, physical exercise and exposure to chemicals with DNA damage and apoptosis. Thus, genetic instability and apoptose induced by OME could be related to its oxidative effects. With this, the study points out the necessity for clinical biomonitoring of omeprazole therapy.

Key words: *Helicobacter pylori*. Cell Death. Genotoxicity.

1 INTRODUÇÃO

As lesões gástricas constituem um problema de saúde mundial com prevalência e incidência associadas aos fatores relacionados ao cotidiano dos indivíduos. O desenvolvimento de lesões ocorrem nas regiões expostas à ação do ácido gástrico que possui pH fortemente ácido, que necessitam de mecanismos de defesa para proteger o esôfago e o estômago. Em condições fisiológicas normais, os fatores de proteção exercem um papel fundamental na proteção da mucosa gástrica contra a atividade da secreção ácido-pepsina (MONTROSE et al., 2006; MEGALA; GEETHA, 2010; BANSAL; GOEL, 2012). Porém, quando os fatores de proteção da mucosa gástrica não são capazes de conter os efeitos dos fatores agressivos, a mucosa do trato gastrointestinal torna-se susceptível a formação de lesões ulcerativas. A integridade funcional da mucosa gástrica depende do balanço entre mecanismos agressivos e defensivos, se esse balanço é perdido, ocorrem lesões gástricas (ABDEL-SALAM et al., 2001; ARAWAWALA et al., 2010; NISHIZAWA et al, 2017).

As alterações gástricas causam doença clínica podendo ser desde uma gastrite crônica leve até um carcinoma gástrico. A gastrite crônica, inflamação da mucosa do estômago, é um precursor para alterações patológicas mais severas, como a úlcera péptica e o câncer gástrico. Alterações na mucosa gástrica foram associadas com a produção aumentada de ácido, estresse e ansiedade, levando a úlceras ou processos mais invasivos, como adenocarcinoma. No entanto, após a descoberta do *Helicobacter pylori* há evidências de associação autêntica entre essa bactéria e doenças pré-cancerosas, a longo prazo, como gastrite crônica atrófica e o desenvolvimento de câncer gástrico (EBULE; LONGDOH; PALOHEIMO; 2013; GRAHAM, 2014; KUSANO et al, 2017).

Os fármacos anti-secretórios ainda são as melhores opções na terapia de lesões gástricas, porém seu uso prolongado tem sido associado à incidência de fraturas e câncer. Os inibidores da bomba de prótons (IBP's) são considerados os supressores mais eficazes da secreção de ácido gástrico, ao bloquear a ação da bomba de prótons das células parietais gástricas, estes fármacos agem bloqueando o estágio final da secreção de íons hidrogênio. Um dos fármacos componente desse grupo é o omeprazol (BRUNTON, 2012; SEREBROVA et al, 2017). O pH elevado, como consequência da terapia com IBP's, leva a um aumento de gastrina, responsável pela hipersecreção de ácido gástrico, que tem sido associada ao crescimento de tumores gastrointestinais (YANG et al., 2006; LEEDHAM et al., 2007; COTE; HOWDEN, 2008).

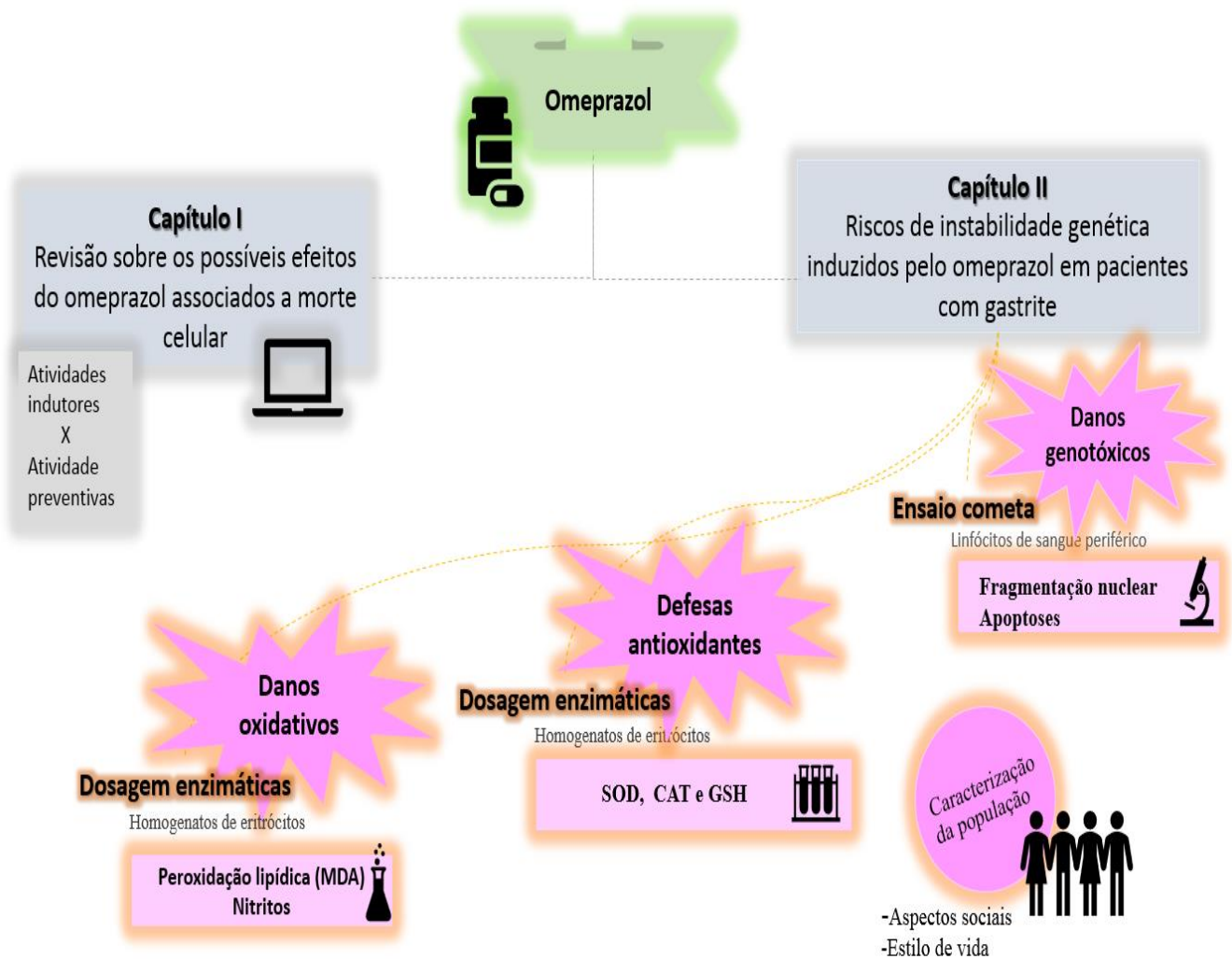
No tratamento dos distúrbios gastrointestinais são utilizados inúmeros medicamentos de forma intermitente ou prolongada. A utilização em longo prazo de omeprazol em humanos pode então relacionar-se com a proliferação de células e tumores carcinoides (BRAGA; DA SILVA; ADAMS, 2012). Apesar de sua eficácia, evidências sugerem que o tratamento com omeprazol (OME) pode alterar a flora bacteriana do trato gastrointestinal levando à má absorção, infecções entéricas e causar lesões agudas ou crônicas para as células da glândula gástrica pelo efeito compensatório em resposta à diminuição de ácido (YANAGIHARA et al., 2015). O OME possui ação que ocorre a partir do acionamento seletivo e covalente com a H^+/K^+ ATPase, em particular da cisteína 813 extracelular, induzindo à inibição pujante da secreção de ácido gástrico e desencadeando uma alteração da flora estomacal. Em nível molecular, essa hipo ou acloridria desencadeia a formação de N-nitrosaminas que podem induzir danos ao DNA e provocar anomalias nucleares, como micronúcleos, picnose e cariorrexe (THONGON; KRISHNAMRA, 2011; NOVOTNA et al., 2014; HUANG et al., 2017).

Os fármacos podem causar danos genotóxicos e/ou efeitos carcinogênicos e, por isso, devem ser considerados na avaliação do benefício diante do risco (BRAMBILLA; MATTIOLI; MARTELLI, 2010; BRAMBILLA et al., 2010; DOWNES; FOSTER, 2015). Para avaliar a carcinogenicidade de produtos farmacêuticos, estudos a longo prazo devem ser realizados em todos os medicamentos de uso clínico contínuo. Os biomarcadores citogenéticos podem ser utilizados quando se pretende identificar instabilidade genética oriunda de exposição a químicos (LEE; KIM; KANG, 2017). Os biomarcadores genotóxicos relacionam-se as substâncias que provocam um efeito nocivo ao material genético, e os biomarcadores mutagênicos relacionam-se as substâncias que provocam mudanças na estrutura ou no número de cromossomos observados e quantificados mediante técnicas citogenéticas (LUZHNA; KATHIRIA; KOVALCHUK, 2013).

Visando a necessidade de compreensão dos possíveis efeitos do omeprazol, o presente trabalho objetivou o monitoramento dos efeitos toxicogênicos do omeprazol em terapia clínica de pacientes com gastrite em linfócitos de sangue periférico, pela frequência de biomarcadores citogenéticos indicativos de genotoxicidade, danos oxidativos e apoptoses, bem como avaliar os possíveis mecanismos de danos oxidativos e defesas antioxidantes endógenas, incluindo as correlações entre biomarcadores citogenéticos, estresse oxidativo, defesas enzimáticas e estilo de vida. A dissertação em foco compreende a uma revisão sistemática sobre os possíveis efeitos do omeprazol associados à morte celular apresentada no

Capítulo I; e os resultados do estudo de biomonitoramento clínico da terapia com omeprazol em pacientes com gastrite, com aplicação de biomarcadores citogenéticos indicativos de danos ao DNA e riscos de apoptose estão apresentados no **Capítulo II**, como representado na **Figura 1**.

Figura 1. Divisão esquemática do corpo da dissertação.



2. OBJETIVOS

2.1 Geral

- Monitorar os efeitos toxicogénicos do omeprazol (OME) e seus possíveis mecanismos de ação, em linfócitos de sangue periférico de pacientes com gastrite em terapia clínica, pelas frequências de biomarcadores citogenéticos indicativos de genotoxicidade e apoptose.

2.2 Específicos

- Elaborar um artigo de revisão sistemática sobre os possíveis efeitos do OME associados à morte celular;
- Caracterizar a população em estudo quanto aos seus aspectos sociais e estilo de vida, bem como de saúde, pela aplicação de questionário aprovado cientificamente;
- Identificar os possíveis riscos genotóxicos pelo índice e frequência de danos ao DNA em linfócitos de sangue periférico com aplicação do ensaio cometa versão alcalina;
- Avaliar os riscos de apoptose pela fragmentação nuclear em linfócitos de sangue periférico com aplicação do ensaio cometa versão alcalina;
- Identificar os níveis de defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas pela dosagem de catalase, superóxido dismutase e glutathione reduzida em homogenatos de eritrócitos;
- Avaliar os possíveis mecanismos de danos oxidativos do OME em homogenatos de eritrócitos pelos níveis de indução de peroxidação lipídica e por aumento de nitritos;
- Estabelecer correlações estatísticas entre os biomarcadores citogenéticos e entre estes com os aspectos sociais e estilo de vida.

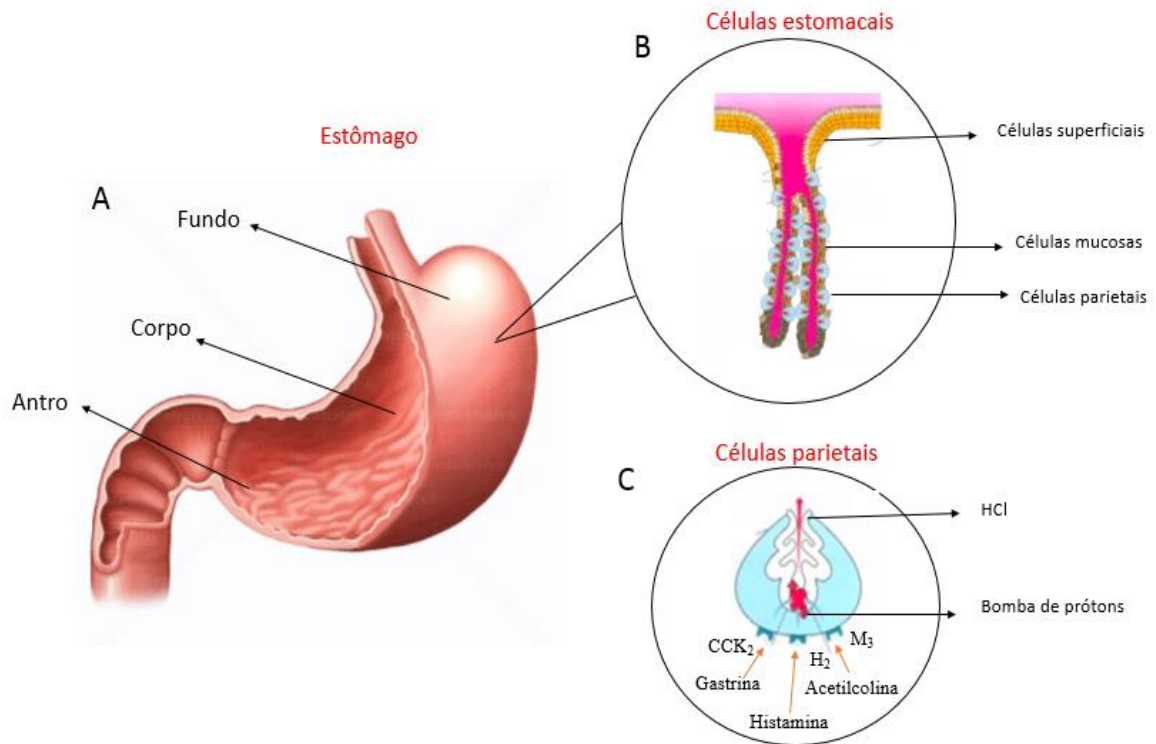
3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Caracterização anátomo-fisiológica do estômago e predisposição para as lesões gástricas

O estômago é um órgão visceral, oco, com paredes estratificadas. Possui funções exócrinas e endócrinas, realiza processos de digestão, absorção e proteção. Sua localização é abaixo do diafragma, contudo sua porção maior é porção à esquerda do plano mediano corpóreo. Tem como função o armazenamento temporário dos alimentos, atuação enzimática para a digestão, secreção de íons de hidrogênio para manter o pH ácido, secreção de muco promovendo a lubrificação e proteção da mucosa gástrica (SILVERTHORN, 2010; FEHER, 2012).

O estômago (**Figura 2**) está dividido em 3 porções: fundo, corpo e antro pilórico, as duas regiões funcionais da mucosa gástrica são: glândulas pilóricas e oxíntica. As glândulas oxínticas, responsável pela secreção do ácido clorídrico, estão localizadas no fundo e no corpo do estômago constituída por células D produtoras de somatostatina; células principais responsáveis pela secreção do pepsinogênio, células do tipo enterocromafins responsáveis pela secreção da histamina, células parietais secretam principalmente ácido clorídrico e fator intrínseco e as células mucosas responsáveis pela secreção do muco e de íons bicarbonato. As glândulas pilóricas situam-se no antro do estômago e apresentam os mesmos tipos celulares que as glândulas oxínticas, exceto as células parietais, e ainda por células G, que quando estimuladas libertam o hormônio gastrina, principal responsável pela secreção ácida gástrica (NETTER, 2000; JAIN et al., 2006; FERRUA; SINGH, 2010). As células parietais presentes na mucosa gástrica, quando estimuladas, são responsáveis pela secreção de ácido clorídrico (HCL) através da H⁺K⁺ - adenosina trifosfatase (H⁺K⁺/ATPase – bomba de prótons) através da membrana canalicular (YAO; FORTE, 2003).

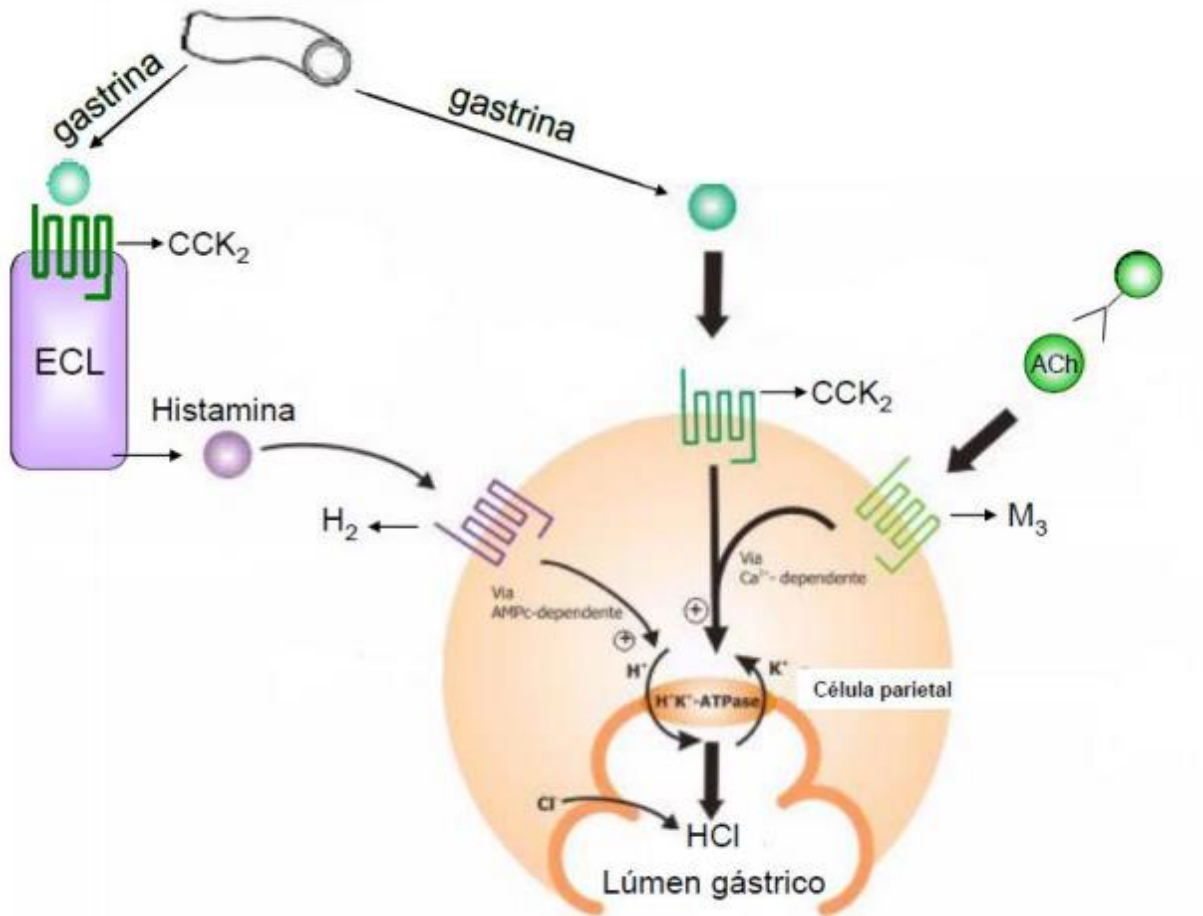
Figura 2: Ilustração esquemática do estômago. Em A- Anatomia do estômago, B- Células presentes mucosa estomacal e C- Estímulos para liberação do HCL.



Fonte: Adaptado de NETTER, 2000.

O pH do HCL é extremamente ácido, sua secreção é controlada por sinas neuronais (acetilcolina), parácrinos (histamina) e endócrinos (gastrinas) quando ligados a seus receptores específicos (muscarínicos - M₃, histaminérgicos - H₂, colecistocinina tipo 2 - CCK₂) localizados na membrana basolateral das células parietais. No corpo gástrico, dos vasos sanguíneos em direção ao tecido submucoso das glândulas do fundo gástrico, a gastrina estimula liberação de secreção de ácido ligando-se aos receptores CCK₂, existentes nas células parietais e nas células tipo enterocromafins. A acetilcolina estimula a secreção de pepsinogênio pelas células pépticas, HCL pelas células parentais e muco pelas células mucosas (KONTUREK et al., 2005; SCHUBERT, 2014). As células enterocromafins estimuladas pela gastrina ou pela acetilcolina promove a liberação de histamina, que se liga aos receptores H₂ encontrados nas células parietais estimulando a secreção de ácido pela bomba de prótons (**Figura 3**) (OLBE et al., 2003. WALLACE; SHARKEY, 2012; KENNETH; MCQUAID, 2014).

Figura 3: Principais mediadores da secreção ácida gástrica.



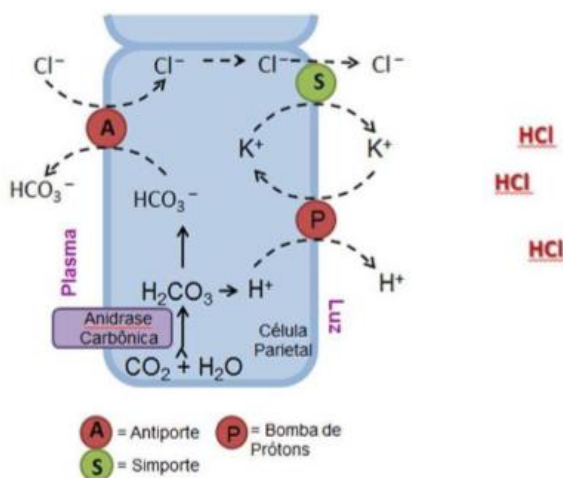
Fonte: Adaptado de OLBE et al., 2003.

Um dos principais mecanismos de inibição da secreção ácida é através do hormônio somatostatina liberada das células D da mucosa oxíntica e pilórica (SCHUBERT; PEURA, 2008) funciona como regulador pancreático, ocorre como consequência da elevação da concentração de ácido e da liberação de colecistocinina na corrente sanguínea, em resposta à presença de proteínas e lipídeos. Liga-se aos receptores nas células G, inibindo a formação do AMP cíclico por adenilil ciclase que inibe a fusão dos calículos aos túbulovesículas suspendendo a secreção ácida (CORLETO, 2010; KOPIC; GEIBEL, 2013). A inibição da secreção ácida também é controlada pela prostaglandina E (PGE2) relaciona-se com a regulação da acidez, ligando-se aos receptores do tipo EP3 que são acoplados a proteína G

promovendo diminuição do AMP cíclico na célula parietal o que resulta na inibição da secreção ácida (KONTUREK; KONTUREK; BRZOZOWSKI, 2005; NISHIO et al., 2007).

A bomba de prótons possui duas subunidades: a subunidade que protege a enzima da degradação, matem a estrutura e o funcionamento; e a subunidade catalítica responsável pela troca de H^+ intracelular pelo potássio (K^+) luminal e liberação de Cl^- para o lúmen através de canais de íons cloreto (SCHUBERT; PEURA, 2008). A bomba de prótons ($H^+-K^+ /ATPase$) é localizada na membrana apical das células parietais, estas células contêm abundantes vesículas que estocam essas bombas, que quando estimuladas iniciam a formação de HCL, promovem o transporte ativo de prótons (H^+) contra um gradiente de concentração. A célula produz em abundância gás carbônico (CO_2) e água (H_2O), que são subprodutos do seu metabolismo, sob ação da anidrase carbônica, há junção do CO_2 e H_2O formado a ácido carbônico (H_2CO_3) (RANG et al., 2011) (**Figura 4**), que se ioniza liberando H^+ e bicarbonato (HCO_3^-). O H^+ é lançado para o lúmen gástrico, através transporte de antiporte, e promovendo a entrada de K^+ para dentro da célula. O HCO_3^- é direcionado para o plasma sanguíneo, pois este é um tampão plasmático, em troca de um íon cloreto (Cl^-). Através de um processo de transporte ativo secundário de simporte, o Cl^- e o K^+ são lançados para luz gástrica, onde o Cl^- une-se ao H^+ para formação do HCL (HOU; SCHUBERT, 2006; REPETTO; LLESUY, 2006; SCHUBERT; PEURA, 2008; RAMSAY; CARR, 2011).

Figura 4: Ilustração esquemática da secreção do ácido clorídrico (HCl) pela célula parietal gástrica. A secreção envolve uma bomba de prótons (P), um carregador de simporte para K^+ e Cl^- e um antiporte para íons Cl^- e HCO_3^- .



Fonte: Adaptado de RANG et al., 2011.

3.2 A *Helicobacter pylori* e lesões gástricas

A *H. pylori* produz enzimas e toxinas capazes de interferir na proteção local da mucosa gástrica contra o HCL. A infecção por esta bactéria também promove um *feedback* negativo, pois estimulando a liberação de gastrina provocando aumentando a secreção de ácido gástrico. A uréase ativada pela *H. pylori* aumenta o pH gástrico estimulando a liberação de somatostatina, promovendo o aumento da secreção de ácido por estimular a gastrina. A via neuronal também é afetada resultando no rompimento das conexões neuronais fundo-antral, responsável pela secreção de HCL (MALFERTHEINER et al., 2009).

A lesão gástrica relacionada com a *Helicobacter pylori* juntamente com o HCL causam resposta inflamatória provocando infiltração de neutrófilos e macrófagos, ativação de citocinas, interleucinas IL-8 e IL-1 β , aumento de enzimas lisossomais, leucotrienos e EROs. Esta bactéria relaciona-se com o surgimento de doença ulcerosa péptica, 95% das úlceras duodenais e 70% das gástricas. A associação de medicamentos antiulcerogênicos com antibióticos são utilizados para erradicação da bactéria e acelerar o processo de cicatrização, porém já são relatados casos de cepas resistentes à antibióticos dificultando o tratamento (MALFERTHEINER et al., 2009; WANNMACHER, 2011).

O que permite a sobrevivência dessa bactéria em um ambiente ácido presente no estômago, e através da enzima uréase que converte a ureia, produto do metabolismo proteico, em amônia (NH₃) e dióxido de carbono (CO₂); a amônia é capaz de neutralizar o H⁺ e promover a formação de hidróxido de amônio (NH₄OH), criando uma nuvem alcalina ao redor da bactéria protegendo-a do ambiente ácido. A *H. pylori* é responsável pela Hipergastrinemia que desencadeia um efeito trófico e hiperplasia das células enterocromafins e parentais (RAMSAY; CARR, 2011; FIOCCA et al., 2012). A *H. pylori* é um bacilo gram-negativo, possuem como fatores de virulência os flagelos, fatores de adesão, enzima uréase, citosinas, proteases que destroem a camada protetora de muco (KONTUREK et al., 2005).

3.3 Mecanismos de proteção e agressão da mucosa gástrica

As lesões gástricas constituem um problema de saúde mundial com prevalência e incidência associados aos fatores relacionados ao cotidiano dos indivíduos, bem como com a infecção por *Helicobacter pylori*. A mucosa do estômago é exposta a pH fortemente ácido ($\cong 1$) ocorrendo nas regiões que ficam expostas à ação do ácido gástrico, o desenvolvimento de lesões que podem ser decorrentes da alteração do equilíbrio entre os fatores de proteção e

agressão da mucosa gástrica (MEGALA; GEETHA, 2010; BANSAL; GOEL, 2012). Os fatores de proteção incluem as defesas pré-epiteliais, produção de bicarbonato e muco, óxido nítrico (NO), fluxo sanguíneo, prostaglandinas, regulação celular, fatores de crescimento, grupos sulfidrílicos não-protéicos (SHs) e defesas antioxidantes. Os fatores agressivos endógenos incluem a secreção gástrica, pepsina, radicais livres, refluxo biliar e processos isquêmicos. Os fatores agressivos exógenos incluem a *Helicobacter pylori*, os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), consumo de álcool e estresse (TAKAYAMA et al., 2011; BRZOZOWS et al., 2012).

Em condições fisiológicas normais, os fatores de proteção exercem um papel fundamental na proteção da mucosa gástrica contra a atividade da secreção ácido-pepsina. A concentração elevada de H⁺ no lúmen gástrico necessitam de mecanismos de defesa para proteger o esôfago e o estômago. A primeira linha de defesa da mucosa gástrica são as defesas pré-epiteliais composta por muco que reveste a mucosa, íons bicarbonatos contribuem para manter o pH aproximadamente neutro e fosfolípidios tensoativos que revestem a superfície luminal do muco que impede a difusão do HCL, essa barreira é constantemente renovada funcionando como proteção entre o conteúdo do lúmen gástrico e o tecido. A barreira física também protege dos efeitos do ácido e pepsina, evitando a digestão proteolítica do epitélio (TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010; RAMSAY; CARR, 2011).

O bicarbonato de sódio provoca uma neutralização ácida de início rápido, porém passageira. O óxido nítrico (NO) desempenha função de proteção do estômago através do aumento da secreção de muco, bicarbonato e fluxo sanguíneo na mucosa, inibe secreção de ácido gástrico, ativação de neutrófilos e aderência resultando em citoproteção (BRZOZOWS et al., 2008). A microcirculação gástrica é importante na produção e secreção de muco, suprimento nutricional, disponibilizando hormônios e oxigênio para o funcionamento do tecido gástrico (KAWANO; TSUJI, 2000) e o mediador lipídico prostaglandinas (PGs) que se encontra presente na membrana fosfolipídica das células, produto do metabolismo do ácido araquidônico participam desse processo. As PGs originadas da COX-1 estão envolvidas na citoproteção e as PGs originárias COX-2 regulam processos inflamatórios, angiogênese e reparo celular (STARODUB et al., 2008; FORNAI et al., 2010). As COXs que atuam na defesa da mucosa gástrica agem em sinergismos, pois a COX-2 aumenta sua atividade para suprir as PGs quando COX-1 é inibida, quando isso ocorre aumenta a motilidade gástrica resultando na hipóxia tecidual, alteração do fluxo sanguíneo e fatores que podem ser controlados pela ação reflexa da COX-2 (TANAKA et al., 2002).

As células epiteliais protegem a mucosa, através da produção de muco e seus componentes, essas células estão organizadas por junções estreitas e as uniões do tipo GAP promovendo integridade e aderência, impedindo a retrodifusão de HCL e pepsina no tecido. A renovação contínua do epitélio é outro fator de proteção e é coordenada por fatores de crescimento tais como: epidermal (EGF), transformante- α (TGF- α) e dependente de insulina-1 (IGF-1) que são ativados por PGE2 e gastrina (PAI et al., 2002; LAINE et al., 2008).

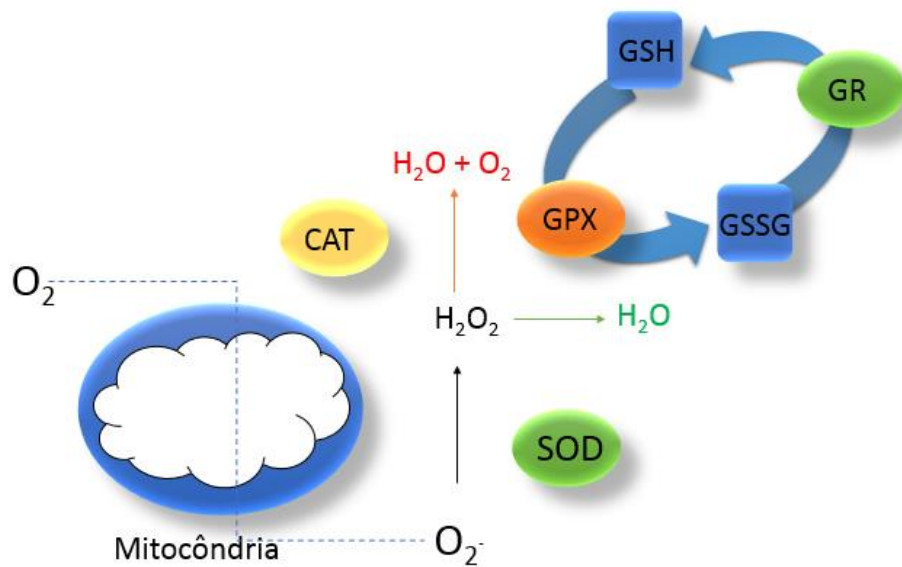
O estresse é um dos principais fatores de agressor da mucosa gástrica, está intimamente ligado ao estio de vida ocasionando sintomas como ansiedade e dificuldades de concentração (KENNETH; MCQUAID, 2014). O uso não controlado dos AINEs tem propiciado o surgimento de diversos efeitos colaterais, como desenvolvimento de lesões ulcerogênicas. Os efeitos dos AINEs ocorrem devido à inibição da cicloxigenase (COX) inibindo a síntese das prostaglandinas, resultando na diminuição da produção de bicarbonato e muco, altera também o fluxo sanguíneo diminuído a proteção e o reparo da mucosa gástrica (LAINE et al., 2008; STEWART; ACKROYD, 2011). A propriedade ácida juntamente com a baixa polaridade dos AINEs contribui para a ação detergente dos mesmos, que em contato com a mucosa gástrica, desestabilizam a camada de fosfolípídeos, que possuem propriedades hidrofóbicas no qual repelem o ácido gástrico e agentes lesivos hidrossolúveis e danificam diretamente as células epiteliais levando a apoptose e/ou necrose (ORRENIUS, 2007; MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

A primeira linha de defesa contra as espécies reativas (EROs) são as enzimas antioxidantes que incluem a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GSH-px) e glutathione redutase (GR). As defesas antioxidantes protegem os tecidos e líquidos corpóreos da lesão causada pelos Radicais Livres, produzidos pelo metabolismo normal, pela resposta à inflamação e às doenças, ou provenientes de fontes externas. Eles estão em permanente atividade no organismo, visto que a sua produção também é constante. O grupo dos antioxidantes é constituído por ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, substâncias hidrossolúveis e enzimas, alguns derivam-se principalmente da dieta, como no caso das vitaminas E, C, do beta caroteno, Zn e Se (CNUBBEN et al, 2001; GUILLAND; LEQUEU, 2011).

As enzimas antioxidantes atuam em conjunto para diminuir a quantidade de EROs, como integrantes de um sistema antioxidante (**Figura 5**) (WU; KOSTEN; ZHANG, 2013). Distúrbios na atividade dessas enzimas pode levar a célula ao quadro de estresse oxidativo, o que resulta na peroxidação lipídica. O radical superóxido (O_2^\bullet) é resultante da ação das

oxidases, da auto-oxidação da hemoglobina e da fotólise. O O_2 torna-se mais reativo ao ser convertido no H_2O_2 pela SOD, que se decompõe no radical hidroxil, radical mais reativo das EROs, na presença do ferro. O H_2O_2 pode ser metabolizado em água e oxigênio pela ação da CAT que impede a formação de radicais hidroxil. A GPx converte tanto o peróxido de hidrogênio quanto os radicais hidroxil em formas não tóxicas, conjugando esses radicais com a glutatona reduzida (GSH) secretada pelas células epiteliais, gerando a glutatona oxidada (GSSG). A GSSG é reconvertida a GSH pela ação da GR (WU; KOSTEN; ZHANG, 2013).

Figura 5. Sistema antioxidante. Esquemática da geração de espécies reativas de oxigênio na mitocôndria e o metabolismo dessas substâncias a partir da ação do sistema antioxidante enzimático. O_2^- = ânion superóxido; SOD = superóxido dismutase; CAT = catalase; GPx = glutatona peroxidase; GSH = glutatona reduzida; GSSG = glutatona oxidada; GR = glutatona redutase.



Fonte: Adaptado de WU; KOSTEN; ZHANG, 2013.

As ERO's são radicais livres compostas na sua constituição por moléculas de oxigênio e estão relacionadas com várias substâncias químicas presentes no ambiente. Os processos oxidativos ocorrem naturalmente no organismo, originando radicais livres provenientes do metabolismo de células saudáveis. Quando os níveis de EROs se elevam reagem com as membranas lipídicas promovendo ataque de elétrons ocasionando perda de funcionalidade podendo levar à apoptose celular, fenômeno denominado de peroxidação lipídica. A geração de EROs está relacionada com a patogênese de diversas doenças, causando inflamação e iniciam uma reação em cadeia que culmina na peroxidação lipídica e morte celular. A peroxidação lipídica também provoca danos às células gástricas, desencadeando processos oxidativos envolvidos no desenvolvimento de úlceras pépticas (UEDA et al., 1989; DI MATTEO; ESPOSITO, 2003; UZUN et al., 2005).

Quando há aumento nas EROs, ocorre uma redução nos níveis de GSH, o que diminui a defesa da mucosa gástrica, tornando-a mais susceptível as lesões (SAXENA; KRISHNAMURTHY; SINGH, 2011). A glutathione é um antioxidante hidrossolúvel que faz parte dos grupos sulfidrílicos não-protéicos do organismo, o aumento dos SHs promove a gastroproteção, presentes no muco gástrico e em diversas enzimas do sistema antioxidante. A proteção da mucosa gástrica pelos compostos sulfidrílicos é devido a ligação com os radicais livres formados durante este processo ou produzidos após exposição a agentes nocivos (SENER-MURATOGLU et al., 2001; STRUZYNSKA; CHALIMONIUK; SULKOWSKI, 2005; BAYIR et al., 2006).

Porém, quando os fatores de proteção da mucosa gástrica não são capazes de conter os efeitos dos fatores agressivos, a mucosa do trato gastrointestinal torna-se susceptível a formação de lesões ulcerativas. O consumo excessivo de álcool promove isquemia e geração de radicais livres, liberação de mediadores vasodilatadores através da degranulação de mastócitos, aumento de citocinas pró-inflamatórias, diminuição de muco gástrico e prostaglandinas, aumento de liberação de histamina e pepsina, e aumento de o fluxo de H⁺ para o lúmen gástrico causando lesões (ARAWWAWALA et al., 2010; TAKAYAMA et al., 2011), o que pode originar a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs). A formação de EROs e a redução da capacidade antioxidante leva a formação de lesão e morte celular devido a sua extrema reatividade. As EROs atacam constituintes celulares essenciais, tais como, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, resultando na formação de compostos tóxicos (KAHARAMAN et al., 2003).

3.4 Patologias gástricas

A integridade funcional da mucosa gástrica depende do balanço entre mecanismos agressivos e defensivos. A presença de ácido gástrico e enzimas digestivas é contrabalanceada pela síntese de muco e pela regulação das células epiteliais. Se esse delicado balanço é perdido, ocorrem lesões gástricas. As alterações gástricas levam ao desenvolvimento de algumas doenças clínicas, podendo ser desde uma gastrite crônica leve até um carcinoma gástrico brando. As patologias ácido-pépticas são doenças em que tem como fatores patogênicos o ácido gástrico e a pepsina (ABDEL-SALAM et al., 2001).

As alterações na mucosa gástrica são associadas com a produção aumentada de ácido, estresse e ansiedade, levando a úlceras ou processos mais invasivos, como adenocarcinoma. No entanto, após a descoberta do *H. pylori* há evidências de associação autêntica entre essa bactéria e doenças pré-cancerosas, a longo prazo, como gastrite crônica atrófica e o desenvolvimento de câncer gástrico (EBULE; LONGDOH; PALOHEIMO; 2013). Na maioria dos casos, a presença do *H. pylori* aumenta a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies de nitrogênio reativo (RNS) no estômago humano, o que induz uma resposta das células T reguladoras. Alterações na mucosa ocorrem quando a resposta das células T não é suficiente (GOLBABAPOUR et al., 2013).

A gastrite é definida como a infiltração da mucosa gástrica, sendo uma reação inflamatória na parede do estômago. Clinicamente são divididas em gastrites agudas, processo inflamatório associado a causas exógenas e de curta duração e gastrites crônicas, presença de alterações inflamatórias crônicas na mucosa levando à atrofia da mucosa e metaplasia epitelial. A gastrite crônica, inflamação da mucosa do estômago, é um precursor para alterações patológicas mais severas, como a úlcera péptica e o câncer gástrico (GRAHAM, 2014). Complicação da infecção pela *Helicobacter pylori*, com exposição a ácido e pepsina pela mucosa gástrica, pode prolongar-se até a musculatura da mucosa (EBULE, LONGDOH, PALOHEIMO 2013; GRAHAM, 2014). Da mesma forma, o *H. pylori* está associado ao carcinoma gástrico por induzir o aumento de espécies reativas e estimular a produção de oncoproteínas, a exemplo do "citotoxin antigen associated" (CagA) (WADHWA et al., 2014).

No entanto, após a descoberta do *H. pylori* há evidências de associação autêntica entre essa bactéria e doenças pré-cancerosas, a longo prazo, como gastrite crônica atrófica e o desenvolvimento de câncer gástrico (EBULE; LONGDOH; PALOHEIMO, 2013). Sabe-se que além da *H. pylori*, fatores ambientais como bebidas alcoólicas, dieta inadequada, tabaco,

medicamentos como os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) e fatores como baixo nível econômico estão relacionados com esta patologia, contribuindo para seu desenvolvimento (DIAS et al., 2015).

3.5 As terapias de patologias gástricas com IBP's

As patologias gástricas estão relacionadas com nível elevado de gastrina como adenocarcinomas, tumores neuroendócrinos e neoplasia das células enterocromafins. A atrofia do corpo gástrico tem prevalência em pacientes tratados com IBP's associados a infecção por *H. pylori*, pois a inibição do ácido causa migração da bactéria do antro para o corpo gástrico para causar a atrofia. Essa relação entre hipergastrinemia e tumores gástricos mostra a importância de avaliar o tratamento em longo prazo com IBP's e o aumento da gastrina com risco de neoplasia gástrica (BURKITT; VARRO; PRITCHARD, 2009; FIOCCA et al., 2012; SONG; ZHU; LU, 2014; LUNDELL et al., 2015).

Os IBP's são considerados os supressores mais eficazes da secreção de ácido gástrico, ao bloquear a ação da bomba de prótons das células parietais gástricas, estes fármacos agem bloqueando o estágio final da secreção de íons hidrogênio. Esses medicamentos são pró-fármacos que se ativa em meio ácido, levando a formação de uma sulfenamida ou ácido sulfênico, inibindo a secreções de ácido gástrico ligando-se de modo covalente (irreversível) o grupo sulfidril de cisteína no domínio extracelular da H^+,K^+ -ATPase inativando-a irreversivelmente, que resulta em uma cicatrização mais rápida da lesão. Os fármacos componentes desse grupo são: omeprazol, pantoprazol, esomeprazol, lansoprazol e rabeprazol (STEWART; ACKROYD, 2011; NIETO, 2012).

Os fármacos anti-secretores ainda são a melhor opção na terapia de lesões gástricas, porém seu uso prolongado tem sido associado à incidência de fraturas e câncer. O pH elevado, como consequência da terapia com IBP's, leva a um aumento de gastrina, responsável pela hipersecreção de ácido gástrico após a interrupção do tratamento com IBP's e tem sido associada ao crescimento de tumores gastrointestinais (YANG et al., 2006; COTE; LEEDHAM et al., 2007; HOWDEN, 2008).

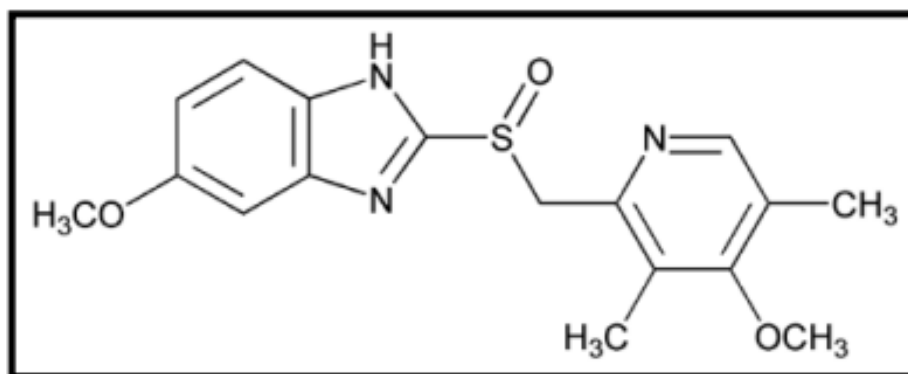
Os IBP's entraram no mercado em 1989. Os medicamentos desta classe incluem o omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol e esomeprazol. Esses fármacos atuam bloqueando a bomba H^+/K^+ -ATPase nas células parietais (FELLENIOUS et al., 1981), pois a secreção ácida estaria associada a rápida cicatrização das lesões gástricas. Entretanto, após a

cicatrização, as úlceras geralmente reincidiam, logo o tratamento era mantido; produzindo muitos efeitos adversos e não impedindo a reincidência da doença (DEVAULT; TALLEY, 2009; MALFERTHEINER et al., 2009).

3.6 O omeprazol em terapias gástricas

O omeprazol (OME) é um inibidor específico da bomba de prótons, quimicamente denominado como 5-metoxi-2-[(4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridil) metil] sulfinil]-1-H-benzimidazol (**Figura 6**). Sua fórmula molecular é $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ e seu peso molecular igual a 345,42. Consiste em um pó branco a quase branco, pouco solúvel em água, solúvel em cloreto de metileno, moderadamente solúvel em etanol e metanol. Dissolve em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos (BRITISH PHARMACOPEIA, 2016).

Figura 6: Estrutura química do omeprazol.



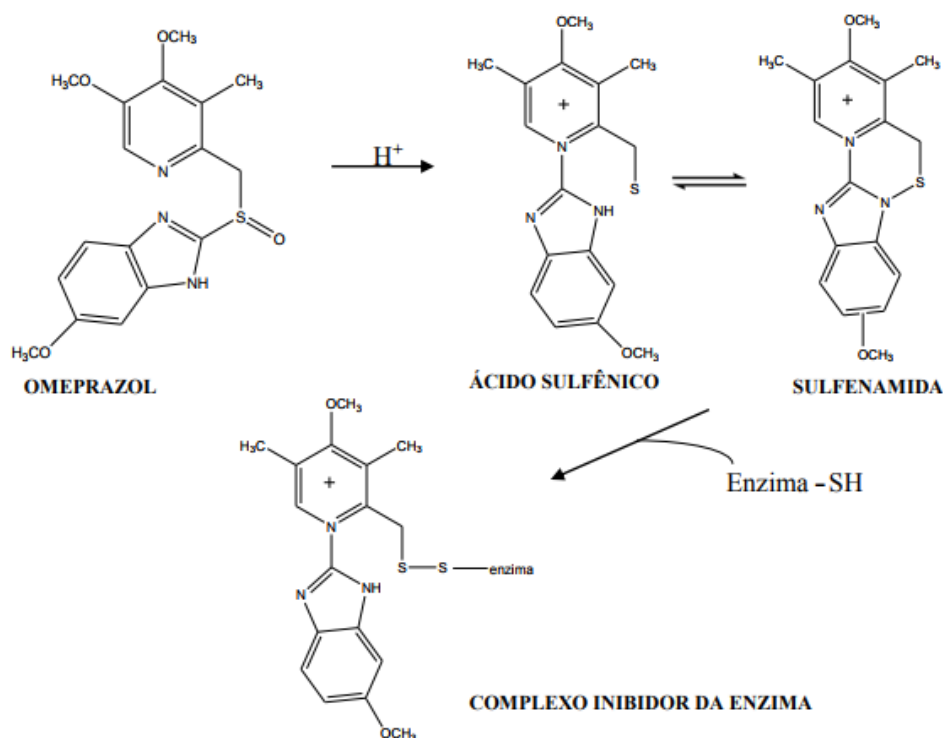
Fonte: Adaptado de UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2013.

A molécula do OME é sensível à temperatura, luz, umidade e solventes orgânicos. O omeprazol é composto de dois enantiômeros (R e S) em uma mistura racêmica. Os dois isômeros S e R-omeprazol são convertidos ativamente nas células parentais possuindo o mesmo sítio ativo (MARKOVIC et al., 2006; HE et al., 2009). O OME é rapidamente absorvido, e o pico das concentrações plasmáticas ocorre entre 0,5 a 3,5 horas, excreção é de 77% renal e o restante é eliminado nas fezes. A meia-vida plasmática é de 0,5 a 1 hora, possui ação de longa duração (24 a 72 horas administração de dose única), devido à inativação da bomba de prótons de maneira irreversível, sendo necessárias, no mínimo, 18 horas para a

síntese de novas moléculas de enzimas (ANDERSSON et al., 1990; PANDEY et al., 2002; RHIM et al., 2009).

O OME é administrado como pró-fármaco inativo. É absorvido no estomago, por ter características básicas fracas difunde-se através das membranas lipídicas acidificadas, como os canalículos secretores ácidos das células parietais. No meio ácido dos canalículos o pró-fármaco é ativado por um processo catalisado por prótons, sofrendo conversão à molécula ativa, uma sulfenamida tiofílica ou ácido sulfênico. Sua forma ativa se liga inativando-a irreversivelmente ao do domínio extracelular da enzima $H^+/K^+ATPase$ (**Figura 7**) (HARDMAN; LIMBIRD, 2005; HOOGERWERF; PASRICHA, 2006).

Figura 7. Conversão do omeprazol em sulfenamida nos canalículos ácidos da célula parietal.



Fonte: HARDMAN; LIMBIRD, 2005.

O uso clínico do OME não está associado somente para a inibição do ácido gástrico, pois vários estudos relatam outras atividades farmacológicas relacionadas com a prevenção da morte celular como a atividade antioxidante (ALMASAUDI et al., 2016), anti-inflamatória (GOSWAMI et al, 2016), antiapoptótica (ZHANG et al., 2016), gastroprotera (LIU et al., 2016) e antinecrótico (ŞEN et al., 2017). Porém, em diversos estudos sua capacidade apoptótica foi demonstrada (CANITANO et al., 2016; LEE et al., 2015; PATLOLLA et al., 2012).

3.7 Genotoxicidade de fármacos

A genotoxicidade é um termo coletivo que se refere a qualquer processo que afeta a integridade estrutural do DNA e tem por objetivo detectar compostos capazes de causar danos ao DNA (MINO; CUMBAL; SANCHEZ, 2012). As alterações genotóxicas são as que causam prejuízos ao material genético como a quebra de fita simples ou dupla, lesão cromossomal. Entretanto, em curto prazo, e do ponto de vista de um único organismo, a alteração genética é quase sempre prejudicial, especialmente em organismos multicelulares. Muitas mudanças ocorridas no material genético podem não acontecer de imediato, sendo então de difícil observação, o que pode caracterizar um risco futuro para a saúde dos organismos (CARITÁ, 2010; SILVA et al., 2011). Cabe relatar que as mutações são quaisquer alterações no DNA ou RNA que afetam um gene qualitativamente ou quantitativamente (substituição, adição ou deleção de base no DNA) e podem ser transmitidas aos descendentes, se forem atingidas células germinativas (GÜEZ et al., 2012).

As substâncias genotóxicas têm em comum propriedades químicas e físicas que permitam a interação de ácidos nucleicos. A consequência mais relevante destas alterações em células somáticas pode ser a presença de tumores benignos ou malignos. Além disso, formação espontânea de micronúcleos é normalmente baixa e quase uniforme entre as espécies. Assim, a ação de qualquer agente genotóxico pode dar origem a um aumento na frequência de micronúcleo (GUEZ et al., 2012). Embora a capacidade de uma substância para danificar o DNA não a torne automaticamente um perigo para a saúde, o que preocupa é saber se a substância pode ser potencialmente mutagênica e/ou carcinogênica (NAI et al., 2015), a exemplo de diversos fármacos (BRAMBILLA et al., 2010).

Entre vários efeitos adversos dos fármacos, além de se avaliar risco e benefício, é importante destacar o potencial cancerígeno. No tratamento de distúrbios gastrointestinais são

usados inúmeros medicamentos de forma intermitente ou prolongada. As drogas utilizadas podem causar danos genotóxicos e/ou efeitos carcinogênicos e, por isso, devem ser consideradas na avaliação do benefício diante do risco (BRAMBILLA; MATTIOLI; MARTELLI, 2010; BRAMBILLA et al., 2010; DOWNES; FOSTER, 2015).

Apesar de sua eficácia, evidências sugerem que o tratamento com OME pode alterar a flora bacteriana do trato gastrointestinal levando à má absorção, infecções entéricas e causar lesões agudas ou crônicas para as células da glândula gástrica pelo efeito compensatório em resposta à diminuição de ácido (YANAGIHARA et al., 2015). O uso contínuo do OME para tratamento de gastrite em vários estudos tem mostrado que ele causa anomalias na mucosa gástrica como hiperplasia de células parietais, dilatação de canalículos no fundo, corpo e antro do estômago (KUMAN, 2013) além da destruição das glândulas gástricas e hipergastrinemia persistente, resultam em gastrite atrófica (ARAI; GALLERANI, 2011) que juntamente com a infecção por *H. pylori*, tem sido associada a um risco aumentado de displasia da mucosa e câncer gástricos (KOHLENER et al., 2010).

Portanto, se faz necessários estudos de farmacovigilância para avaliação, detecção e prevenção dos efeitos adversos das drogas ou quaisquer outros problemas relacionados ao uso a longo prazo (CAMPBELL; GOSELL-WILLIAMS; LEE, 2014). A avaliação mediante técnicas citogenéticas, dos danos causados ao DNA pela exposição aos compostos cancerígenos ou possivelmente cancerígenos é de grande utilidade para confirmar os efeitos prejudiciais ao material genético. Os biomarcadores citogenéticos auxiliam nos estudos probabilísticos da incidência do câncer em pessoas expostas a agentes genotóxicos. A fim de investigar o potencial carcinogênico/tumorgênico de produtos químicos, é necessário examinar a possível atividade de iniciação de tumor (genotoxicidade) (FURIHATA; HIROSE; MATSUSHIMA, 1991).

Diretrizes atuais para estudos de genotoxicidade de produtos farmacêuticos sugerem que é útil também, realizar ensaios sobre a possível ocorrência de lesões de DNA, ou seja, testes para avaliar a indução de quebras no DNA e ligações cruzadas, de reparação de síntese de DNA e de formação de adutos de DNA (MULLER et al, 1999; BRAMBILLA et al, 2010). Os biomarcadores toxicogenéticos na avaliação de danos induzidos pelos fármacos ao DNA são determinantes quantificáveis de eventos biológicos que permitem a predição de anormalidades nucleares indicativas de neoplasias, a exemplo do teste de micronúcleo (MN), capaz de evidenciar danos cromossômicos (micronúcleos, pontes nucleoplasmáticas e brotos celulares), apoptose e a necrose causados por agente citotóxicos “in vivo”, e testes “ex vivo”.

Assim é essencial para avaliar os riscos carcinógenos de substâncias largamente utilizadas (LADEIRA, 2009; FENECH; MORLEY, 1985).

3.8 Alterações nucleares induzidas por agentes mutagênicos: apoptose e necrose

A perda função e estrutura de forma definitiva são determinantes para morte celular. Destaca-se dois tipos importantes de morte celular: apoptose e necrose. A apoptose é um mecanismo de defesa celular complexo de morte celular programado, inserido no sistema de defesa molecular contra vários possíveis danos que venham a modificar a homeostase celular, dessa forma a célula inicia a morte celular programada quando identificado qualquer erro que comprometa suas funções vitais (PÉREZ-GARIJO; FUCHS; STELLER, 2013). Possui funções essenciais no desenvolvimento animal, em sua morfogeneses e remodelamento do perímetro tecidual, controlando dessa forma, o número de células nos tecidos, evitando proliferação celular exacerbada (PÉREZ-GARIJO; STELLER, 2015).

Em 2015 o Comitê de nomenclatura em morte celular definiu morte celular de acordo com as características bioquímicas expressas, dessa forma definindo apoptose como caspase dependente e biologicamente modulado por intervenções genéticas ou farmacológicas (XIA; LIU; CHENG, 2016). Morfologicamente se expressa por alterações estruturais como diminuição do volume celular, condensação da cromatina e formação de corpos apoptóticos (PANAYIOTIDIS, 2010). Alteração nos mecanismos apoptóticos pode levar ao desenvolvimento de doenças autoimunes, inflamações crônicas e doenças neurodegenerativas, entre outras (PENG et al., 2015).

A identificação dos mecanismos moleculares comuns a apoptose e ciclo celular se torna um meio eficiente para o entendimento da regulação do crescimento tecidual, no qual, compreende o entendimento dos mecanismos envolvidos na proliferação celular tecidual, sua parada e reciclagem das células (BHATTACHARYA; RAY; JOHNSON, 2014). A apoptose é de extrema importância para regulação do número de células e para a homeostase do epitélio gastrointestinal, a taxa de proliferação coincide com a taxa de apoptose em condições normais para manter a integridade fisiológica do intestino. Porém a apoptose torna-se um mecanismo de defesa ativado quando o DNA é lesado ou quando há invasão de agentes patogênicos (BHATTACHARYA et al., 2003; ELMORE, 2007; GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007).

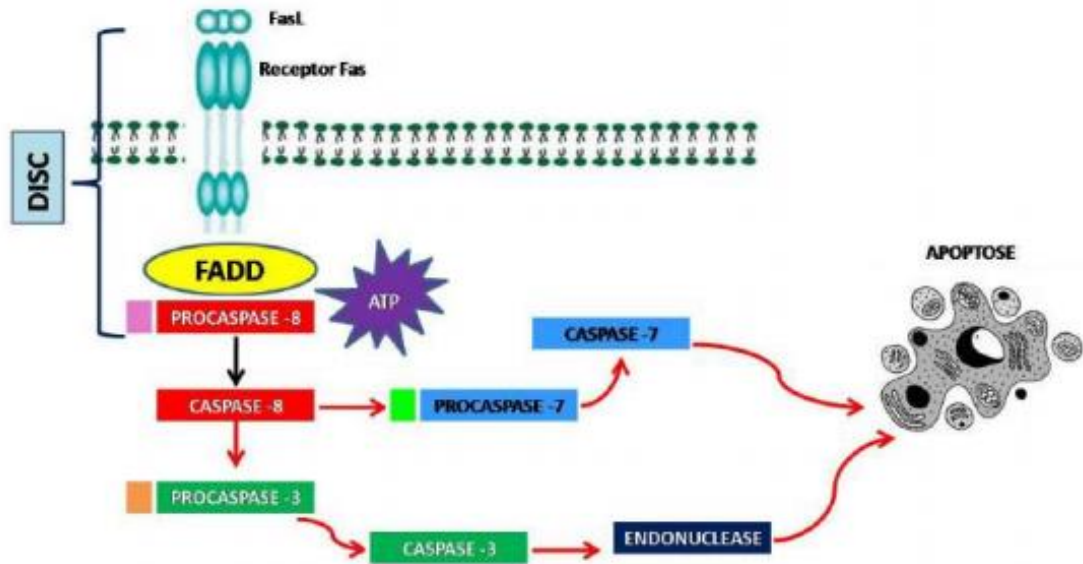
A apoptose é regulada por uma cascata de sinalização intracelular, na qual estão envolvidas uma série de moléculas, dentre as quais merecem destaque as proteínas

pertencentes às famílias das caspases, Bcl-2 e fator de necrose tumoral (TNF). As caspases são proteases aspartato específicas, possuem cisteína no sítio ativo. São responsáveis pela indução, transdução e amplificação dos sinais apoptóticos intracelulares (FAN et al., 2005). O fator de necrose tumoral (TNF), citocina relacionado à inflamação e vias de ativação da apoptose, ligado ao receptor de morte tipo I (TNFR1) promove a ativação das caspases e iniciação da apoptose. Possuem um fragmento de 80 aminoácidos na região citoplasmática, nomeado de domínio de morte (death-domain – DD) relacionado pela promoção da morte celular (SHEN; PERVAIZ, 2006; CURTIN et al., 2002).

A família Bcl-2 (B-cell lymphoma protein 2) é composta por membros pró-apoptóticos e anti-apoptóticos. O equilíbrio entre estes dois grupos de proteínas é responsável pela manutenção da homeostase do organismo. A superfamília Bcl-2 é a responsável pelo controle da permeabilidade da membrana externa mitocondrial, as proteínas pró-apoptóticas, como a Bax, são as responsáveis pelo aumento desta permeabilidade e liberação do citocromo c, enquanto as proteínas anti-apoptóticas, como a Bcl-2, impedem a apoptose, ao sequestrar a Bax ou competindo pelos mesmos sítios de ligação, prevenindo a liberação do citocromo c, permeabilização da membrana externa da mitocôndria e bloqueando a ação das caspases (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007).

Duas vias de inicialização podem desencadear a apoptose, via intrínseca e via extrínseca. A via extrínseca corresponde a ligação de receptores extracelulares que transmitem o sinal de morte celular para o interior da célula, se inicia quando há ligação dos sinalizadores de morte, como o ligante Fas (FasL) e TNF em seus receptores (Fas e TNFR1), situados na membrana plasmática da célula (FAN et al., 2005). No citoplasma destes receptores existe o domínio de morte que se liga ao DED (domínio efetor de morte) das moléculas denominadas TRADD (TNF receptor associates death domain) e FADD (Fas-associated death domain). Formado um complexo denominado DISC (death-inducing signaling complex) que leva ao recrutamento e à ativação da pró-caspase-8. Esta, por sua vez, irá ativar a caspase-3, efetora, responsável por clivar proteínas ligadas às DNAases, tornando estas últimas ativas para realizar a quebra do DNA entre os nucleossomos (**Figura 8**) (MENZE et al., 2010; GOLDAR et al., 2015; COUTINHO, 2015).

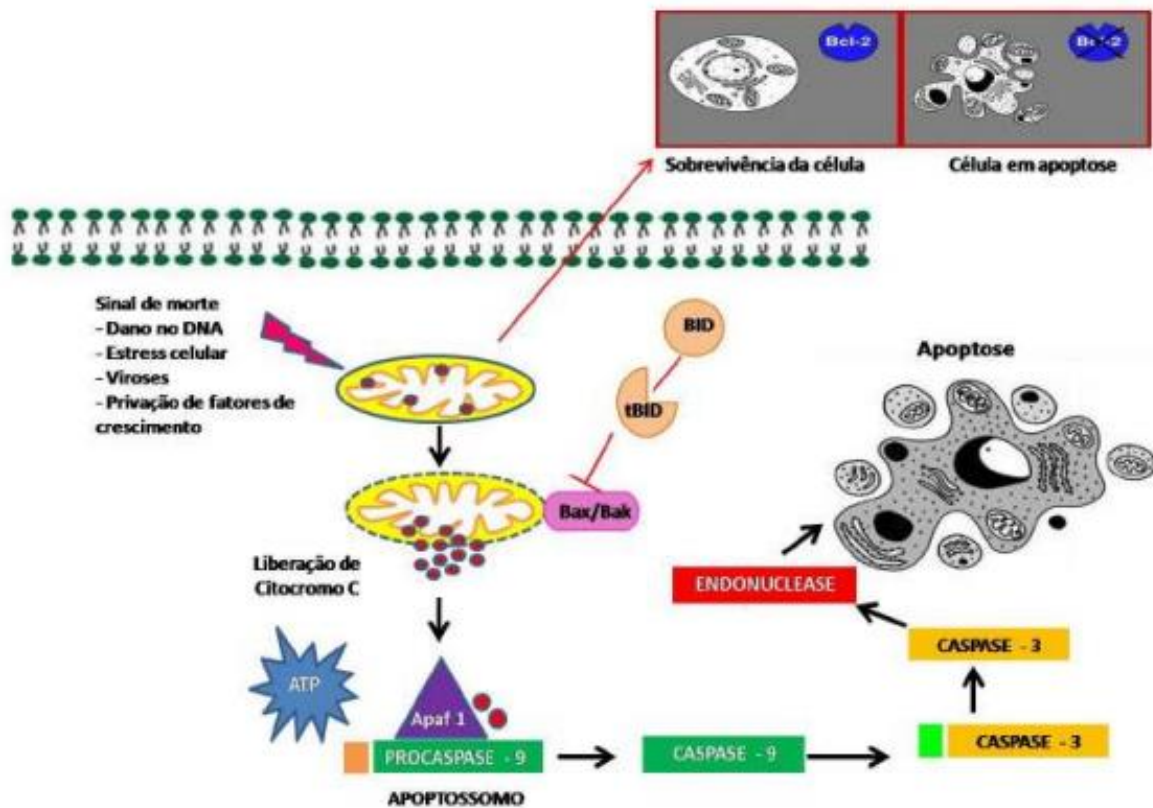
Figura 8: Representação esquemática da via extrínseca da apoptose.



Fonte: COUTINHO, 2015

A via intrínseca compreende a sinalização mitocondrial em resposta a perturbação moderada da homeostase intracelular (dano ao DNA, ativação de oncogenes, hipóxia, proteínas virais ou bacterianas, espécies reativas de oxigênio, xenobioticos, radiação e acumulação de MIS – proteínas dobradas), a mitocôndria recebe sinais que levam ao aumento da permeabilidade da membrana mitocondrial, resultando na liberação do citocromo C que irá interagir com a molécula adaptadora Apaf-1 (apoptotic protease-activating factor-1), formando o complexo apoptossomo, que recruta e ativa a pró-capase-9 com a utilização de ATP, ativando caspase-3 levando as alterações celulares próprias do processo apoptótico (**Figura 9**) (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007; WU et al., 2013; HUKLA; FU; GUPTA, 2014).

Figura 9: Representação esquemática da via intrínseca da apoptose.



Fonte: COUTINHO, 2015

A necrose é um termo utilizado para a morte acidental, é um fenômeno independente de gasto energético em que a célula sofre um processo degenerativo irreversível. Relaciona-se com causa patológica o que resulta em uma alteração na membrana levando à acidose, aumentado sua permeabilidade e rompendo-a, levando consequentemente a perda da compartimentalização celular. Essa ruptura da membrana resulta na liberação dos componentes da célula para o meio extracelular, processo que pode gerar uma resposta inflamatória significativa e causando danos às células vizinhas (WLODKOWIC et al., 2010). As células necróticas e seus fragmentos vão desaparecendo, com a ação da digestão enzimática, como a fagocitose feita por macrófagos e leucócitos, quando essa fagocitose dos restos celulares não acontece rapidamente, os sais de cálcio e outros minerais podem ser atraídos, levando a uma calcificação no local (ZANGHELINI et al., 2015).

A necrose se diferencia da apoptose em características detectáveis, incluindo diferenças morfológica, bioquímicas e celulares (CLAPP et al., 2012). A necrose é um modo mais inflamatório de morte celular do que a apoptose, na necrose há libertação de moléculas com propriedades pró-inflamatórias com vários eventos celulares simultâneos como o aumento de volume, agregação da cromatina, desorganização do citoplasma, perda da integridade da membrana plasmática e ruptura da membrana (VALDEZ; MARTIN; NORTHINGTON, 2012; OLIVEIRA et al., 2015). Por outro lado, Regiões fundamentais para controle da apoptose e da necrose e do ciclo celular, podem ser atingidos se substâncias genotóxicas estiverem presentes, intercalar-se com a molécula de DNA levando ao aceleração de um processo neoplásico (SANTOS et al., 2008).

3.9 Biomarcadores citogenéticos

Os testes para monitoramento de genotoxicidade avaliam lesões no DNA que são passíveis de correção, e que, se isso não acontecer, podem acarretar morte celular, e levar a condições fisiopatológicas severas (ZENKNER et al., 2014). Os biomarcadores citogenéticos são utilizados quando se pretende identificar uma determinada exposição a uma substância exógena ao organismo. Os biomarcadores genotóxicos relacionam-se as substâncias que provocam um efeito nocivo ao material genético, os biomarcadores mutagênicos relaciona-se as substâncias que provocam mudanças na estrutura ou no número de cromossomos observados e quantificados mediante técnicas citogenéticas. Existem vários marcadores citogenéticos disponíveis, entre eles os geralmente mais utilizados são os micronúcleos, a troca de cromátides irmãs e as aberrações cromossômicas (LUZHNA; KATHIRIA; KOVALCHUK,2013).

Outro teste internacionalmente usado é o teste cometa. O teste cometa é uma técnica simples, rápida e sensível e de custo relativamente baixo, a qual tem como objetivo medir quebra e reparo no DNA de células individualizadas, e tem sido usada para vários estudos para investigar o efeito de espécies reativas de oxigênio (EROs) no DNA (ROSA et al., 2012; GONÇALVES et al., 2015). É utilizado para detectar danos primários ao DNA induzidos por diversos agentes químicos, com os intercalantes, alquilantes e oxidantes. Os danos detectados são as quebras simples e duplas da fita de DNA, eventos de reparo por excisão incompletos, sítios álcali-lábeis, danos oxidativos ao DNA, ligações cruzadas entre moléculas de DNA, entre DNA e proteínas e entre DNA e xenobióticos (PINHATTI, 2009). Porém, não é utilizado para detectar mutação, mas identificar lesões genômicas que depois de serem

processadas podem gerar mutação. As lesões detectadas no teste podem ser reparadas (PINHATTI, 2009). Uma vez que substâncias genotóxicas são frequentemente tecido-específicas, a vantagem do ensaio cometa torna-se evidente, por permitir avaliar os danos do contaminante sobre um dado tecido (GHISI, 2007).

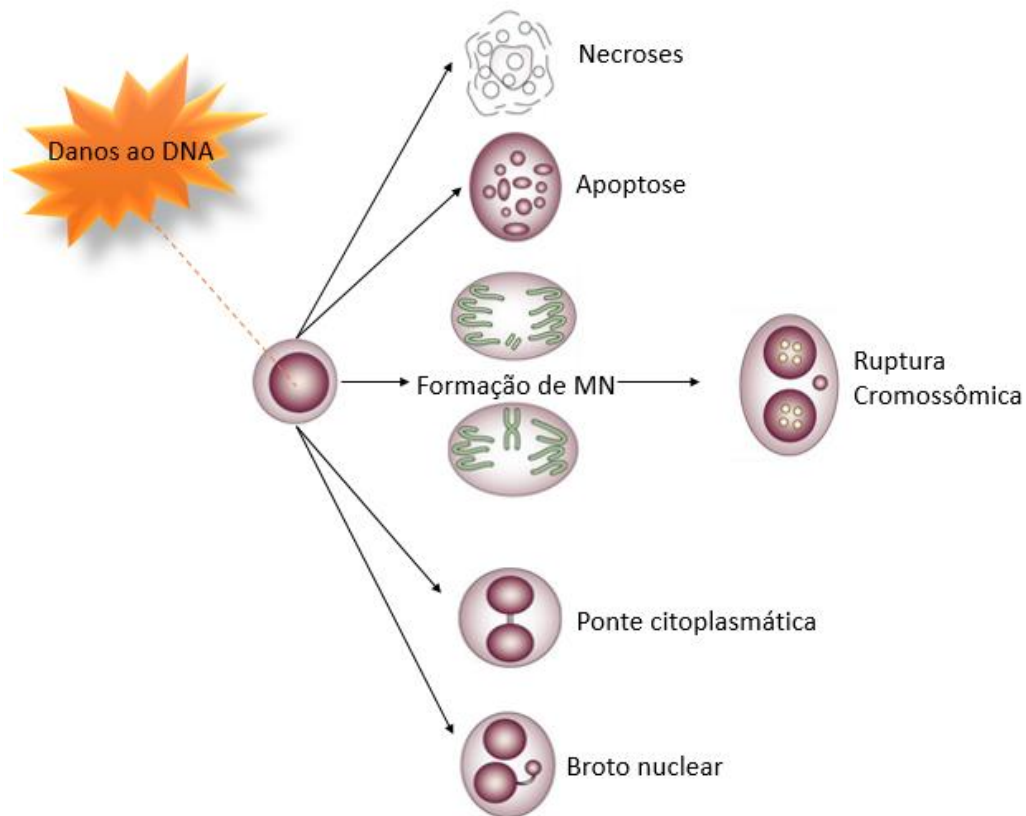
O teste cometa consiste em fazer passar uma corrente elétrica pelas células lisadas da amostra em análise, englobadas em gel de agarose de baixo ponto de fusão, sobre lâminas para microscopia promovendo uma migração dos segmentos de DNA livres, resultantes de quebras, para fora do núcleo. Após a eletroforese, as células que apresentam núcleo redondo são identificadas como normais, sem danos detectáveis no DNA. Já as células lesadas são identificadas visualmente por uma espécie de cauda, similar a um cometa, formada pelos fragmentos de DNA que foram “arrastados” pela corrente elétrica da eletroforese (LEITE; ZANDONATO; FLUMINHAN, 2014).

A mutagenicidade pode ser avaliada através do ensaio de micronúcleo, é atribuída à indução permanente de alterações no DNA, que pode ser resultado de mudanças hereditárias (SILVA, 2010; SILVA et al., 2011; SLOCZYŃSKA et al., 2014). Existem vários tipos de alterações nucleares, entre elas a formação de micronúcleo (MNs) que é um indicador de ação clastogênica e/ou aneugênica (FARIA; BRAGA, 2015). O teste de MNs foi desenvolvido para detecção de genotoxicidade e mutagenicidade de produtos químicos que induzem a formação de pequenos fragmentos de DNA em células ligadas à membrana (conhecidos como micronúcleos). Esse teste baseia-se no aumento da frequência de eritrócitos policromáticos como micronúcleos, utilizando-se para isso, preferencialmente, células de mamíferos de animais previamente tratados (KANG et al., 2013).

Os micronúcleos são pequenos corpos contendo DNA, localizados no citoplasma, aparecem na telófase e são estruturas resultantes de cromossomos inteiros ou fragmentos cromossômicos que são perdidos durante a divisão celular e, por este motivo, não estão incluídos em núcleo de células filhas, permanecem no citoplasma durante a interfase, aparecem como uma pequena estrutura arredondada e escura, idêntico em aparência ao núcleo celular. As falhas em rearranjos cromossômicos ou a fusão de extremidades cromossomais, telômeros, permitem a formação de filamentos de cromatina que ligam dois núcleos distintos chamados de pontes nucleoplasmáticas e os brotos nucleares estão associados à amplificação do DNA, e a não segregação do núcleo, apresentando-se como prolongamentos do próprio espaço nuclear (FENECH et al., 2011; SISENANDO et al., 2011).

Para avaliação de alterações cromossômicas numéricas e/ou estruturais o teste de micronúcleos, que pode detectar agentes aneugênicos (induzem aneuploidia ou segregação cromossômica anormal) e clastogênicos em culturas de células de mamíferos vem sendo internacionalmente usado (LUZ et al., 2012). As anormalidades cromossômicas estruturais, tais como o aumento da quebra de cromossomas ou perda cromossômica é associada com um aumento de risco de carcinogênese e na progressão da transformação neoplásica. Detecção de aberrações cromossômicas tem sido amplamente utilizado como uma ferramenta para indicar danos cancerígenos induzidos no DNA (**Figura 10**) (HWANG; KIM, 2013).

Figura 10. Alterações nucleares induzidas por agentes citotóxicos e genotóxicos.



Fonte: Adaptação de Fenech, 2007.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-SALAM, O. M.; CZIMMER, J.; DEBRECENI, A.; SZOLCSÁNYI, J.; MÓZSIK, G. Gastric mucosal integrity: gastric mucosal blood flow and microcirculation. An overview. **Journal of Physiology-Paris**, v. 95, n. 1, p. 105-127, 2001.
- ALMASAUDI, S. B.; EL-SHITANY, N. A.; ABBAS, A. T.; ABDEL-DAYEM, U. A.; ALI, S. S.; AL JAOUNI, S. K.; HARAKEH, S. Antioxidant, anti-inflammatory, and antiulcer potential of manuka honey against gastric ulcer in rats. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016.
- ANDERSSON, T.; ANDRÉN, K.; CEDERBERG, C.; LAGERSTRÖM, P.-O.; LUNDBORG, P.; SKANBERG, I. Pharmacokinetics and bioavailability of omeprazole after single and repeated oral administration in healthy subjects. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 29, n. 5, p. 557-563, 1990.
- ARAI, A.E.; GALLERANI, S.M.C. **Uso Crônico de Fármacos Inibidores da Bomba de Prótons: Eficácia Clínica e Efeitos Adversos**. 2011. Monografia (Especialização em Farmacologia) – Centro Universitário Filadélfia – Londrina.
- ARAWAWALA, L. D. A. M.; THABREW, M. I.; ARAMBEWELA, L. S. R.; Gastroprotective activity of *Trichosanthes cucumerina* in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 3, p. 750-754, 2010.
- BANSAL, V. K.; GOEL, R. K. Gastroprotective effect of *Acacia nilotica* young seedless pod extract: role of polyphenolic constituents. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 5, n. 7, p. 523-528, 2012.
- BAYIR, Y.; ODABASOGLU, F.; CAKIR, A.; ASLAN, A.; SULEYMAN, H.; HALICI, M.; KAZAZ, C. The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. **Phytomedicine**, v. 13, n. 8, p. 584-590, 2006.
- BHATTACHARYA, S.; RAY, R. M.; JOHNSON, L. R. Cyclin-dependent kinases regulate apoptosis of intestinal epithelial cells. **Apoptosis**, v. 19, n. 3, p. 451-466, 2014.
- BHATTACHARYA, S.; RAY, R. M.; VIAR, M. J.; JOHNSON, L. R. Polyamines are required for activation of c-Jun NH 2-terminal kinase and apoptosis in response to TNF- α in IEC-6 cells. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 285, n. 5, p. G980-G991, 2003.
- BRAGA, M. P.; DA SILVA, C. D. B.; ADAMS, A. I. H. Inibidores da bomba de prótons: Revisão e análise farmacoeconômica. **Saúde (Santa Maria)**, v. 37, n. 2, p. 19-32, 2012.
- BRAMBILLA, G.; MATTIOLI, F.; MARTELLI, A. Genotoxic and carcinogenic effects of gastrointestinal drugs. **Mutagenesis**, v. 25, n. 4, p. 315-326, 2010.

BRAMBILLA, G.; MATTIOLI, F.; ROBBIANO, A.; MARTELLI, A. Genotoxicity and carcinogenicity testing of pharmaceuticals: Correlations between induction of DNA lesions and carcinogenic activity. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 705, n. 1, p. 20-39, 2010.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 12ª Edição. United States of America: Mc Graw-Hill Companies, Inc., 2012.

BRZOWSKI, T.; DROZDOWICZ, D.; KONTUREK, S. J.; KORBUT, R.; KRZYSIEK-MACZKA, G.; KWIECIEN, S.; OLSZANECKI, R.; PJADO, R.; PTAK-BELOWSKA, A.; STRZALKA, M.; PAWLIK, W. W. Novel concept in the mechanism of injury and protection of gastric mucosa: role of renin-angiotensin system and active metabolites of angiotensin. **Current medicinal chemistry**, v. 19, n. 1, p. 55-62, 2012.

BRZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; PAJDO, R.; PTAK-BELOWSKA, A.; KWIECIEN, S.; PAWLIK, M.; DROZDOWICZ, D.; SLIWOWSKI, Z.; BRZOWSKI, B.; KONTUREK, S. J.; PAWLIK, W. W. Physiological mediators in nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)-induced impairment of gastric mucosal defense and adaptation. Focus on nitric oxide and lipoxins. **Journal Physiol Pharmacol**, v. 59, n. Suppl 2, p. 89-102, 2008.

BURKITT, M. D.; VARRO, A.; PRITCHARD, D. M. Importance of gastrin in the pathogenesis and treatment of gastric tumors. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 15, n. 1, p. 1, 2009.

CAMPBELL, J. E.; GOSSELL-WILLIAMS, M.; LEE, M. G. A Review of Pharmacovigilance. **The West Indian Medical Journal**, v. 63, n. 7, p. 771, 2014.

CANITANO, A.; IESSI, E.; SPUGNINI, E. P.; FEDERICI, C.; FAIS, S. Proton pump inhibitors induce a caspase-independent antitumor effect against human multiple myeloma. **Cancer Letters**, v. 376, n. 2, p. 278-283, 2016.

CARITÁ, R. Avaliação do potencial genotóxico e mutagênico de amostras de águas de recursos hídricos que recebem efluentes urbanos e industriais do pólo ceramista da cidade de Santa Gertrudes-SP. 2010.

CLAPP, C.; PORTT, L.; KHOURY, C.; SHEIBANI, S.; EID, R.; GREENWOOD, M.; VALI, H.; MANDATO, C. A.; GREENWOOD, M. T. Untangling the roles of anti-apoptosis in regulating programmed cell death using humanized yeast cells. **Frontiers in Oncology**, v. 2, n. 59, 2012.

CNUBBEN, N.H.P.; RIETJENS, I.M.C.M.; WORTELBOER, H.; ZANDEN, J.; BLADEREN, P.J. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 10, n. 4, p. 141-152, 2001.

CORLETO, V.D. Somatostatin and the gastrointestinal tract. **Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity**, v. 17, n. 1, p. 63-68, 2010.

COTE, G.A.; HOWDEN, C.W. Potential adverse effects of proton pump inhibitors. **Current Gastroenterology Reports**, v. 10, n. 3, p. 208-214, 2008.

COUTINHO, L. M. Efeitos da ativina e da folistatina sobre a apoptose de células estromais do endométrio humano. 2015.

CURTIN, J. F.; DONOVAN, M.; COTTER, T. G. Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. **Journal of Immunological Methods**, v. 265, n. 1, p. 49-72, 2002.

DEVAULT, K. R.; TALLEY, N. J. Insights into the future of gastric acid suppression. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 6, n. 9, p. 524-532, 2009.

DI MATTEO, V.; ESPOSITO, E. Biochemical and therapeutic effects of antioxidants in the treatment of Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis. **Current Drug Targets-cns and Neurological Disorders-**, v. 2, n. 2, p. 95-108, 2003.

DIAS, S. N.; SANTOS, A. P.; PINTO, M.V; FERNANDES, C. K. C.; GONÇALVES, A. F.; SOUZA, S. A. O; MENDONÇA, B. O. M.; ALVES, F. A. B. V. Análise de prontuários de pacientes com gastrite em um hospital na região oeste ii do estado de Goiás. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 8, n. 1, 2015.

DOWNES, N.; FOSTER, J. Regulatory forum opinion piece: carcinogen risk assessment: the move from screens to science. **Toxicologic Pathology**, v. 43, n. 8, p. 1064-1073, 2015.

EBULE, I. A.; LONGDOH, A. N.; PALOHEIMO, I. L. Helicobacter pylori infection and atrophic gastritis. **African Health Sciences**, v. 13, n. 1, p. 112-117, 2013.

ELMORE, S. Apoptosis: a review of programmed cell death. **Toxicologic Pathology**, v. 35, n. 4, p. 495-516, jun. 2007.

FAN, T. J.; HAN, L. H.; CONG, R. S.; LIANG, J. Caspase family proteases and apoptosis. **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**, v. 37, n. 11, p. 719-727, 2005.

FARIA, L. E. M; BRAGA, J. R. M. Aplicação do teste de micronúcleo para avaliação de potencial genotóxico em epitélio oral. **Revista Eletrônica Atualiza Saúde**, Salvador, v. 1, n. 1, jan./jun. 2015.

FEHER, J.J. Quantitative human physiology: an introduction. **ACADEMIC PRESS**, v. 1, p. 701-710, 2012.

FELLENIIUS, E.; BERGLINDH, T.; SACHS, G.; OLBE, L.; ELANDER, B.; SJÖSTRAND, S. E.; WALLMARK, B. Substituted benzimidazoles inhibit gastric acid secretion by blocking (H⁺⁺ K⁺) ATPase. **Nature**, v. 290, n. 5802, p. 159-161, 1981.

FENECH, M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. **Nature Protocols**, v. 2, p. 1084-1104, 2007.

FENECH, M.; KIRSCH-VOLDERS, M.; NATARAJAN, A. T.; SURRALLE, J.; CROTT, J. W.; PARRY, J.; NORPPA, H.; EASTMOND, D. A.; TUCKER, J. D.; THOMAS, P. Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. **Mutagenesis**, vol. 26, n. 1, p. 125–132, 2011.

FENECH, M.; MORLEY, A. Measurement of micronuclei in lymphocytes. **Mutation Research**, v. 147, n. 1-2, p. 29-36, 1985.

FERRUA, M. J.; E SINGH, R. P. Modeling the fluid dynamics in a human stomach to gain insight of food digestion. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 7, 2010.

FIOCCA, R., MASTRACCI, L.; ATTWOOD, S. E.; ELL, C.; GALMICHE, J. P.; HATLEBAKK, J.; BÄRTHEL, A.; LÅNGSTRÖM, G.; LIND, T.; LUNDELL, L.; LOTUS TRIAL COLLABORATORS. Gastric exocrine and endocrine cell morphology under prolonged acid inhibition therapy: results of a 5-year follow-up in the LOTUS trial. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 36, n. 10, p. 959-971, 2012.

FORNAI, M.; ANTONIOLI, L.; COLUCCI, R.; BERNARDINI, N.; GHISU, N.; TUCCORI, M.; DE GIORGIO, R.; DEL TACCA, M.; BLANDIZZI, C. Emerging role of cyclooxygenase isoforms in the control of gastrointestinal neuromuscular functions. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 125, n. 1, p. 62-78, 2010.

FURIHATA, C.; HIROSE, K.; MATSUSHIMA, T. Genotoxicity and cell proliferative activity of omeprazole in rat stomach mucosa. **Mutation Research Letters**, v. 262, n. 1, p. 73-76, 1991.

GHISI, N. C. Avaliação do efeito mutagênico do herbicida Roundup em bioensaio agudo com o bioindicador *Corydoras paleatus* (Pisces). 2013.

GOLBABAPOUR, S.; HAJREZAIE, M.; HASSANDARVISH, P.; ABDUL MAJID, N.; HADI, A. H. A.; NORDIN, N.; ABDULLA, M. A. Acute toxicity and gastroprotective role of *M. pruriens* in ethanol-induced gastric mucosal injuries in rats. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

GOLDAR, S.; KHANIANI, M. S.; DERAKHSHAN, S. M.; BARADARAN, B. Molecular mechanisms of apoptosis and roles in cancer development and treatment. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 16, n. 6, p. 2129-2144, 2015.

GOLDMAN, A.; SHAHIDULLAH, M.; GOLDMAN, D.; KHAILOVA, L.; WATTS, G.; DELAMERE, N.; DVORAK, K. A novel mechanism of acid and bile acid-induced DNA

damage involving Na⁺/H⁺ exchanger: implication for Barrett's oesophagus. **Gut**, p. gut. 2010.213686, 2010.

GONÇALVES, M. W.; CARVALHO, W. F.; PEREIRA, R. R.; MELO, D.; BASTOS, R. P.; CRUZ, A. D. Avaliação de Danos Genômicos em Anfíbios Anuros do Cerrado Goiano. **Estudos**, v. 41, p. 89-104, 2015.

GOSWAMI, S. K; WAN, D; YANG, J; DA SILVA, C. A. T; MORISSEAU, C; KODANI, S. D; YANG, G.Y; INCEOGLU, B; HAMMOCK, B. D. Anti-ulcer efficacy of soluble epoxide hydrolase inhibitor TPPU on diclofenac-induced intestinal ulcers. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 357, n. 3, p. 529-536, 2016.

GRAHAM, D. Y. History of Helicobacter pylori, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 20, n. 18, p. 5191, 2014.

GRIVICICH, I.; REGNER, A.; ROCHA, A. B. DA. Morte Celular por Apoptose. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 335–343, 2007.

GÜEZ, C. M.; WACZUK, E. P.; PEREIRA, K. B.; QUEROL, M. V. M., ROCHA, J. B. T. D., OLIVEIRA, L. F. S. D. In vivo and in vitro genotoxicity studies of aqueous extract of Xanthium spinosum. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 48, n. 3, jul. /sep. 2012.

GÜEZ, C. M.; WACZUK, E. P.; PEREIRA, K. B.; QUEROL, M. V. M.; ROCHA, J. B. T. D.; OLIVEIRA, L. F. S. D. In vivo and in vitro genotoxicity studies of aqueous extract of Xanthium spinosum. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 3, p. 461-467, 2012.

HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. Goodman & Gilman, As bases farmacológicas da terapêutica [tradução da 10ª edição original, Carla de Mello Vorsatz et al.]. **Rio de Janeiro: McGraw-Hill**, 2005.

HE, W.; FAN, L.; DU, Q.; XIANG, B.; LI, C.; BAI, M.; CHANG, Y.; CAO, D. Design and in Vitro/in Vivo Evaluation of Multi-layer Film Coated Pellets for Omeprazole. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 2, p.122-128, 2009.

HOOGERWERF, W.A.; PASRICHA, P.J. Pharmacotherapy of Gastric Acidity, Peptic Ulcers and Gastroesophageal Reflux Disease. In: GOODMAN, A. G. The pharmacological basis of therapeutics. 11 ed. Nova York: Mc Graw Hill, p. 967-981, 2006.

HOU, W.; SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 22, p. 593–598, 2006.

HWANG, E. S.; KIM, G. H. Safety Evaluation of Chrysanthemum indicum L. Flower Oil by Assessing Acute Oral Toxicity, Micronucleus Abnormalities, and Mutagenicity. **Preventive Nutrition and Food Science**. v.18, n. 2, p.111-116, 2013.

HUANG, L.; QI, D. J.; HE, W.; XU, A. M. Omeprazole promotes carcinogenesis of fore-stomach in mice with co-stimulation of nitrosamine. **Oncotarget**, v. 8, n. 41, p. 70332, 2017.

JAIN, K.S.; SHAH, A.K.; BARIWAL, J.; SHELKE, S.M.; KALE, A.P.; JAGTAP, J.R.; BHOSALE, A.V. Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v.15, p. 1181-1205, 2007.

KAHRAMAN, A.; ERKASAP, N.; KÖKEN, T.; SERTESER, M.; AKTEPE, F.; ERKASAP, S. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. **Toxicology**, v. 183, p. 133–142, 2003.

KANG, S. H.; KWON, J. Y.; LEE, J. K.; SEO, Y. R. Recent Advances in In Vivo Genotoxicity Testing: Prediction of Carcinogenic Potential Using Comet and Micronucleus Assay in Animal Models. **Journal of Cancer Prevention**. v.18, n.4, p.277-288, 2013.

KAWANO, S.; TSUJI, S. Role of mucosal blood flow: a conceptional review in gastric mucosal injury and protection. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 15, n. s1, p. 1-6, 2000.

KENNETH, R; MCQUAID, M. D. **Fármacos usados no tratamento de doenças gastrintestinais**. In: KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J (Org.). Farmacologia básica e clínica. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2014, p. 1081-1092.

KOHLER, J. E.; BLASS, A. L.; LIU, J.; TAI, K.; SOYBEL, D. I Antioxidant pre-treatment prevents omeprazole-induced toxicity in an in vitro model of infectious gastritis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 5, p. 786-791, 2010.

KONTUREK, S. J.; KONTUREK, P. C.; BRZOZOWSKI, T. Prostaglandins and ulcer healing. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 56, p. 5, 2005.

KONTUREK, S.J.;KONTUREK, P.C .;BRZOZOWSKI, T .;KONTUREK, J.W .;PAWLIK, W.W. From nerves and hormones to bacteria in the stomach; Nobel prize for achievements in gastrology during last century. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 56, n. 4, p. 507-530, 2005.

KOPIC, S.; GEIBEL, J. Gastric acid, calcium absorption, and their impact on bone health. **Physiological reviews**, v. 93, n. 1, p. 189-268, 2013.

KUMAR, K. R.; IQBAL, R.; COSS, E.; PARK, C.; CRYER, B.; GENTA, R. M. Helicobacter gastritis induces changes in the oxyntic mucosa indistinguishable from the effects of proton pump inhibitors. **Human pathology**, v. 44, n. 12, p. 2706-2710, 2013.

KUSANO, C.; GOTODA, T.; ISHIKAWA, H.; MORIYAMA, M. The administrative project of Helicobacter pylori infection screening among junior high school students in an area of Japan with a high incidence of gastric cancer. **Gastric Cancer**, v. 20, n. 1, p. 16-19, 2017.

LADEIRA C.A.F. **Biomarcadores genotóxicos e polimorfismos genéticos em trabalhadores expostos a formaldeído.** - Mestrado em Biologia Molecular Humana. – Universidade de Lisboa, Portugal, 2009.

LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 41-60, 2008.

LEE, M. Y.; KIM, H. A.; KANG, M. H. Comparison of lymphocyte DNA damage levels and total antioxidant capacity in Korean and American diet. **Nutrition Research and Practice**, v. 11, n. 1, p. 33-42, 2017.

LEE, Y-Y.; JEON H. K.; HONG, J. E.; CHO, Y. J.; RYI, J. Y.; CHOI, J. J.; LEE, S.H.; YOON, G.; KIM, W, Y.; DO, I-G.; KIM, M.K.; KIM, T-J.;1, CHOI, C.H.; LEE, J-W.; BAE, D-S.; KIM, M. K. Proton pump inhibitors enhance the effects of cytotoxic agents in chemoresistant epithelial ovarian carcinoma. **Oncotarget**, v. 6, n. 33, p. 35040, 2015.

LEEDHAM S, JANKOWSKY J. The evidence base of proton pump inhibitor chemopreventative agents in Barrett's esophagus--the good, the bad, and the flawed!. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 102, n. 1, p. 21, 2007.

LEITE, K. A. S.; ZANDONATO, V. V.; FLUMINHAN, A. Avaliação da genotoxicidade provocada por fatores ambientais em *Tradescantia pallida* cv *3urpúrea* através do ensaio cometa. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 9, n. 11, 2014.

LIU, Z.; LUO, Y.; CHENG, Y.; ZOU, D.; ZENG, A.; YANG, C.; XU,J.; ZHAN, H. Gastrin attenuates ischemia-reperfusion-induced intestinal injury in rats. **Experimental Biology and Medicine**, v. 241, n. 8, p. 873-881, 2016.

LUNDELL, L.; VIETH, M.; GIBSON, F.; NAGY, P.; KAHRILAS, P. J. Systematic review: the effects of long-term proton pump inhibitor use on serum gastrin levels and gastric histology. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 42, n. 6, p. 649-663, 2015.

LUZ, A.C.; PRETTI, I.R.; DUTRA, J.C.V.; BATITUCCI, M.C.P. Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico de *Plantago major* L. em sistemas teste in vivo Evaluation of the cytotoxic and genotoxic potential of *Plantago major* L. in test systems in vivo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 635-642, 2012.

LUZHNA, L.; KATHIRIA, P.; KOVALCHUK, O. Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond. **Frontiers in genetics**, v. 4, 2013.

MALFERTHEINER, P.; CHAN, F. K. L.; MCCOLL, K. E. L. Peptic ulcer disease. **The Lancet**, v. 374, n. 9699, p. 1449-1461, 2009.

- MARKOVIC, N.; AGOTONOVIC-KUSTRIN, S.; GLASS, B.; PRESTIDGE, C.A. Physical and thermal characterisation of chiral omeprazole sodium salts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 42, n. 1, p.25-31, 2006.
- MEGALA, J.; GEETHA, A. Free radical-scavenging and H⁺, K⁺ -ATPase inhibition activities of *Pithecellobium dulce*. **Food Chemistry**, v. 121, p. 1120- 1128, 2010.
- MENZE, M. A., FORTNER, G., NAG, S., & HAND, S. C. Mechanisms of apoptosis in Crustacea: what conditions induce versus suppress cell death?. **Apoptosis**, v. 15, n. 3, p. 293-312, 2010.
- MINO, C. P.; CUMBAL, N.; SANCHEZ, M. E. Genotoxicity Studies Performed in the Ecuadorian Population. **Molecular Biology International**, 2012.
- MONTROSE, M. H.; YASUTADA, A.; TAKEUCHI, K.; KUANTZ, J. D. Gastroduodenal mucosal defense. In: JOHNSON, L.R. (ed) New York: Academic Press, p. 1259–1291, 2006.
- MÜLLER, L.; KIKUCHI, Y.; PROBST, G.; SCHECHTMAN, L.; SHIMADA, H.; SOFUNI, T.; TWEATS, D. ICH-harmonised guidances on genotoxicity testing of pharmaceuticals: evolution, reasoning and impact. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 436, n. 3, p. 195-225, 1999.
- MUSUMBA, C.; PRITCHARD, D. M.; PIRMOHAMED, M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 30, n. 6, p. 517-531, 2009.
- NAI, G. A.; DE OLIVEIRA, M. C.; DE OLIVEIRA TAVARES, G.; PEREIRA, L. F. F.; SOARES, N. D. S. L.; SILVA, P. G. Avaliação da genotoxicidade induzida pela administração repetida de anestésicos locais: um estudo experimental em ratos. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 65, n. 1, p. 21-26, 2015.
- NETTER, F. H. **Netter-Atlas de Anatomia Humana**. Elsevier Brasil, 2000.
- NIETO, Y. B. Úlcera péptica. **Medicine**, v. 11, n. 3, p. 137-141, 2012.
- NISHIZAWA, T., SUZUKI, H., SAKITANI, K., YAMASHITA, H., YOSHIDA, S., HATA, K., ... & TOYOSHIMA, O. Family history is an independent risk factor for the progression of gastric atrophy among patients with *Helicobacter pylori* infection. **United European Gastroenterology Journal**, v. 5, n. 1, p. 32-36, 2017.
- NISHIO, H.; TERASHIMA, S.; NAKASHIMA, M.; AIHRA, E.; TAKEUCHI, K. Involvement of prostaglandin e receptor EP₃ subtype and prostacyclin in receptor in decreased acid response in damaged stomach. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 58, p. 407-421, 2007.

OLBE, L.; CARLSSON, E.; LINDBERG, P. A proton-pump inhibitor expedition: the case histories of omeprazole and esomeprazole. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, p. 132-139, 2003.

OLIVEIRA, M.; PEREIRA, C.; BESSA, C.; ARAUJO, R.; SARAIVA, L. Hydrogen peroxide-induced secondary necrosis in conidia of *Aspergillus fumigatus*. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 62, n. 999, p. 1-7, 2015.

ORRENIUS, S. Reactive oxygen species in mitochondria-mediated cell death. **Drug Metabolism Reviews**, v. 39, n. 2, p. 443-455, 2007.

PAI, R.; SOREGHAN, B. A.; SZABO, I. L.; PAVELKA, M.; BAATAR, D.; TARNAWSKI, A. S. Prostaglandin E2 transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. **Nature Medicine**, v. 8, n. 3, p. 289-293, 2002.

PANAYIOTIDIS, M. I., FRANCO, R., BORTNER, C. D., & CIDLOWSKI, J. A. Ouabain-induced perturbations in intracellular ionic homeostasis regulate death receptor-mediated apoptosis. **Apoptosis**, v. 15, n. 7, p. 834-849, 2010.

PANDEY, V.P., PHANINDRUDU, A., MANAVALAN, R., LIVINGSTON, J. In vitro study on capsule formulations of omeprazole containing enteric coated granules. **Bollettino Chimico Farmaceutico**, v. 141, n. 6, p.419-422, 2002.

PATLOLLA, J. M.; ZHANG, Y.; LI, Q.; STEELE, V. E.; RAO, C. V. Anti-carcinogenic properties of omeprazole against human colon cancer cells and azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci formation in rats. **International Journal of Oncology**, v. 40, n. 1, p. 170-175, 2012.

PENG, Y. T.; CHEN, P.; OUYANG, R. Y.; SONG, L. Multifaceted role of prohibitin in cell survival and apoptosis. **Apoptosis**, v. 20, n. 9, p. 1135-1149, 2015.

PÉREZ-GARIJO, A.; FUCHS, Y.; STELLER, H. Apoptotic cells can induce non-autonomous apoptosis through the TNF pathway. **Elife**, v. 2, p. e01004, 2013.

PÉREZ-GARIJO, A.; STELLER, H. Spreading the word: non-autonomous effects of apoptosis during development, regeneration and disease. **Development**, v. 142, n. 19, p. 3253-3262, 2015.

PHARMACOPOEIA, British. British pharmacopoeia. 2016.

PINHATTI, V. R. **Avaliação da atividade biológica e genotóxica em dois derivados de gunilhidrazonas**. Pós-graduação em biologia celular e molecular –UFRGS. Porto Alegre. 2009

RAMSAY, P.T.; CARR, A. Gastric acid and digestive physiology. **Surgical Clinics of North America**, v. 91, n. 5, p. 977-982, 2011.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; GARDNER, P. Farmacologia. In: **Farmacologia**. Elsevier, 2011.

REPETTO, M. G.; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used is popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 523-534, 2006.

RHIM, S. Y.; PARK, Y. S.; LEE, M.H.; HWANG, K. G.; KIM, Y. S.; SHAW, L. M.; LEE, Y. S.; KANG, J. S. Pharmacokinetics and bioequivalence of 20 mg omeprazole capsule in 24 healthy Korean male volunteers. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 47, n. 1, p. 23-29, 2009.

ROSA, H. T.; SILVA, A. L. G.; BIZARRO, M.; BENDER, E.; ROSA, P. R.; ARAÚJO, A.; CHARLIER, C. F.; POSSUELO, L.; MOURA, D. J.; VALIM, A. R. M.; HENRIQUES, J. A. P. Avaliação de dano no dna em portadores de doença pulmonar obstrutiva crônica pelo ensaio cometa. **Revista Jovens Pesquisadores**, n. 1, 2012.

SANTOS, R. A.; CABRAL, T. R.; CABRAL, I. R.; ANTUNES, L. M. G.; ANDRADE C. P.; SANTOS, P. C. C.; BAHIA, M. O.; PESSOA, C.; NASCIMENTO, J. L. M.; BURBANO, R. R.; TAKAHASHI, C. S. Genotoxic effect of *Physalis angulata* L.(Solanaceae) extract on human lymphocytes treated in vitro. **Biocell**, v. 32, n. 2, p. 195-200, 2008.

SAXENA, B.; KRISHNAMURTHY, S.; SINGH, S. Gastroprotective potential of risperidone, an atypical antipsychotic, against stress and pyloric ligation induced gastric lesions. **Chemico-Biological Interactions**, v. 190, p. 155-164, 2011.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinions in Gastroenterology**, v.27, p. 578-582, 2014.

SCHUBERT, M. L.; PEURA, D. A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, São Paulo, v, 134, p. 1842 – 1860, 2008.

ŞEN, H.; ORUÇ, M.; IŞIK, V. M.; SADIÇ, M.; SAYAR, H.; ÇITIL, R.; KORKMAZ, M.; KOÇER, U. The effect of omeprazole usage on the viability of random pattern skin flaps in rats. **Annals of Plastic Surgery**, v. 78, n. 6, p. e5-e9, 2017.

ŞENER-MURATOĞLU, G. PASKALOĞLU, K. ARBAK, S. HÜRDAĞ, C.; AYANOĞLU-DÜLGER, G. Protective effect of famotidine, omeprazole, and melatonin against acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 46, n. 2, p. 318-330, 2001.

SEREBROVA, S. Y.; KURGUZOVA, D. O.; PROKOFIEV, A. B.; KRASNIKH, L. M.; VASILENKO, G. F.; ZHURAVLEVA, M. V.; BARKOV, A. O. Pathologic Duodenogastric

Reflux and Inhibited Gastric Acid Secretion as Potential Factors Decreasing Omeprazole Stability. **Clinical Therapeutics**, v. 39, n. 8, p. e66-e67, 2017.

SHEN, H. M.; PERVAIZ, S. TNF receptor superfamily-induced cell death: redox-dependent execution. **The FASEB Journal**, v. 20, n. 10, p. 1589-1598, 2006.

SHUKLA, S.; FU, P.; GUPTA, S. Apigenin induces apoptosis by targeting inhibitor of apoptosis proteins and Ku70–Bax interaction in prostate cancer. **Apoptosis**, v. 19, n. 5, p. 883-894, 2014.

SILVA, A. C.; NEPOMUCENO, J. C. Avaliação da frequência de micronúcleos em eritrócitos periféricos de mandi-amarelo (*Pimelodus maculatus*) do rio Paranaíba. **Patos de Minas: UNIPAM**, n. 7, vol. 1: 167-179, ago. 2010.

SILVA, M. R.; OLIVEIRA, C.; RODRIGUES-SANTOS, P.; CARVALHO, L. Genotipagem do *Helicobacter pylori* no Carcinoma Gástrico e Gastrite Crônica. **Jornal Português de Gastreenterologia**, v. 18, n. 5, p. 218-225, 2011.

SILVERTHORN, D.U. **Fisiologia humana uma abordagem integrada**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, p. 687-719, 2010.

SISENANDO, H. A.; MEDEIROS, S. R. B.; SALDIVA, P. H. N.; ARTAXO, P.; HACON, S. Genotoxic potential generated by biomass burning in the Brazilian Legal Amazon by *Tradescantia* micronucleus bioassay: a toxicity assessment study. **Environmental Health**, v. 10, n. 1, p. 41, 2011.

SŁOCZYŃSKA, K.; POWROŹNIK, B.; PEKALA, E. & WASZKIELEWICZ, A. M. Antimutagenic compounds and their possible mechanisms of action. **Journal of applied genetics**, v. 55, n. 2, p. 273-285, 2014.

SONG, H.; ZHU, J.; LU, D. H. Long-term proton pump inhibitor (PPI) use and the development of gastric pre-malignant lesions. **The Cochrane Library**, 2014.

STARODUB, O. T.; DEMITRACK, E. S.; BAUMGARTNER, H. K.; MONTROSE, M. H. Disruption of the Cox-1 gene slows repair of microscopic lesions in the mouse gastric epithelium. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 294, n. 1, p. C223-C232, 2008.

STEWART, D. J.; ACKROYD, R. Peptic ulcers and their complications. **Surgery**, v. 29, n. 11, p. 568-574, 2011.

STRUZYNSKA, L.; CHALIMONIUK, M.; SULKOWSKI, G. The role of astroglia in Pbexposed adult rat brain with respect to glutamate toxicity. **Toxicology**, v. 212, p. 185-194, 2005.

TAKAYAMA, C.; FARIA, F. M.; ALMEIDA, A. C. A.; VALIM-ARAÚJO, D. A. O.; REHEN, C. S.; DUNDER, R. J.; SOCCA, E. A. R.; MANZO, L. P.; ROZZA, A. L.;

SALVADOR, M. J.; PELLIZON, C. H.; HIRUMA-LIMA, C. A.; FERREIRA, A. L.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam.(Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 1, p. 147-155, 2011.

TANAKA, A.; ARAKI, H.; HASE, S.; KOMOIKE, Y.; TAKEUCHI, K. Up-regulation of COX-2 by inhibition of COX-1 in the rat: a key to NSAID-induced gastric injury. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 16, n. s2, p. 90-101, 2002.

TULASSAY, Z.; HERSZÉNYI, L. Gastric mucosal defense and cytoprotection. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 24, n. 2, p. 99-108, 2010.

UEDA, S.; YOSHIKAWA, T.; TAKAHASHI, S.; ICHIKAWA, H., YASUDA, M.; OYAMADA, H.; TANIGAWA, T.; KONDO. Role of free radicals and lipid peroxidation in gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion in rats. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 24, n. sup162, p. 55-58, 1989.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 36 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2013.

UZUN, H.; SIMSEK, G.; AYDIN, S.; UNAL, E.; KARTER, Y.; YELMEN, N.K.; VEHID, S.; CURGUNLU, A.; KAYA, S. Potential effects of L-NAME on alcohol-induced oxidative stress. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 11, n. 4, p. 600, 2005.

VALDEZ, C. R.; MARTIN, L. J.; NORTHINGTON, F. J. Programmed Necrosis: A Prominent Mechanism of Cell Death following Neonatal Brain Injury. **Neurology Research International**, 2012.

WADHWA, R.; SONG, S.; LEE, J. S.; YAO, Y.; WEI, Q; AJANI, J. A. Gastric cancer [mdash] molecular and clinical dimensions. **Nature reviews Clinical oncology**, v. 10, n. 11, p. 643-655, 2013.

WALLACE, J. L.; SHARKEY, K. A. Farmacoterapia da acidez gástrica, úlcera péptica e doença do refluxo gastroesofágico. In: BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLMANN, B. C. (Org.). *As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman*. 12. ed. Porto Alegre: AMGH, 2012, p. 1309-1321.

WANNMACHER, Lennita. Review of the evidence for *H. pylori* treatment regimens. **The 18th Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines**, 2011.

WLODKOWIC, D.; SKOMMER, J.; DARZYNKIEWICZ, Z. Cytometry in cell necrobiology revisited. Recent advances and new vistas. **Cytometry Part A**, v. 77, n. 7, p. 591-606, 2010.

WU, C. C.; BRATTON, S. B. Regulation of the intrinsic apoptosis pathway by reactive oxygen species. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 19, n. 6, p. 546-558, 2013.

WU, J. Q.; KOSTEN, T. R.; ZHANG, X. Y. Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 46, p. 200-206, 2013.

XIA, P.; LIU, Y.; CHENG, Z. Signaling pathways in cardiac myocyte apoptosis. **BioMed Research International**, v. 2016, 2016.

YANAGIHARA, G. R.; DE PAIVA, A. G., NETO, M. P.; TORRES, L. H.; SHIMANO, A. C.; LOUZADA, M. J. Q.; DE OLIVEIRA PENONI, Á. C. Efeitos da administração em longo prazo do omeprazol sobre a densidade mineral óssea e as propriedades mecânicas do osso. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 50, n. 2, p. 232-238, 2015

YANG, Y.X.; LEWIS, J.D.; EPSTEIN, S.; METZ, D.C. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. **JAMA**, v. 296, p. 2947-2953, 2006.

YAO, X.; FORTE, J. G. Cell biology of acid secretion by the parietal cell. **Annual Review of Physiology**, v. 65, n. 1, p. 103-131, 2003.

ZANGHELINI, F.; ROCHA, J. D. A.; SANTOS, S. A; GALDINO, S. L. Perfil de pacientes com artrite reumatoide em uso de inibidores do Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), cadastrados no Componente Especializado da Assistência Farmacêutica de Pernambuco, Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 2, p. 251-256, 2015.

ZENKNER, F. F.; AQUINO, T.; ABLING, F.; DALLEMOLE, D. R.; KÖHLER, A.; PRÁ, D.; RIEGER, A. Avaliação da genotoxicidade do rio pardinho utilizando o ensaio cometa em *astyanax fasciatus* Cuvier, 1819. **Caderno de Pesquisa**, v. 25, n. 3, p. 79-93, 2014.

ZHANG, F.; WANG, L.; WANG, J. J.; LUO, P. F.; WANG, X. T.; XIA, Z. F. The caspase-1 inhibitor AC-YVAD-CMK attenuates acute gastric injury in mice: involvement of silencing NLRP3 inflammasome activities. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.



**Capítulo 1 – POSSÍVEIS EFEITOS DO OMEPRAZOL ASSOCIADOS À MORTE
CELULAR**

Artigo submetido à Revista: Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology

Qualis: B1 para Farmácia

Ag-Anne Pereira Melo de Menezes, José Victor de Oliveira Santos, Antonielly Campinho dos Reis, Rai Pablo de Sousa Aguiar, Antonio Lima Braga, Marcia Fernanda Jardim Paz, Ana Maria Ferreira da Mata, João Marcelo de Castro e Sousa, Ricardo Melo de Carvalho, Carlos Dimas de Carvalho Sousa, Muhammad Torequl Islam, Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante.

POSSÍVEIS EFEITOS DO OMEPRAZOL ASSOCIADOS À MORTE CELULAR

Ag-Anne Pereira Melo de Menezes,^{1,2} José Victor de Oliveira Santos^{1,2}, Antonielly Campinho dos Reis², Rai Pablo de Sousa Aguiar³, Antonio Lima Braga^{1,2}, Marcia Fernanda Jardim Paz⁴, Ana Maria Oliveira Ferreira da Mata⁴, João Marcelo de Castro e Sousa¹, Ricardo Melo de Carvalho⁴, Carlos Dimas de Carvalho Sousa⁵, Muhammad Torequl Islam⁴, Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante^{1,2,4}

¹ Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

² Núcleo de Tecnologia farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

³ Pós-graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

⁴ RENORBIO Rede de Biotecnologia do Nordeste

⁵ Hospital Getúlio Vargas, Teresina, Piauí, Brasil

RESUMO

As lesões gástricas envolvem infiltração inflamatória, disfunção endotelial e danos da membrana celular mediada por radicais livres de oxigênio gerados em resposta a danos da mucosa. Os principais fármacos de escolha no tratamento de patologias associadas aos efeitos do ácido gástrico incluem os inibidores da bomba de prótons (IBP's) que promovem um bloqueio eficaz da secreção ácida basal. Porém os IBP's estão associados com algumas alterações patológicas, pois esses fármacos são de uso prolongado e intermitente, o que pode acarretar em alguns danos genotóxicos e/ou efeitos carcinogênicos. Diante dos prováveis riscos, seus efeitos colaterais e tóxicos devem ser considerados. O processo de morte celular é observado em situações de danos celulares extensos ou irreversíveis, principalmente em situações com elevação do estresse oxidativo sobre lipídeos, proteínas e material genético. Estes efeitos levam a instabilidade genética obrigando a célula a entrar em processo de morte celular ou perpetuar as alterações no seu DNA, acarretando um processo carcinogênico. A análise sistemática de 144 artigos indexados nas bases de dados PubMed, Science Direct, Cochrane Library, Periódico Capes e Scielo publicados até 2017 teve como objetivo caracterizar e correlacionar as atividades farmacológicas do Omeprazol (OME) e seus mecanismos de proteção e indução de morte celular em estudos clínicos e não clínicos. O omeprazol foi capaz de prevenir a morte celular em modelos de indução de lesão gástrica e intestinal devido à restauração das defesas antioxidantes, modulação do processo inflamatório, redução de proteínas apoptóticas e elevação de antiapoptóticas, com redução de áreas necróticas na mucosa gástrica o que foi evidenciado também pelo seu efeito gastroprotetor. No entanto o OME demonstrou capacidade apoptótica em modelos xenográficos com redução da massa tumoral, da viabilidade celular em linhagens cancerígenas e normais.

Palavras chaves: Inibidores da bomba de prótons. Apoptose. Necrose.

ABSTRACT

Gastric lesions Gastric lesions involve inflammatory infiltration, endothelial dysfunction, cell membrane damage mediated by free oxygen radicals generated in response to mucosal damage. The major drugs of choice in the treatment of pathologies associated with the effects of gastric acid include Proton Pump Inhibitors (PPIs) which promote an effective blockade of basal acid secretion. However, PPIs are associated with some pathological alterations, since these drugs are for use prolonged and intermittent, which can lead to some genotoxic damage and / or carcinogenic effects. Faced with the probable risks, its side effects and toxic must be considered. The cell death process is observed in situations of extensive or irreversible cellular damage, especially in situations with elevated oxidative stress on lipids, proteins and genetic material. These effects lead to gene instability forcing the cell to enter the process of cell death or perpetuate changes in its DNA, leading to a carcinogenic process. The systematic analysis of 144 articles indexed in PubMed, Science Direct, Cochrane Library, Periódico Capes and Scielo published until 2017 that aimed to characterize and correlate the pharmacological activities of omeprazole (OME) with mechanisms of protection and induction of cell death in studies clinical and non-clinical. Omeprazole was able to prevent cell death when observed in models of induction of gastric and intestinal damage due to the restoration of the antioxidant defenses, modulation of the inflammatory process, reduction of apoptotic proteins and elevation of antiapoptotic with reduction of necrotic areas in the gastric mucosa what was evidenced also due to its gastroprotective effect. However OME demonstrated apoptotic capacity in xenographic models with reduction of tumor mass, cell viability in normal and cancerous lines.

Key Words: Proton-pump inhibitors. Apoptosis. Necrosis

1 INTRODUÇÃO

As lesões da mucosa gástrica são comuns na população e apresentam diversos fatores etiológicos tais como a ação da pepsina, sais biliares, movimentos anormais, álcool (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008; SOFIDIYA et al., 2012), hipoperfusão mucosa (SOFIDIYA et al., 2012), anti-inflamatórios não esteróides (AINES) bem como a infecção por *Helicobacter pylori* (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008). A produção de ácido clorídrico gástrico é um dos sinais mais proeminente, sendo sua redução a principal estratégia para a prevenção da lesão (WILLEMIJNTJE; PANKAJ, 2001).

O mecanismo fisiopatológico responsável pelo desenvolvimento de lesão gástrica aguda envolve infiltração inflamatória, disfunção endotelial, danos da membrana celular mediada por radicais livres de oxigênio; em resposta a danos da mucosa gástrica (BRZOZOWSKI et al., 1997; SOFIDIYA et al., 2012). A úlcera gástrica é uma doença gastrointestinal importante com aumento da incidência e prevalência global (BRUCKER; FAUCHER, 1997; LI et al., 2011). O desenvolvimento da úlcera gástrica é um processo complexo e multifatorial, geralmente causado por um desequilíbrio entre os fatores protetores da mucosa gástrica e os fatores agressivos (CHOI et al., 2009; SHAKER; MAHMOUD; MNAA, 2010).

No tratamento de distúrbios gastrointestinais são usados inúmeros medicamentos de forma intermitente ou prolongada. Os fármacos utilizados podem causar danos genotóxicos e/ou efeitos carcinogênicos, por isso, estes devem ser considerados na mensuração entre os riscos e benefícios decorrentes do uso (DOWNES, FOSTER, 2015). Os principais fármacos de escolha no tratamento de patologias associadas aos efeitos do ácido gástrico incluem antagonistas da histamina do receptor de tipo 2 (H2RAs) e os Inibidores da Bomba de Prótons (IBP's) (SAVARINO et al., 2017).

Os IBP's são amplamente utilizados (HAASTRUP et al., 2016; NUMICO et al., 2017) com um número crescente da sua utilização por longa duração (BOUTET; WILCOCK; MACKENZIE, 1999; HAASTRUP et al., 2016). Os efeitos adversos relatados devido ao uso prolongado dos IBP's incluem fraturas (CORLEY et al., 2010), infecções entéricas (LEONARD; MARSHALL; MOAYYEDI, 2004), e o desenvolvimento de pólipos gástricos (HONGO; FUJIMOTO, 2010). Os IBP's também estão associados com alterações patológicas, tais como protrusões das células parietais, dilatação das glândulas oxínticas

(KUMAR et al., 2013), desenvolvimento de pólipos de glândulas fúndicas resultante de um efeito trófico em parietais (GRAHAM, 1992; HONGO; FUJIMOTO, 2010).

O Omeprazol (OME) é um IBP's que age produzindo um controle reversível da secreção de ácido gástrico com uma única dose diária. É uma base fraca, concentrada e convertida à sua forma ativa no meio ácido dos canalículos intracelulares da célula parietal do estômago, onde inibe a enzima H⁺/K⁺ATPase (bomba de prótons). Esse efeito sobre a última etapa no processo de formação de ácido depende da dose e promove uma inibição eficaz sobre a secreção ácida basal (HOLGUIN; CEBALLOS; AMARILES, 2012; WANG, 2014).

Em condições normais, as células que sofrem um grau de dano genotóxico pelo acúmulo de alterações no genoma, podem gerar neoplasias, como adenocarcinoma de esôfago de Barret induzido pelo HCL (GOLDMAN et al., 2010). Essas alterações também podem manifestar insuficiência metabólica letal ou uma rede de sinalização descompensada para a via de morte celular ou para o estado de senescência (ZHIVOTOVSKY; KROEMER, 2004). A morte celular é tipicamente discutida dicotomicamente como apoptose ou necrose (FINK; COOKSON, 2005; CLAPP et al., 2012).

A apoptose é descrita como um processo ativo e programado de desordem celular autônoma que evita provocar inflamação (FINK; COOKSON, 2005; MUKHTAR et al., 2012). A necrose foi caracterizada como morte celular passiva e acidental resultante de perturbações ambientais com liberação descontrolada de conteúdo inflamatório celular. Como a apoptose é considerada um processo regulado e controlado, sua ocorrência durante processos infecciosos particulares recebeu grande atenção (FINK; COOKSON, 2005; CHAVEZ-VALDEZ; MARTIN; NORTHINGTON, 2012). O objetivo da presente revisão sistemática foi caracterizar e correlacionar as atividades farmacológicas do OME com os mecanismos de proteção e indução de morte celular em estudos clínicos e não clínicos.

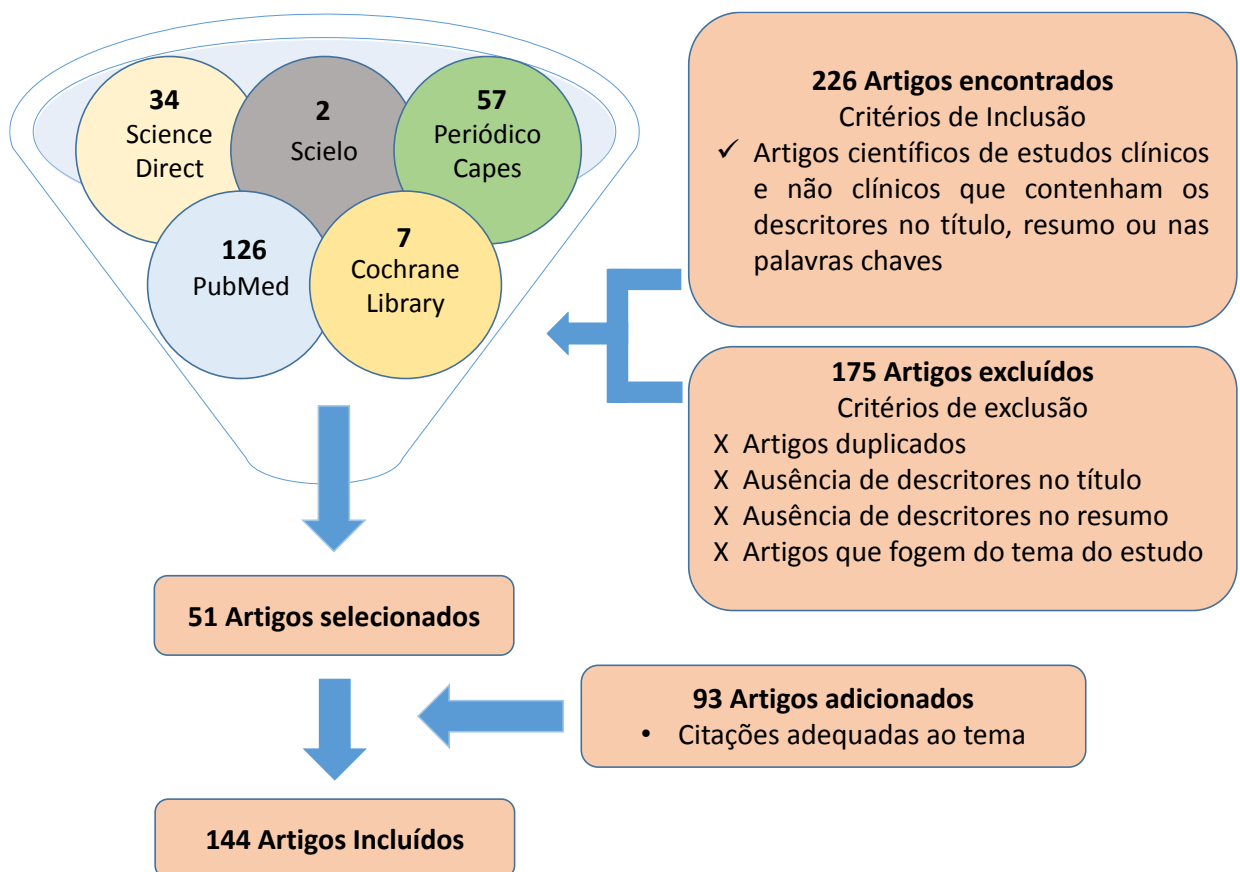
2 METODOLOGIA

A revisão sistemática foi realizada a partir de artigos científicos selecionados em bancos de dados, com publicações até o ano 2017. Os descritores utilizados para o Science Direct, PubMed, Cochrane Library foram previamente verificados no MeSH (Medical Subject Headings) e para o Scielo e Periódico Capes no Decs (Descritores em Ciências da Saúde). Os descritores utilizados para a língua inglesa foram “*omeprazole and apoptosis*”, “*omeprazole and necrosis*”, “*omeprazole and apoptotic*”, “*omeprazole and necrotic*”. Para os que utilizam a

Dissertação de Mestrado | Ag-Anne Pereira Melo de Menezes

língua portuguesa foram “omeprazol e apoptose”, “omeprazol e necrose”, “omeprazol e apoptótico” e “omeprazol e necrótico”. 38 trabalhos científicos foram obtidos por meio da pesquisa no Science Direct, 126 no PubMed, 2 no Scielo, 57 no Periódico Capes e 7 no Cochrane Library. Do total de 226 artigos, foram excluídos da análise 175, pois não se adequavam aos critérios de inclusão, tendo em vista a exigência dos descritores anteriormente citados concomitantemente no título, resumo ou nas palavras chaves. Dessa forma, 51 artigos foram selecionados para análise científica. Com o intuito de ampliar o referencial teórico, foram adicionados 93 artigos relacionados ao tema obtidos através de pesquisas no Science Direct e PubMed. Totalizando 144 artigos avaliados e incluídos neste trabalho de revisão sistemática (**Figura 1**).

Figura 1: Diagrama da obtenção, análise, exclusão e avaliação de artigos científicos



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Atividade Antioxidante do Omeprazol e efeitos frente a morte celular

O oxigênio pode ser reduzido em espécies reativas de oxigênio (ERO's), o desequilíbrio entre a superprodução de ERO's e defesas antioxidantes levam a danos celulares (peroxidação lipídica, oxidação de proteínas, degradação de DNA). Em níveis baixos o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) desempenha papéis importantes em diversas vias de sinalização celular ou é catabolizado. Porém, níveis elevados de H₂O₂ é muito citotóxico e possui difusão através das membranas biológicas causando danos variados às células. Portanto, os sistemas antioxidantes são importantes para neutralizar este H₂O₂ (COYLE; KADER, 2007; PEY et al., 2017; SIES, 2017).

As principais enzimas de degradação de peróxidos são glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT). A GPx inibi os níveis elevados de ERO's como os radicais hidroxila (•OH), derivados a partir de H₂O₂ mantendo o equilíbrio oxidativo protegendo as células do organismo, a CAT tem um efeito direto na degradação do H₂O₂ através das reações de dismutação, existindo principalmente nos peroxissomos das células e serve para proteger contra danos causados pelo peróxido de hidrogênio, demonstrando ser um importante biomarcador oxidativo (GUPTA et al., 2012; PEY et al., 2017).

Os estudos não clínicos referentes à utilização do OME como agente antioxidante, detalhando seu uso *in vivo* (18 artigos) com doses variando entre 2 – 100 mg/kg e *in vitro* (2 artigos) sendo 1 em linhagem cancerígena de glioblastoma (U-87) na concentração 10-200 µM/ml e 1 em linhagens normais epiteliais (MDCK), e macrófagos de camundongos (RAW264.7) na concentração de 200 µM/ mL.

A lesão tecidual é causada por um desequilíbrio entre o dano do tecido gástrico e fatores de proteção. O tecido gástrico após ocorrida a lesão gástrica pode ser parcialmente oxidado, sendo o etanol conhecido por causar este tipo de lesões e produzir radicais derivados do oxigênio. SOD e GPx são eliminadores de ERO's, por isso são importantes na recuperação tecidual, proporcionando uma gastroproteção significativa (CHENG et al., 2014; CHEN et al., 2014). Atividades antioxidantes do OME frente a lesões gástricas foram observadas em animais (EL-NAGA, 2015; EL-ASHMAWY et al., 2016; ALMASAUDI et al., 2016) e em estudos *in vitro* em células MDCK epitelióides, RAW264.7 (PIUAC et al., 2011) e U-87 (CHANCHAL et al., 2016), como apresentado na **Tabela 1**.

Tabela 1: Atividade antioxidante do OME em estudos não clínicos.

Tipo de estudo	Modelo de estudo	Concentração/ Dose (Via de administração) do OME	Mecanismo de ação	Referência
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=10)	Lesão gástrica induzida por etanol 0,2mL/g	20 mg/g (V.O)	Aumento da atividade de SOD	WANG et al.,2015
<i>In vivo</i> - Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por etanol (1 mL/200g)	40mg/kg (V.O)	Aumento da atividade de GPx, SOD e GSH	ALMASAUDI et al.,2016
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=5)	Lesão gástrica induzida por Etanol 60 % e HCL 0.03mol (100mL/10g peso corporal)	30mg/kg (V.O)	Aumento da atividade de CAT, SOD, GSH, GPx e diminuição de MDA	SHIMOYAMA et al., 2013
<i>In vivo</i> - ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por Etanol absoluto 5ml/kg em Ratos	20mg/kg (V.O)	Aumento da atividade de GSH e SOD, redução de MDA,	EL-NAGA, 2015
<i>In vivo</i> - Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por indometacina 62,5mg/g	100mg/g (V.O)	Diminuição MDA e aumento da atividade de GSH.	HAMDAN et al., 2014
<i>In vivo</i> - Camundongos (n=12)	Lesão gástrica induzida por etanol 0,2mL por 20 gramas peso corpóreo	20mg/g (V.O)	Inibição do MDA, aumento da atividade da SOD	ZHENG et al., 2016
<i>In vivo</i> - Ratos (N= 6-7)	Indução de gastrite por etanol 5 mL/Kg	20mg/kg (V.O)	Diminuição de MDA. Aumento da atividade de GSH, SOD e CAT	SONG et al., 2016
<i>In vivo</i> - Ratos (N= 8-30)	Lesão gástrica induzida pelo estresse do frio de retenção, induzida por indometacina (48 mg/kg) e secreção de ácido gástrico induzida por ligadura de piloro	2 e 5 mg/kg (V.O)	Diminuição da produção de OH, Diminuição de MDA e oxidação de proteínas	BISWAS et al., 2003
<i>In vivo</i> – Ratos (N=8) <i>In vitro</i>- U-87	Lesão de constrição crônica induzida e indução de estresse oxidativo por LPS em cultura celular U-87.	In vivo - 10, 30, 50 mg/kg (V.O) In vitro - 10-200 µM/mL	Aumento da atividade da nos animais SOD, CAT e GSH, redução ERO's na cultura celular e MDA nos animais	CHANCHAL et al., 2016

<i>In vivo</i> - Ratos (N=7-9)	Lesão gástrica por isquemia seguida de reperfusão (I/R)	20 mg/kg (V.O)	Aumento da expressão de Nrf2, da capacidade antioxidante total, da atividade de GSH e MDA	MAHMOUD-AWNY et al., 2015
<i>In vivo</i> - Ratos (N=8)	Lesão gástrica induzida por isquemia seguida de reperfusão (I/R)	40mg/mg (V.O)	Redução de MDA, aumento da atividade de GSH e SOD	MUTHURAMAN, RAMESH, CHAUHAN, 2011
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=5)	-----	5 mg/kg (I.P)	Redução de nitrito	MAITY et al., 2012
<i>In vivo</i> - Ratos (N=20-30)	Lesão gástrica induzida por indometacina (100 mg/kg)	5 mg/kg (V.O)	Redução de MDA e aumento da atividade de GSH	EL-ASHMAWY et al., 2016
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=12)	Câncer colítico induzido por Sulfato de dextrano sódico, 15 ciclos de 7 dias (0,7%) por dia	10 mg/kg (I.P)	Redução de MDA	KIM et al., 2010
<i>In vivo</i> - Ratos (N=6-8)	Lesões gástricas induzidas pelo etanol	20 mg / kg (V.O)	Aumento da atividade de GSH, SOD. Diminuição de MDA	EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015
<i>In vivo</i> - Ratos (N=6)	Lesões gástricas induzidas pelo etanol	20 mg/kg (V.O)	Aumento da atividade de GSH, SOD, redução de MDA	AL-SAYED; EL-NAGA, 2015
<i>In vivo</i> - Ratos (n=6)	Lesão gástrica induzida por etanol 5mL/kg	20mg/mL (V.O)	Aumento da atividade SOD; CAT e GPx	ALBAAYIT et al., 2016
<i>In vivo</i> - Ratos (N=6-35)	Lesões gástricas induzidas por etanol	1; 5 e 36 mg/kg (V.O)	Inibição do dano oxidativo na mucosa gástrica bloqueando a peroxidação lipíastroproteica	CHATTOPADHYAY et al., 2004
<i>In vitro</i>- MDCK e RAW264.7	Indução de estresse oxidativo com LPS (50 ng/mL) sobre cultura de células epitelióides MDCK e RAW264.7	200 µM/mL	Redução de ERO's	PIUAC et al., 2011

Legenda: SOD = Superóxido dismutase, CAT = Catalase, GPx =Glutationa peroxidase, GSH = Glutationa redutase, MDA = Malonaldeído, ERO's= Espécies reativas do oxigênio, OH= Radical hidroxil, Nrf2 = Fator nuclear (derivado de eritóide 2), V.O = Via oral, I.P = Via intraperitoneal.

A capacidade antioxidante do OME foi sugerida pela redução do estresse oxidativo com uma influência direta em uma série de fatores, entre eles: redução de ERO's (PIUAC et al., 2011; CHANCHAL et al., 2016); aumento da atividade enzimática de GSH (HAMDAN et al., 2014; MAHMOUD-AWNY et al., 2015; EL-ASHMAWY et al., 2016), SOD (AL-SAYED; EL-NAGA, 2015; WANG et al., 2015; ZHENG et al., 2016), CAT (SHIMOYAMA et al., 2013; SONG et al., 2016) e GPx (ALBAAYIT et al., 2016; ALMASAUDI et al., 2016). Esses resultados corroboram com os achados de Biswas e colaboradores (2003) visto que houve uma redução do radical $\bullet\text{OH}$ e do marcador de peroxidação lipídica malondialdeído (MDA) (MUTHURAMAN, RAMESH, CHAUHAN, 2011; EL-NAGA et al., 2015; EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015).

O aumento do nível de $\bullet\text{OH}$ relaciona-se com a gravidade da lesão. Quando esse radical é eliminado por dimetilulfoxido há redução de 90% das lesões. Como resultados dos danos oxidativos causados pela geração de $\bullet\text{OH}$ observa-se o aumento da peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e a diminuição do nível de glutathiona que têm sido recentemente relatados na úlcera gástrica humana. O $\bullet\text{OH}$ é gerado a partir do oxigênio e H_2O_2 , após a alteração das enzimas antioxidantes da mucosa gástrica. O OME atua como um potente antioxidante para eliminar o $\bullet\text{OH}$ endógeno, evitando assim o dano oxidativo por redução da peroxidação lipídica e oxidação de proteínas (BISWAS et al., 2003). O MDA é marcador de estresse oxidativo e é gerado em grandes quantidades nas áreas danificadas do tecido gástrico, podendo ser utilizado como indicador de lesão gástrica (CHEN et al., 2014), devido este ser o produto final da peroxidação lipídica, principal efeito de lesão mediada por radicais livres causando danos à membrana celular.

A atividade antioxidante do OME foi sugerida pelo aumento da expressão da RNAm de fator nuclear derivado de eritóide 2 (Nrf2) (MAHMOUD-AWNY et al., 2015). Este por sua vez, é translocado para o núcleo, onde tem como alvo genes promotores de resposta antioxidante, tais como: GSH, GPx e GSH S-transferase (SURH; KUNDU; NA, 2008). Dessa forma, a redução do estresse oxidativo pelo OME demonstrou que este mecanismo pode ser uma das chaves para a redução da morte tecidual da mucosa gástrica devido a ação dos ERO's neste tipo de tratamento serem um fator muito importante no progresso da lesão oxidativa na mucosa, visto que a lesão induzida por etanol causa a oxidação de proteínas e a peroxidação lipídica que estão relacionadas com o progresso da patogênese (ZHENG et al., 2016) produzindo derivados lipídicos altamente tóxicos que podem modificar a função celular e até levar à morte celular (SHIMOYAMA et al., 2013).

3.2 Atividade anti-inflamatória do Omeprazol frente a morte celular

A inflamação é um processo complexo e necessário durante a resposta de um organismo a estímulos biológicos, químicos ou físicos. Uma inflamação persistente vinda da exposição prolongada ou uma reação inadequada tecidual durante a fase aguda podem levar à uma fase crônica resultando em danos aos tecidos e ocorrência de fibrose. A inflamação crônica é relatada em várias doenças (LINKERMANN et al., 2014), incluindo as patologias relacionadas ao trato gastrointestinal (KAPPELMAN et al., 2007; RUBIN; SHAKER; LEVIN, 2012).

As citocinas são moduladores-chave da inflamação, participando do processo agudo e crônico através de uma rede de interações complexas e às vezes, aparentemente, contraditórias. Uma melhor compreensão de como essas vias são reguladas ajuda a facilitar a identificação mais precisa de agentes que medem a inflamação e o tratamento de doenças inflamatórias (TURNER et al., 2014). As citocina pró-inflamatórias são pequenos peptídeos (8000 dalton) que facilitam a passagem de leucócitos da circulação para os tecidos. A citocina IL-8 ativa os neutrófilos para desgranular e provoca danos teciduais (DINARELLO, 2000). A IL-1 e TNF são essenciais para a adesão de leucócitos à superfície endotelial antes da migração para os tecidos, atuando sinergicamente no processo de inflamação. Seja induzido por uma infecção, traumatismo, isquemia, células T imune-ativadas, ou toxinas, iniciando a cascata de mediadores inflamatórios sobre o endotélio (DINARELLO, 2000).

A IL-1 β também é uma citocina pró-inflamatória, que exerce efeitos pleiotróficos sobre uma variedade de células e desempenha papéis fundamentais em desordens inflamatórias e autoimunes, agudas e crônicas (REN; TORRES, 2009). A IL-6 está envolvida na hematopoiese, e é fundamental para a maturação final de células B que são produtoras de anticorpos (KISHIMOTO, 2010). A proteína quimioatrativa de monócitos 1 (MCP-1) exerce seus efeitos através da ligação aos receptores acoplados à proteína G na superfície de leucócitos direcionados para ativação e migração funcionando como quimiotático para monócitos (YADAV; SAINI; ARORA, 2010).

A **Tabela 2** apresenta os estudos clínicos (2 artigos) em pacientes infectados por *H. pylori* na dose de 20 mg/kg, não clínicos referentes a utilização do OME como agente anti-inflamatório detalhando seu uso *in vivo* (27 artigos) com doses entre 400 μ M e 120 mg/kg; e em linhagens de células cancerígenas (2 artigos) (células de neuroblastoma - SH-SY5Y), microglia humana (THP), de glioblastoma (U-87) em concentrações entre 10-200 μ M/mL e (1

artigo) em células normais (MDCK), e macrófagos de camundongos (RAW264.7) com concentração de 200 μM / mL.

Tabela 2: Atividade antiinflamatória do OME em estudos clínicos e não clínicos.

Tipo de estudo	Modelo de estudo	Concentração/ Dose (Via de administração) do OME	Mecanismo de ação	Referência
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=4-5)	Lesão gástrica induzida em por diclofenaco 10; 30; 100 mg/kg	20mg/kg (V.O)	Diminuiu o nível de MPO e TNF- α	GOSWAMI et al, 2016
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=10)	Lesão gástrica induzida por etanol 0,2mL/g	20 mg/g (V.O)	Redução de MPO, TNF- α , IL-6, IL-1 β e NF-KB	WANG et al.,2015
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por etanol (1mL/200g)	40mg/kg (V.O)	Redução de TNF- α , IL-6 e IL-1 β	ALMASAUDI et al.,2016
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=5)	Lesão gástrica induzida em por etanol 60 % e HCL 0,03 M (100mL/10g peso corporal)	30mg/kg (V.O)	Diminuição de MPO, influxo de neutrófilos no tecido danificado e do TNF- α	SHIMOYAMA et al., 2013.
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por Etanol absoluto 5mL/kg em Ratos	20mg/kg (V.O)	Redução de IL- 1 β , TNF- α e COX 2	EL-NAGA, 2015
<i>In vivo</i> – Ratos (N=9)	Lesão gástrica induzida em ratos (N=9) por ligação do piloro	20mg/kg (V.O)	Redução de IL-1 β , TNF- α , IL-6 e MCP-1	CHOO; ROH,2013
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por indometacina 62,5mg/g	100mg/g (V.O)	Diminuição do NTF- α	HAMDAN et al., 2014
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=12)	Lesão gástrica induzida por etanol 0,2mL por 20 gramas peso corpóreo	20mg/g (V.O)	Diminuição do NTF- α e aumento de IL-10	ZHENG et al., 2016
<i>In vivo</i> – Ratos (N=15)	Lesão intestinal por isquemia por 60 minutos seguida de reperfusão de 60 minutos através da artéria mesentérica superior	120 mg/kg (V.O)	Diminuição do MPO e TNF- α	LIU et al., 2016
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=10)	Lesão gástrica induzida por HCl/etanol (60% em 150 mM HCL)	25 mg/kg (V.O)	Diminuição expressão de RNAm de proteínas, COX-2, TNF- α , IL-1 β , IL-6 e IL-8	CHEN et al., 2014
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por etanol 5mL/kg	20mg/mL (V.O)	Diminuição de TNF- α , IL-6 e aumento de IL-10	ALBAAYIT et al., 2016

<i>In vivo</i> – Ratos (N=6)	Indução de cirrose por Tioacetamida 0,03% com hipertensão portal cirrótica	15mg/kg (V.O)	Redução de infiltração de neutrófilos	GAO et al., 2014
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6-7)	Indução de gastrite por etanol 5mL/Kg	20mg/kg (V.O)	Diminuição da expressão de TNF- α , IL6, IL-1 β , NF-KB e aumento de COX-2	SONG et al., 2016
<i>In vitro</i> - Linhagens de células de neuroblastoma (SH-SY5Y) [microglia humana] THP	Estresse induzido por lipopolisacarídeos combinados com interferon- γ	10 μ M	Diminuição de TNF- α e de IL-6	HASHIOKA; KLEGERIS; MCGEER, 2009
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=10)	Lesão gástrica induzida por ácido acetil salicílico 400mg/kg (v.o) 1x ao dia durante 10 dias	30mg/kg (V.O)	Diminuição de INF- γ ⁺ , TNF- α aumento de IL-10	RODRIGUES et al.,2010
<i>In vivo</i> – Ratos (N=8)	Lesão de constrição crônica induzida, indução de estresse oxidativo por LPS em cultura celular U-87.	10; 30; 50 mg/ kg (V.O)	Redução significativa do TNF- α , IL-1 β e IL-6	CHANCHAL et al., 2016
<i>In vivo</i> – Ratos (N=7-9)	Lesão gástrica em por isquemia seguida de reperfusão (I /R)	20 mg/kg (V.O)	Redução de NF- κ B, IL-1 β , E-selectina e MPO	MAHMOUD-AWNY et al., 2015
<i>In vivo</i> – Ratos (N=8)	Lesão gástrica induzida por isquemia seguida de reperfusão (I /R)	40mg/mg (V.O)	Mieloperoxidase (MPO)	MUTHURAMAN, RAMESH, CHAUHAN, 2011
<i>In vivo</i> – Ratos (N=7-9)	-----	400 μ mol/kg (V.O)	Aumento da expressão de Ntrk2, Syk, Cxcr4 e redução de Cxcl12.	NØRSETT et al., 2005
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=10)	Indução de estresse oxidativo em cultura celular por LPS 400 μ g/local	5 mg/kg (I.P)	Redução da permeabilidade vascular	MAITY et al., 2012
<i>In vivo</i> – Ratos (N=20-30)	Lesão gástrica induzida por indometacina (100 mg/kg)	5 mg/kg (V.O)	Redução de TNF- α	EL-ASHMAWY et al., 2016
<i>In vivo</i> - Camundongos (N=12)	Câncer colítico induzido por Sulfato de dextrano sódico, 15 ciclos de 7 dias (0,7%) por dia	10 mg/kg (I.P)	Redução TNF- α , COX-2 e IL-6	KIM et al., 2010

<i>In vitro</i> – Linhagens de células MDCK epitelióides e RAW264.7	Indução de estresse oxidativo com LPS (50 ng /mL)	200 µM/ml	Redução de TNF- α em células MDCK epitelióides e RAW264.7 infectadas com Salmonella enterica serovar Typhimurium.	PIUAC et al., 2011
Clínico - 19 pacientes	Pacientes infectados por <i>H. pylori</i> tratados por 4 semanas	20 mg de OME + 1g de amoxicilina + 800mg de metronidazo (V.O)	Diminuição de mRNA, IL-8 devido ao declínio da presença de neutrófilos na mucosa gástrica.	KOOSIRIRAT et al, 2010
Clínico - 60 pacientes	Pacientes com <i>H. pylori</i> tratados por 1 semana	OME 20 mg+ 500 mg de claritromicina + 500mg de metronidazol (V.O)	Houve erradicação de <i>H. pylori</i> em 51 pacientes após tratamento. O TNF- α e IL-8 plasmático foram reduzidos após a terapia em 72% e 65%.	SZLACHCIC et al, 1999
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6-8)	Lesões gástricas induzidas pelo etanol	20 mg / kg (V.O)	Redução de TNF- α , MPO e aumento de IL-6	EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6)	Lesões gástricas pelo etanol	20 mg/kg (V.O)	Redução de marcadores pró-inflamatórios IL-1 β , TNF- α e COX-2	AL-SAYED; EL-NAGA, 2015
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6)	Lesões gástricas induzidas por imersão em água e estresse por restrição – 12 horas	20mg/kg (V.O)	Diminuição dos níveis de TNF- α	MAO et al., 2016
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6)	Lesões gástricas induzidas por aplicação de Lipopolissacarídeo de <i>H. pylori</i>	40 mg / kg (V.O)	Redução acentuada no padrão de gravidade das alterações inflamatórias da mucosa causada por <i>H. pylori</i>	SLOMIANY; PIOTROWSKI; SLOMIANY, 1999.
<i>In vivo</i> – Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por HCl	20mg/kg (V.O)	Redução de IL-1 β	WATANABE et al., 2001

Legenda: MPO = mieloperoxidase, TNF- α = Fator de necrose tumoral - α , IL-6 = Interleucina 6, IL-8 = Interleucina-8, IL-1 β Interleucina- 1 β , MCP-1= Proteína quimioatrativa de monócitos 1, IL-10= Interleucina-10, NF-KB = fator de transcrição nuclear kappa B; COX-2 = Ciclooxigenase -2, Ntrk2 = receptor neurotrófico tirosina quinase 2, Syk = Proteína tirosina quinase, Cxcr4 = Receptor de quimiocina tipo 4 C-X-C, Cxcl12= Ligando 12 de quimioquinas C-X-C, INF- γ - Interferon gama, V.O = Via oral, I.P = Via intraperitoneal.

O OME tem efeitos na redução de marcadores pró-inflamatórios, tais como IL-8 em modelos de indução de danos na mucosa gástrica (SZLACHCIC et al, 1999; KOOSIRIRAT et al., 2010) e *in vivo* (CHEN et al., 2014). Em estudos não clínicos, o OME também reduz IL-1 β (MAHMOUD-AWNY et al., 2015; SONG et al., 2016; CHANCHAL et al., 2016), MCP-1 (CHOO; ROH, 2013); IL-6 (WANG et al.,2015; ALMASAUDI et al.,2016; ALBAAYIT et al., 2016). A IL-6, pró-inflamatória, é importante para a medição da resposta imune e inflamação aguda ativa dos granulócitos e agranulócitos, que por sua vez desencadeiam uma resposta ao estresse no tecido lesado (MEI et al., 2012), porém os níveis desta interleucina aumentaram nos estudos de El-Maraghy, Rizk e Shahin (2015) o que pode ser explicado pela diferença de protocolos de ulceração gástrica aplicados nos estudos. Outra possibilidade deve ser levada em consideração, a elevação dos níveis de TNF- α na mucosa gástrica reduzem os níveis de IL-6 (WANG et al., 1998).

O OME também influencia para o aumento de IL-10. A IL-10 é uma potente citocina anti-inflamatória que desempenha um papel crucial e, muitas vezes, essencial na prevenção de patologias inflamatórias e autoimunes (SABAT et al., 2010), que tem a capacidade de suprimir a resposta inflamatória na úlcera gástrica pela inibição da produção de TNF- α (ALBAAYIT et al., 2016) que é a principal citocina inflamatória secretada por macrófagos, durante a inflamação (BRZOWSKI et al., 2001). As citocinas pró-inflamatórias, particularmente o TNF- α , induzem a morte celular apoptótica, ativando a família das caspases. Além de muitas atividades biológicas, o TNF- α está envolvido na indução de inflamação, lesão e carcinogênese em uma variedade de tecidos, incluindo a mucosa gástrica. Além disso, o TNF- α tem atividades sobrepostas e sinérgicas para induzir a produção do fator nuclear kappa B (NF- κ B) (WANG et al., 2015). A redução do TNF- α pelo OME foi observada em diversos estudos *in vivo* (ALBAAYIT et al., 2016; ALMASAUDI et al.,2016; CHANCHAL et al., 2016) e em estudo clínico (SZLACHCIC et al, 1999).

Cabe enfatizar que o NF- κ B tem papel na indução de genes pró-inflamatórios durante o início da inflamação, mas também apresentam relação com apoptose de leucócitos durante a resolução da inflamação (LAWRENCE, 2009). A via de NF- κ B foi definida principalmente em resposta a sinalização de TNF- α e IL-1 (KARIN et al., 2004; WILLIAMS et al., 2007). O OME influencia também na redução do NF- κ B em modelos de lesão gástrica *in vivo* (MAHMOUD-AWNY et al., 2015; WANG et al.,2015; SONG et al., 2016), que é um regulador negativo do receptor ativado por proliferador de peroxissomo γ (PPAR- γ), o qual é um fator de transcrição que atua como um regulador pleiotrópico influente de anti-inflamação

(ZHAO et al., 2015), mas foi observado que nesse estudo a ação anti-inflamatória foi independente da regulação positiva do PPAR- γ . Observou-se também que o OME pode ter ação sobre a redução da E-selectina (MAHMOUD-AWNY et al., 2015), que é uma proteína que não é expressada constitutivamente, mas é induzida rapidamente por citocinas inflamatórias (LEY, 2003) e pela mieloperoxidase (MPO) (WANG et al., 2015; LIU et al., 2016; GOSWAMI et al., 2016) que é encontrada nos grânulos secundários de neutrófilos, e sua atividade é aceita como indicador de infiltração de neutrófilos em tecidos (SHIMOYAMA et al., 2013; LAURA et al., 2016), gerando danos via espécies reativas do oxigênio em proteínas, lipídios e DNA (LAURA et al., 2016).

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), como a indometacina e o diclofenaco, têm seus efeitos terapêuticos e adversos principalmente por inibição de ciclooxigenase 1 (COX-1) e em extensão menor, a ciclooxigenase 2 (COX-2), causando efeitos ulcerogênicos gástricos (HAMDAN et al., 2014). A COX-2 não é detectada na maioria dos tecidos normais, mas sua expressão é induzida rapidamente por estímulos tais como citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α), assim, essa isoenzima induzível tem sido implicada em processos patológicos, como inflamação (ZARGHI; ARFAEI, 2011). Foi observado que o OME, tanto em estudos com animais, quanto em cultura de células promoveu uma redução de marcadores inflamatórios como a COX-2 (CHEN et al., 2014; EL-NAGA, 2015; SONG et al., 2016), em contraste com o aumento observado em Song e colaboradores (2016). Embora a COX-2 não seja constitutivamente expressa na maioria dos tecidos, esta é intensamente regulada durante inflamação e lesões (BRZOSOWSKI et al., 2001).

Também foram identificados marcadores moleculares para a capacidade imunomodulatória do OME pelo aumento do receptor neurotrófico tirosina quinase 2 (Ntrk2), gene envolvido na modulação da imunidade celular (NASSENSTEIN; KERZEL; BRAUN, 2004). Assim como: redução do receptor de quimiocina tipo 4 C-X-C (Cxcr4), que desempenha um papel importante no recrutamento de células de defesa (SMITH et al., 2005); Aumento da proteína tirosina quinase (Syk), envolvida na sinalização intracelular na resposta inflamatória (ULANOVA et al., 2003), ligando 12 de quimioquinas C-X-C (Cxl12), proteína considerada reguladora essencial do tráfico direcionado de leucócitos (SMYTH, 2004) e da atividade anti-inflamatória devido a redução desta proteína. Surpreendentemente, muitos genes conhecidos por estarem envolvidos em respostas imunes e inflamatórias foram regulados positivamente. A acidez gástrica reduzida pelo OME cria um ambiente suscetível à colonização bacteriana elevando o número de genes que codificam proteínas envolvidas em

respostas celulares a agentes patogênicos. Mecanismo oriundo da ativação de células inflamatórias na submucosa, sugerindo que essas proteínas podem estar envolvidas na proteção da mucosa gástrica contra danos teciduais (NØRSETT et al., 2005) (**Tabela 2**).

3.3 Atividade gastroprotetora do Omeprazol

Os estudos não clínicos referentes à utilização do OME como agente gastroprotetor, detalhando seu uso *in vivo* (29) com doses variando entre 10 µM – 400 mg/kg e *in vitro* (1) em linhagens normais epiteliais (MDCK), e macrófagos de camundongos (RAW264.7) na concentração de 200 µM/ mL estão relatados na Tabela 3. Em estudos realizados *in vivo* foi demonstrado a capacidade de redução de danos ulcerativos induzidos na mucosa gástrica evidenciando o efeito gastroprotetor do OME em ratos (MUTHURAMAN; SOOD,2010; MAHMOUD-AWNY et al., 2015; ALBAAYIT et al., 2016) e camundongos (ZHANG et al., 2016). O efeito gastroprotetor do OME já é conhecido pela sua capacidade de bloquear a bomba de prótons nas células parietais do estômago (HOLGUÍN; CEBALLOS; AMARILES, 2012), no entanto, esta atividade dispõe de outras vias de gastroproteção, como a ativação da proteína de choque térmico (HSP70) e o fator de transformação do crescimento beta (TGF-β).

Tabela 3: Atividade gastroprotetora do OME em estudos não clínicos

Tipo de estudo	Modelo de estudo	Concentração/ Dose (Via de administração) do OME	Mecanismo de ação	Referência
<i>In vivo</i>- Camundongos (N=4-5)	Lesão gástrica induzida por diclofenaco 10; 30; 100 mg/kg	20mg/kg (V.O)	Redução da lesão gástrica	GOSWAMI et al, 2016
<i>In vivo</i>- Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por etanol (1mL/200g)	40mg/kg (V.O)	Redução da lesão gástrica Redução de NO	ALMASAUDI et al.,2016
<i>In vivo</i>- Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por ligação do piloro	40mg/kg (V.O)	Redução da lesão gástrica	MUTHURAMAN; SOOD,2010
<i>In vivo</i>- Camundongos (N=5)	Lesão gástrica induzida por Etanol 60 % e HCL 0,03mol (100mL/10g peso corporal)	30mg/kg (V.O)	Redução da lesão gástrica e aumentou PGE2	SHIMOYAMA et al., 2013.
<i>In vivo</i>- Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida em ratos (N=6) por Etanol absoluto 5mL/kg em Ratos	20mg/kg (V.O)	Redução de NO	EL-NAGA, 2015
<i>In vivo</i>- Ratos (N=9)	Lesão gástrica induzida por ligação do piloro	20mg/kg (V.O)	Redução de e não foram observados danos esofágicos, edema e hemorragia gástrica	CHOO; ROH,2013
<i>In vivo</i>- Ratos (N=6)	Lesão gástrica induzida por indometacina 62,5mg/g	100mg/g (V.O)	Diminuição da lesão gástrica	HAMDAN et al., 2014
<i>In vivo</i>- Camundongos (n=12)	Lesão gástrica induzida por etanol 0,2mL por 20 gramas peso corpóreo	20mg/g (V.O)	Diminuição do NO	ZHENG et al., 2016
<i>In vivo</i>- Ratos (n=15)	Lesão intestinal por isquemia por 60 minutos seguida de reperfusão de 60 minutos através da artéria mesentérica superior	120 mg/kg (V.O)	Melhora da lesão intestinal.	LIU et al., 2016
<i>In vivo</i>- Ratos (n=7-12)	Lesão gástrica induzida por 1 ml salina hipertônica 25%	10, 30, 100 µM (I.G)	Diminuição de lesão	MORINI et al.,1995
<i>In vivo</i>- Camundongos (N=10)	Lesão gástrica induzida por Hcl/etanol (60% em 150 mM HCL)	25 mg/kg (V.O)	Diminuição expressão de RNAm de proteínas de INOS, NO, MOT e SP, Aumento de SS e VIP	CHEN et al., 2014

<i>In vivo</i>- Ratos (n=6)	Lesão gástrica induzida por etanol 5mL/kg	20mg/mL (V.O)	Ativação da HSP70 e aumento de TGF-β.	ALBAAYIT et al., 2016
<i>In vivo</i>- Ratos (N=10)	Indução de cirrose por Tioacetamida 0,03% com hipertensão portal cirrótica	15mg/kg (V.O)	Aumento de NO na mucosa gástrica, PG2, fluxo sanguíneo na mucosa gástrica e glicoproteína gástrica. Diminuição do índice de danos na mucosa gástrica	GAO et al., 2014
<i>In vivo</i>- Ratos (N= 6-7)	Indução de gastrite por etanol 5mL/Kg	20mg/kg (V.O)	Diminuição da lesão gástrica. Aumento de COX-1, Diminuição de INOS	SONG et al., 2016
<i>In vivo</i>- Camundongos (n=6)	Lesão gástrica induzida por etanol 100% (0,1mL/kg) e restrição a frio intragástrica	OME 400mg/kg (I.P)	Redução da erosão gástrica e hemorrágicas de úlceras	ZHANG et al., 2016
<i>In vivo</i>- Ratos (N= 8-30)	Lesão gástrica induzida pelo estresse do frio de retenção, induzida por indometacina (48 mg/kg), secreção de ácido gástrico induzida por ligadura de piloro	2 e 5 mg/kg (V.O)	Diminuição da lesão gástrica	BISWAS et al., 2003
<i>In vivo</i>- Ratos (N=12)	Lesão gástrica induzida por indometacina (20 mg/kg.)	10-100 μM/kg (V.O)	Prevenção de lesões visíveis e ausência de edema e erosões em células endoteliais gástricas.	MORINI et al., 1995
<i>In vivo</i>- Ratos (N=8)	Lesão gástrica induzida por diclofenaco (100 mg/kg)	20 mg/kg (V.O)	Redução na incidência de hemorragias gástricas causadas por diclofenaco	KINGSEY et al., 2011
<i>In vivo</i>- Ratos (N=7-9)	Lesão gástrica por isquemia seguida de reperfusão (I/R)	20 mg/kg (V.O)	Redução de NO	MAHMOUD-AWNY et al., 2015
<i>In vivo</i>- Ratos (N=20-30)	Lesão gástrica induzida por indometacina (100 mg/kg)	5 mg/kg 10 (V.O)	Redução da lesão ulcerativa e NO e aumento do pH gástrico e PGE2	EL-ASHMAWY et al., 2016
<i>In vivo</i>- Ratos (N=4)	Lesão da mucosa gástrica induzida por choque hemorrágico	15; 30; 60 mg/kg (I.P)	Proteção da mucosa gástrica, o aumento da secreção de muco gástrico contribui para essa ação protetora. Inibição significativa da produção de ácido gástrico	BLANDIZZ et al., 1994
<i>In vivo</i>- Ratos (N=6-8)	Lesões gástricas induzidas pelo etanol Ratos (N=6-8)	20 mg / kg (V.O)	Aumento de PGE2 e mucina, diminuição do HSP70	EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015
<i>In vivo</i>-Ratos (N=6)	Lesões gástricas induzidas por imersão em água e estresse por restrição – 12 horas	20mg/kg (V.O)	Aumento do pH gástrico	MAO et al., 2016
<i>In vivo</i>- Ratos (N=6)	Lesões gástricas induzidas por etanol	20mg/kg (V.O)	Aumento da secreção de mucopolissacarídeos; Aumento da expressão de HSP70.	AL BATRAN et al., 2013

<i>In vivo</i>- Ratos (N=8)	Lesões gástricas induzidas por aplicação de Lipopolissacarídeo de <i>H. pylori</i>	40 mg / kg (V.O)	Redução acentuada no padrão de gravidade das alterações inflamatórias da mucosa Causada por <i>H. pylori</i>	SLOMIANY; PIOTROWSKI; SLOMIANY, 1999.
<i>In vivo</i>- Ratos (N=6-35)	Lesões gástricas induzidas por etanol	1; 5; 36 mg/kg (V.O)	O OME reduziu a secreção de ácido pela inibição de H ⁺ -K ⁺ -ATPase	CHATTOPADHYAY et al., 2004
<i>In vivo</i>- Ratos (N=10)	Lesões gástricas induzidas por ácido acético	400µM/kg (I.P)	Redução da lesão gástrica e aumento do índice mitótico	LI; HELANDER,1996
<i>In vivo</i>- Camundongos (N=12)	Câncer colítico induzido por Sulfato de dextrano sódico, 15 ciclos de 7 dias (0,7%) por dia	10 mg/kg (I.P)	Redução do NO e INOS	KIM et al., 2010
<i>In vitro</i>- MDCK e RAW264.7	Cultura celular MDCK epitelióides e RAW264.7, indução de estresse oxidativo com LPS (50 ng/mL)	200 µM/mL	Redução de NO	PIUAC et al., 2011
<i>In vivo</i>- Ratos (N=8)	Lesões gástricas induzidas por aplicação de Lipopolissacarídeo de <i>H. pylori</i>	40 mg / kg (V.O)	Redução INOS	SLOMIANY; PIOTROWSKI; SLOMIANY, 1999

NO = Óxido nítrico, INOS = Óxido nítrico sintase, HSP70 = Proteína de choque térmico, PGE2 = Prostaglandina 2, COX-1 = Ciclooxigenase, MOT = Motilina, SP = Substância P, SS = Somatostatina, VIP = Peptídeo intestinal vasoativo, TGF-β = Fator de transformação do crescimento, V.O = Via oral, I.P = Via intraperitoneal

A geração de ERO's na mucosa gástrica impede a expressão de HSP70, proteína que desempenha um papel vital na proteção das células contra o estresse oxidativo e choque térmico (ATALAY et al., 2009), devido a sua capacidade de preservar a estrutura funcional de proteínas normais e reparar ou remover proteínas danificadas (TYTELL1; HOOPER, et al., 2001; CHEN et al., 2005). O TGF- β tem um efeito importante na cura na úlcera gástrica, induzindo migração celular e aumento da proliferação vascular, podendo ser considerado como um potencial marcador na prevenção e tratamento do câncer gástrico (WU et al., 2017). O aumento da HSP70 foi observado no tecido gástrico de ratos pré-tratados com OME (AL BATRAN et al., 2013; ALBAAYIT et al., 2016), no entanto, foi observado uma redução da expressão de mRNA dessa proteína (EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015), o que pode significar também que há uma correlação com a gastroproteção devido redução da lesão gástrica em animais pré-tratados com o OME. No estudo de Albaayit e colaboradores (2016) foi observado o aumento de TGF- β acompanhado da redução das lesões ulcerativas demonstrando uma ação gastroprotetora.

O OME em modelos de lesão gástrica aumentou a produção de COX-1 em ratos (SONG et al., 2016) e PGE2 em camundongos (SHIMOYAMA et al., 2013) e ratos (GAO et al., 2014; EL-ASHMAWY et al., 2016). A COX-1 é fisiologicamente importante para as funções homeostáticas (EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015) como a liberação de bicarbonato, mantendo o fluxo sanguíneo local e aumentando a resistência das células epiteliais contra potenciais danos (HAWKEY; RAMPTON, 1985) pela produção de PGE2 (EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015) que atua como mediador no sistema da mucosa gastrointestinal para regular a secreção de muco da mucosa gástrica exibindo efeitos defensivos em modelos de lesões gástricas (ABDULLA et al., 2009). A COX-1 também é conhecida por estimular a secreção de muco (BLANDIZZ et al., 1994; BLANDIZZ et al., 1995) efeito que pode ser relacionado a elevação dos níveis de mucina, pois esta é o principal componente da glicoproteína de formação da camada mucoprotetora da mucosa gástrica (AL BATRAN et al., 2013; EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015).

O óxido nítrico (NO) tem relação na modulação da integridade da mucosa gástrica e manutenção do seu fluxo sanguíneo. Em muitos tecidos o NO endógeno, produzido principalmente pelo óxido nítrico sintase (iNOS), regulador da expressão de vários genes associados à inflamação e lesão celular (RYTER; CHOI, 2005), tem participação em processos fisiológicos do trato gastrointestinal. O NO aumenta o fluxo sanguíneo, dilatação dos vasos sanguíneos, estimula a angiogênese gástrica no processo de cicatrização de úlceras,

Dissertação de Mestrado | Ag-Anne Pereira Melo de Menezes

proliferação celular da mucosa gástrica e formação de tecido de granulação na base da úlcera (AKTAN, 2004), sendo ainda relatado que o NO originário da iNOS teria um efeito pró-ulcerogênico (NISHIO et al., 2006; MUSUMBA; PRITCHARD; PIRMOHAMED, 2009).

Em estudos *in vivo* houve redução de NO (EL-NAGA, 2015; ALMASAUDI et al., 2016; EL-ASHMAWY et al., 2016; ZHENG et al., 2016), corroborando estudos que relatam a redução da enzima óxido nítrico sintase (iNOS) *in vivo* (CHEN et al., 2014; MAHMOUD-AWNY et al., 2015; SONG et al., 2016;) em contraste com o estudo de Gao e colaboradores (2014) que relata o aumento de NO na mucosa gástrica, entretanto, estudos sugeriram que, após o uso de drogas IBP's, o nível de proteção da mucosa gástrica foi positivamente correlacionado com o NO. O OME em modelos de indução gástrica reduziu os marcadores motilina (MOT) e substância P (SP) em contraste com o aumento de somatostatina (SS) e peptídeo intestinal vasoativo (VIP), sugerindo que a inibição destes hormônios gastrointestinais excitatórios e a estimulação dos hormônios inibitórios pelo OME promove a gastroproteção (CHEN et al., 2014). A MOT e SP são hormônios gastrointestinais excitatórios estimuladas por lesões de estômago, aumentando gradativamente a secreção de ácido gástrico, o que faz com que a acidez estomacal agrave as lesões gástricas (WANG et al., 2011; LI et al., 2014). A SS e VIP são hormônios gastrointestinais inibidores, os quais podem inibir a secreção de ácido gástrico (ZHOU et al., 2014).

3.4 Atividade antinecrótica do Omeprazol

A necrose é a morte celular "comum" com as características de um processo passivo, enquanto a apoptose é uma forma "especial" de morte celular com as características de um processo ativo (DENECKER et al., 2001) demonstrando que apoptose e a necrose são duas formas distintas de morte celular (BALLA et al., 2001). A necrose é considerada uma forma de morte celular desregulada. Na verdade, a morte celular por necrose resulta na libertação de moléculas com propriedades pró-inflamatórias, que possuem múltiplos eventos celulares simultâneos culminando em inchaço celular, agregação da cromatina, desorganização do citoplasma, perda da integridade da membrana plasmática e ruptura da membrana. Essa ruptura resulta na liberação de plasma dos componentes da célula para o meio extracelular, processo que pode gerar uma resposta inflamatória significativa. Dessa forma, a necrose é um modo mais inflamatório de morte celular do que a apoptose (CHAVEZ-VALDEZ; MARTIN; NORTHINGTON, 2012). A **Tabela 4** apresenta os estudos não clínicos referentes a utilização

do OME como agente antinecrótico, detalhando seu uso *in vivo* (7) em doses que variam entre 10 µM-60 mg/kg.

A decisão da entrada em ciclo de morte celular por necrose ou apoptose é ditada pelo menos em parte, pela quantidade das reservas de energia intracelular. Portanto, ao passo que a apoptose requer uma quantidade mínima de adenosina trifosfato (ATP) intracelular, a necrose é geralmente acompanhada por seu esgotamento total (NICOTERA; LEIST; FERRANDO-MAY, 1998). Deste modo, a necrose pode ser vista como um tipo de morte celular acidental. A necrose carece de um marcador bioquímico específico, além da presença de permeabilização da membrana plasmática, que pode ser detectada por microscopia eletrônica (VAKKILA; LOTZE, 2004).

O OME preveniu, de forma dependente da dose, a lesão necrótica induzida em ratos (BLANDIZZ et al., 1995), sugerido pelo aumento da barreira da mucosa gástrica (BLANDIZZ et al., 1994; BLANDIZZ et al., 2000) e pela redução da área necrótica induzida pelo levantamento da pele na região abdominal em ratos (ŞEN et al., 2017). O OME em modelos de lesão gástrica reduziu as lesões ulcerativas (EL-ASHMAWY et al., 2016), incidência de hemorragias gástricas (KINGSEY et al., 2011), preveniu lesões visíveis com ausência de edema, erosões e necrose em células endoteliais gástricas (MORINI et al., 1995a,b) e a permeabilidade vascular (MAITY et al., 2012).

Tabela 4: Atividade antinecrótica do OME em estudos não clínicos

Tipo de estudo	Modelo de estudo	Concentração/ Dose (Via de administração) do OME	Mecanismo de ação	Referência
<i>In vivo</i> - Ratos (n=7-12)	Lesão gástrica induzida por 1 mL salina hipertônica 25%	10; 30; 100 µMl (I.G)	Em tecidos pré-tratados com o OME não houve necrose.	MORINI et al., 1995
<i>In vivo</i> - Ratos (n=12)	Lesão gástrica induzida por indometacina (20 mg/kg,)	10-100 µM/kg (V.O)	Ausência de necrose em células endoteliais gástricas.	MORINI et al., 1995
<i>In vivo</i> - Ratos (n=6-10)	Lesão gástrica induzida por etanol-HCl e ligação do piloro	120 µm/KG kg 30 µM/Kg (I.D)	O OME preveni de forma dependente da dose a lesão necrótica, devido ao aumento da barreira da mucosa gástrica	BLANDIZZ et al., 2000
<i>In vivo</i> - Ratos (n=4)	Lesão gástrica induzida por etanol-HCl e ligação do piloro	10; 30; 60mg/kg (V.O)	OME causou uma redução significativa do dano necrótico da mucosa. Sugere que essa ação se dá pelo aumento da barreira do muco gástrico	BLANDIZZ et al., 1995
<i>In vivo</i> - Ratos (n=4)	Lesões gástricas induzidas pelo etanol	20 mg/kg (V.O)	Redução de área necrótica na mucosa gástrica	AL-SAYED; EL-NAGA, 2015
<i>In vivo</i> - Ratos (n=4)	Lesão da mucosa gástrica induzida por choque hemorrágico	15; 30; 60 mg/kg (I.P)	Proteção da mucosa gástrica do dano necrótico sugere-se que o aumento da secreção de muco gástrico contribui para essa ação protetora	BLANDIZZ et al., 1994
<i>In vivo</i> - Ratos (n=10)	Indução de cirrose por Tioacetamida 0,03% em ratos com hipertensão portal cirrótica	15mg/kg (V.O)	Redução de tecido necrótico	GAO et al., 2014
<i>In vivo</i> - Ratos (7)	Lesão induzida por aletas (levantamento da pele na região abdominal)	10- 40 mg/kg (I.P)	Redução de tecido necrótico	ŞEN et al., 2017

V.O = Via oral, I.P = Via intraperitoneal, V.D = Via dérmica

O OME aumenta o fluxo sanguíneo na mucosa gástrica de ratos e expressão de glicoproteína gástrica (GAO et al., 2014), utilizada como indicador preciso e sensível que reflete a condição da mucosa gástrica e também desempenhar um papel importante com antiácido, resistindo a pepsina e evitando a ulceração ajudando a proteger a integridade da mucosa (FANG et al., 2013; GAO et al., 2014) e redução da infiltração de neutrófilos no tecido (GAO et al., 2014).

3.5 Atividade antiapoptótica do Omeprazol

A **Tabela 5** apresenta os estudos não clínicos referentes a utilização do OME como agente antiapoptótico, detalhando seu uso *in vivo* (15) com doses entre 400 μ M – 120 mg/kg e *in vitro* (1) com células cancerígenas (células de neuroblastoma (SH-SY5Y), micróglia humana (THP) em uma concentração de 10 μ M/mL. A apoptose também ocorre como um mecanismo de defesa, em reações imunes ou quando as células são danificadas por agentes causadores de doenças (NORBURY; HICKSON, 2001). Embora sejam conhecidas uma grande variedade de estímulos e condições, tanto fisiológicas quanto patológicas que podem desencadear apoptose, nem todas as células necessariamente morrem em resposta ao mesmo estímulo como lesão, no entanto a morte apoptótica é conduzida através da proteína *p53* (ELMORE, 2007).

A morte celular programada é um padrão encontrado na lesão das células epiteliais intestinais induzidas por isquemia seguida de reperfusão (IKEDA et al., 1998). A elevação de gastrina no soro de ratos induzida pelo OME melhorou a lesão intestinal após isquemia seguida de reperfusão, com redução do marcador apoptótico caspase 3 e aumento da expressão do receptor B de colecistoquinina 2 (CCK-2) sugerindo que o efeito antiapoptótico do OME pode estar associado à atividade deste (LIU et al., 2016). Tendo em vista que a via deste receptor poderia aumentar a proliferação celular no epitélio intestinal (JIN et al., 2009), efeito também observado no estudo de Zheng e colaboradores (2016) com o aumento da expressão do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA), o receptor CCK-2 é considerado um mediador crítico para a proteção intestinal na isquemia seguida de reperfusão intestinal em ratos com hipergastrinemia induzida pelo OME.

Tabela 5: Atividade antiapoptótica do OME em estudos não clínicos

Tipo de estudo	Modelo de estudo	Concentração/ Dose (Via de administração) do OME	Mecanismo de ação	Referência
<i>In vivo</i> - Ratos (n=6)	Indução de lesão gástrica por ligação do piloro (ulcera péptica)	40mg/kg (V.O)	Bloqueio da fragmentação do DNA, sugerindo o seu papel antiapoptótico na prevenção da morte celular durante a ulceração	MUTHURAMAN; SOOD,2010
<i>In vivo</i> - Ratos (n=6)	Indução de lesão gástrica por etanol absoluto 5mL/kg	20mg/kg (V.O)	Redução de caspase 3	EL-NAGA, 2015
<i>In vivo</i> - Ratos (n=15)	Indução de lesão intestinal induzida por isquemia por 60 minutos seguida de reperfusão de 60 minutos através da artéria mesentérica superior	120 mg/kg (V.O)	Redução da apoptose das células intestinais	LIU et al., 2016
<i>In vitro</i> - Cultura de células de Neuroblastoma (SH-SY5Y) [micróglia humana] THP	Indução de estresse por lipopolisacarídeos combinados com interferon- γ	10 μ M	Redução da neurotoxicidade microglial e monocítica humana	HASHIOKA; KLEGERIS; MCGEER, 2009
<i>In vivo</i> - Camundongos (n=6)	Indução de lesão gástrica por etanol 100% (0,1mL/kg) e restrição a frio intragástrico	400mg/kg (I.P)	Redução de apoptose	ZHANG et al., 2016
<i>In vivo</i> - Ratos (n= 8-30)	Indução de lesão gástrica por ulceração gástrica induzida pelo estresse do frio de retenção; ulceração gástrica induzida por indometacina (48 mg/kg, p.o) e secreção de ácido gástrico induzida por ligadura de piloro	2 e 5 mg/kg (V.O)	Redução da fragmentação do DNA	BISWAS et al., 2003
<i>In vivo</i> - Ratos (7-8)	Indução de isquemia / reperfusão da mucosa gástrica (I/R)	20 mg/kg (V.O)	Redução de Bcl-2 e caspase 3	MAHMOUD-AWNY et al., 2015

In vivo - Ratos (N=8)	Isquemia seguida de reperfusão,	40mg/mg (V.O)	Redução de cálcio total e fragmentação do material genético e restauração dos níveis de ATP mitocondrial	MUTHURAMAN, RAMESH, CHAUHAN, 2011
In vivo - Ratos (N=7-9)	-----	400 µM/kg 10 semanas (V.O)	Aumento da expressão de Ntrk2 e redução de Egr1	NØRSETT et al., 2005
In vivo - Ratos (N=6-8)	Lesões gástricas induzidas pelo etanol	20 mg / kg (V.O)	Diminuição citocromo C, caspase 3 e fragmentação do DNA	EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015
In vivo - Ratos (N=6)	Lesões gástricas induzidas pelo etanol	20 mg/kg (V.O)	Redução de caspase 3	AL-SAYED; EL-NAGA, 2015
In vivo - Ratos (N=6)	Lesões gástricas induzidas pelo etanol	20 mg/dl (V.O)	Diminuição da Proteína BAX	AL BATRAN et al., 2013
In vivo - Ratos (N=8)	Indução de gastrite através da aplicação de Iipopotysacarídeo de <i>H. pylori</i>	40 mg / kg (V.O)	Diminuição de caspase 3	SLOMIANY; PIOTROWSKI; SLOMIANY, 1999
In vivo - Esquilo-da-mongólia (N=6-8)	Indução de gastrite por <i>H. pylori</i>	10 mg/kg (V.O)	Aumentou a quantidade de Bcl-2	BRZOWSKI et al., 2006
In vivo - Ratos (N=6-35)	Indução de gastrite através de etanol	1; 5 e 36 mg/kg (V.O)	Redução da fragmentação do DNA	CHATTOPADHYAY et al., 2004
In vivo - Ratos (N=10)	Indução de ulcera por ácido acético	400µmol/kg (I.P)	Redução da lesão gástrica, aumento do índice mitótico e redução do índice apoptótico	LI; HELANDER,1996

Legenda: Bcl-2 = Célula-B de linfoma 2, BAX = BCL-2 associada a proteína X, Ntrk2 = Receptor neurotrófico de tirosina quinase 2, Egr1 = Proteína de resposta de crescimento precoce 1, ATP = Adenosina trifosfato, V.O = Via oral, I.P = Via intraperitoneal

O tratamento com OME reduziu lesão gástrica, em estudos não clínicos, gerou uma redução da apoptose mediada pela diminuição de caspase 3 *in vivo* (MAHMOUD-AWNY et al., 2015; EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015; LIU et al., 2016); e em modelo de gastrite por *H. pylori* devido ao aumento do marcador Bcl-2 (MAHMOUD-AWNY et al., 2015; BRZOZOWSKI et al., 2006), proteína antiapoptótica (ROUNDVAUX et al., 2014), e redução de BCL-2 associada a proteína X (BAX) (AL BATRAN et al., 2013), proteína apoptótica (ROUNDVAUX et al., 2014). Estes achados são consideráveis, tendo em vista que a indução de apoptose é um importante mecanismo da lesão gástrica aguda (LOU et al., 2013) (**Tabela 5**). A abertura dos poros de transição de permeabilidade mitocondrial é observada em processos de apoptose e necrose (KIM et al., 2003). Alterações que resultam na modulação da função mitocondrial como sobrecarga de cálcio e inibição da função da cadeia respiratória levam a depleção de ATP, fragmentação de DNA e lesão irreversível do tecido (ZHOU et al., 2010).

Foi sugerido que o processo apoptótico causado por lesão gástrica em ratos tratados com o OME foi reduzido pela: redução do cálcio mitocondrial (MUTHURAMAN; RAMESH; CHAUHAN, 2011), pois os radicais livres intracelulares e a acumulação de cálcio são mediadores conhecidos da abertura dos poros de transição de permeabilidade mitocondrial na apoptose (JIANG et al., 2007); aumento do ATP mitocondrial que está ligado a manutenção da respiração celular (MUTHURAMAN; RAMESH; CHAUHAN, 2011); redução do citocromo C mitocondrial (EL-MARAGHY; RIZK; SHAHIN, 2015) pela via de ativação das caspases definindo uma via apoptótica em mamíferos (JIANG; WANG, 2004); bloqueio da fragmentação de DNA observada em tecido gástrico de ratos (BISWAS et al., 2003; MUTHURAMAN; SOOD, 2010; MUTHURAMAN; RAMESH; CHAUHAN, 2011), visto que este processo leva a ativação de moléculas pró-apoptóticas (FERREIRA et al., 2010) (**Tabela 5**).

Em vários estudos que OME reduziu a frequência de apoptose também foi demonstrada redução da lesão no tecido gástrico e intestinal. Efeitos constatados com a elevação de marcadores antioxidantes e redução de inflamatórios, assim como devido ao aumento da expressão de Ntrk2 e da redução da proteína de resposta de crescimento precoce (Egr1) (NØRSETT et al., 2005). O gene com regulação positiva de Ntrk2 é localizado em uma subpopulação de células endócrinas gastrointestinais humanas e foi relacionado como indutor da proliferação e/ou inibidor apoptótico (ESTEBAN et al., 1995).

O Egr1 também é regulado de forma negativa em ratos tratados com OME, no qual a regulação desse gene está ligada ao aumento positivo da p53, proteína supressora de tumor, que tem papéis essenciais na parada do ciclo celular, reparo do DNA, angiogênese, autofagia, migração, envelhecimento, senescência e na própria apoptose (NØRSETT et al., 2005; REED; QUELLE, 2014). O OME em culturas celulares de mieloma múltiplo (RPMI8226, U266) mostrou ação citotóxica limitada em concentração de 200 µM, demonstrando que para atingir uma atividade antiproliferativa induzindo morte celular são necessárias altas concentrações deste fármaco (CANITANO et al., 2016). No entanto, houve redução da citotoxicidade em cultura de células da microglia e THP-1 monocítica humana (HASHIOKA; KLEGERIS; MCGEER, 2009) (**Tabela 5**).

3.6 Atividades do OME associadas a prevenção de morte celular

Durante a lesão gástrica e intestinal foi observado um aumento da produção de ERO's e queda da atividade das defesas antioxidantes (SOD, CAT, GSH e GPX) na célula permitindo que vários componentes celulares fiquem expostos a danos oxidativos, como a membrana plasmática observado pela elevação de MDA, fragmentação de DNA e dano em proteínas celulares com a redução da expressão de HSP70 que é responsável pelo reparo de proteínas danificadas nas células. A resposta inflamatória ocasionada pelas lesões induzidas nos estudos foi relatada pelo aumento de TNF- α , responsável por ativar a cascata inflamatória elevando os níveis de COX-2, e pela regulação positiva de NF-kB, indutor da expressão celular de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α) e supressor da citocina anti-inflamatória IL-10 (**Figura 2**).

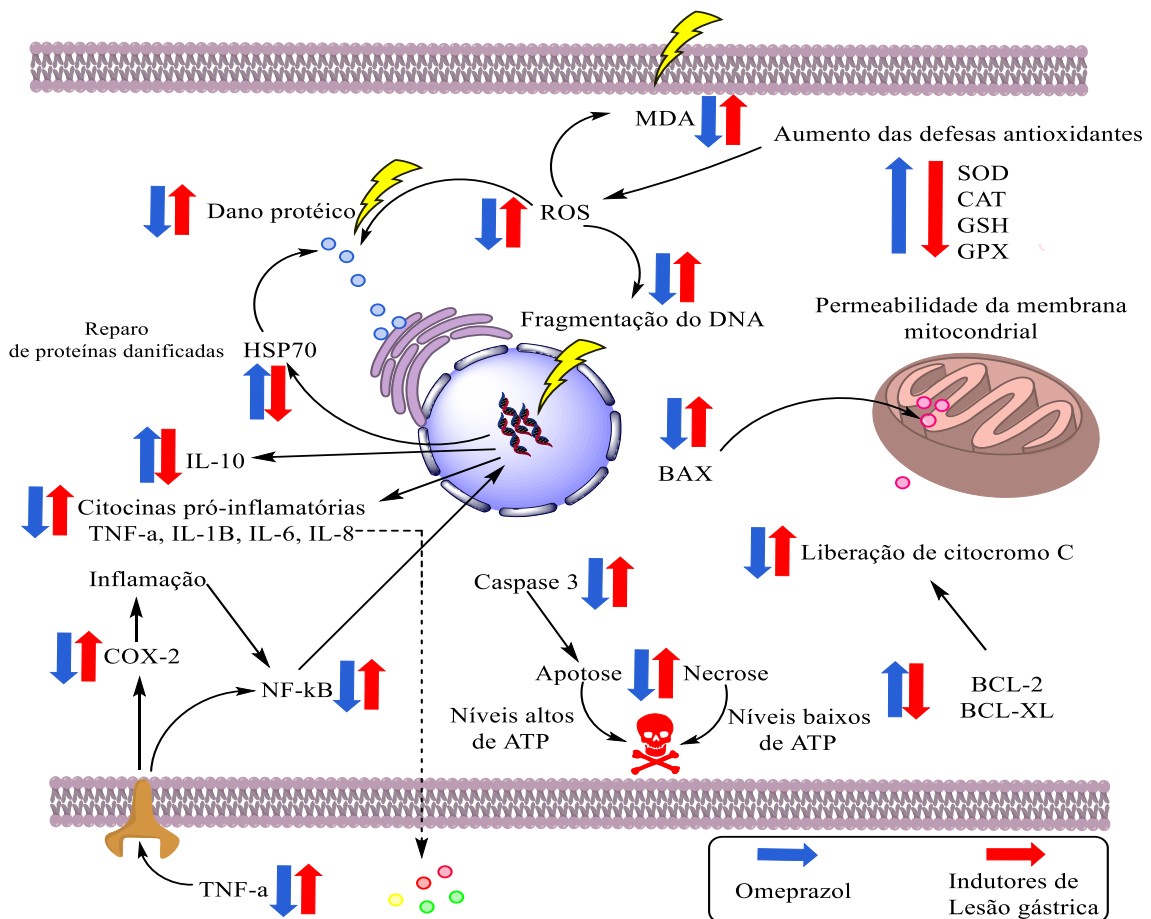
A influência de um agente estressor tecidual causa instabilidade nas funções celulares induzindo principalmente danos oxidativos que se não reparados levam a célula a entrar em uma das vias de morte celular. Esta é sinalizada pela redução de proteínas antiapoptóticas, como a BCL2 e BCL-XL, responsáveis pelo controle da liberação de citocromo C, e pelo aumento de proteínas apoptóticas, como BAX e caspase 3, indutoras de apoptose. No entanto, este processo só é viável na presença de ATP, sendo este, um fator determinante para a seleção da via, visto que baixos níveis de ATP dificultam a organização da via apoptótica levando a célula a uma morte celular mais desorganizada e simples como a necrose (**Figura 2**).

O OME foi capaz de elevar a atividade das defesas antioxidantes (SOD, CAT, GSH e GPX) próximo aos níveis de normalidade, reduzindo os danos oxidativos observados pela

diminuição de ERO's, MDA, fragmentação de DNA e proteínas, e pela elevação de HSP70. Quanto à capacidade anti-inflamatória do OME, este foi capaz de reduzir a inflamação tecidual com o decréscimo das citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α), mediadores da inflamação COX-2 e NF- κ B e aumento da citocina anti-inflamatória (IL-10). A redução de proteínas pró-apoptóticas (BAX e caspase 3) e elevação de antiapoptóticas (BCL-2, BCL-XL) durante o tratamento do OME em tecidos lesionados demonstrou sua capacidade antiapoptótica (**Figura 2**).

O efeito citoprotetor do OME foi observado em estudos clínicos e não clínicos. Em resumo, foi sugerido que o OME através das vias que foram anteriormente detalhadas tem capacidade antioxidante (**Tabela 1**), anti-inflamatória (**Tabela 2**), antinecrótica (**Tabela 4**) e antiapoptótica (**Tabela 5**), evidenciado por sua atividade gastroprotetora (**Tabela 3**) (**Figura 2**).

Figura 2: Mecanismos de prevenção da morte celular



3.7 Atividade pró-apoptótica do OME

A **Tabela 6** apresenta os estudos não clínicos referentes a utilização do OME como agente pró-apoptótico, detalhando seu uso nos modelos xenográfico (3 artigos) com células cancerígenas (células químio resistentes ao paclitaxel Heya8-MDR, SKOV3-TR, ES-2, RMG-1 e com células de carcinoma de cólon (320 WT e 320MUT) em doses que variaram de 20 mg/kg a 50 mg/kg. Em linhagens de células neoplásicas (5 artigos) (células de mieloma RPMI8226 e U266, de câncer gástrico humano (HGC-27), de glioblastoma (U-87), de câncer do cólon humano (HCT-116 e células HCA-7), e de linfócitos T Jurkat) em concentrações entre 10 μ M – 10⁻⁴ μ M, e em células normais (2 artigos) (células estaminais mesenquimais humanas precursores de osteoblastos humanos isolado do sangue periférico, e neutrófilos polimorfonucleados) com concentrações variando entre 10⁻¹⁰ a 5x10⁴ M.

A apoptose ocorre normalmente durante o desenvolvimento e envelhecimento celular como um mecanismo homeostático para manter populações de células nos tecidos. O equilíbrio entre a proliferação e a apoptose celular garante o controle da homeostase, no entanto, uma falha nesses processos pode desencadear processos patológicos como doenças autoimunes, neurodegenerativas e o câncer (MUKHTAR et al., 2012). A apoptose possui diversos critérios morfológicos principais como o encolhimento celular, condensação e marginalização da cromatina nuclear, fragmentação do DNA, vacuolização citoplasmática, lise celular (KANDUC et al., 2002).

O OME aumentou a taxa de apoptose no tratamento de células em conjunto com o paclitaxel em células quimiorresistentes (HeyA8-MDR, SKOV3-TR) e em linhagens de carcinoma de células claras (ES-2, RMG-1) (LEE et al., 2015) (**Tabela 6**). Em células de câncer gástrico humano (HGC-27) inibiu seletivamente a proliferação celular reconhecida pelo encolhimento e perda da monocamada confluyente, demonstrando uma atividade apoptótica (ZHAZG et al., 2013). Observou-se o mesmo efeito em células de carcinoma de colón em modelo xenográfico, e em células de colón, com o aumento da secreção de gastrina, elevando a expressão do gene de resposta imediata X-1 (IEX-1), gene sensível ao estresse (KONDRATYEV et al., 1996; MÜERKÖSTER et al., 2005; MÜERKÖSTER et al., 2008). A atividade apoptótica do OME foi sugerida também pela redução de Bcl-2 (BRZOZOWSKI et al., 2006; MAHMOUD-AWNY et al., 2015), BCL-XL e survivina (PATLOLLA et al., 2012), outra proteína antiapoptótica (PAVLYUKOV et al., 2011) e p21 que desempenha um papel essencial na parada do ciclo celular, após danos no DNA (DENG et al., 1995).

Tabela 6: Atividade apoptótica do OME em estudos não clínicos

Tipo de estudo	Modelo de estudo	Concentração/ Dose (Via de administração) do OME	Mecanismo de ação	Referência
<i>In vivo</i> – Camundongos (N=5)	Hipergastrinemia induzida por OME em camundongos (N=5) inoculado com células de carcinoma de colón 320WT e colón 320MUT	OME 75mg/kg em 200mL NaCl a 0,9% durante 20 dias (dose diária) (I.P)	Aumento de células apoptóticas, da secreção de G17 que aumenta a expressão de IEX-1 em células de carcinoma de colón ao expressar o receptor CCK-2	MUERKOSTER et al., 2008
<i>In vivo</i> –Camundongo (n=5)	Indução de tumor Colo320wt em Camundongo (n=5)	75mg/kg (V.O)	Redução significativa do tamanho dos tumores Colo320wt em 40% com aumento de células apoptóticas por expressão o receptor de CCK-2 do tipo selvagem conduzindo deste modo uma diminuição do crescimento tumoral	MÜERKÖSTER et al., 2005
<i>In vivo</i> – Ratos (N=8)	Lesão de constrição crônica induzida e indução de estresse oxidativo por LPS em cultura celular U-87.	10, 30, 50 mg/ kg 14 dias (V.O) 10 - 200 µM	Redução da viabilidade de células de glioblastoma	CHANCHAL et al., 2016
<i>In vitro</i> – Células precursoras de osteoblastos e osteoclastos	Cultura celular. Células precursoras de osteoclastos humanos Isolado do sangue periférico, e em células estaminais mesenquimais humanas (Precursoras de osteoblastos)	10 ⁻¹⁰ M a 10 ⁻³ M	Aumento da taxa apoptótica e diminuiu a atividade enzimática TRAP	COSTA-RODRIGUES et al., 2013
<i>In vitro</i> - RPMI8226 e U266	Cultura celular de mieloma RPMI8226, U266.	200µM	Aumento da taxa apoptótica	CANITANO et al., 2016
<i>In vitro</i>- HGC-27	Cultura de células HGC-27 (câncer gástrico humano)	10µg/mL	Indução de apoptose inibindo seletivamente a proliferação celular de câncer	ZHAZG et al., 2013
<i>In vitro</i>- linfócitos T jurkart	Cultura celular linfócitos T jurkart (1x 10 ⁶ /ml)	10 ⁻⁴ M a 10 ⁻³ M	Redução da viabilidade celular, aumento da caspase 3, pró-caspase 3 e PARP-1 e desestabilização lisossomal precoce	SCARINGI et al., 2004

<i>In vitro</i>- Neutrófilos polimorfonucleados	Cultura celular de neutrófilos polimorfonucleados (1x10 ⁶ /ml)	5x10 ⁴ M, 1x10 ⁻⁴ M, 5x10 ⁻⁵ M, 2,5x10 ⁻⁵ M	Efeito apoptótico na cultura celular depende das proteases cisteína catepsina, da caspase 3	CAPODICASA et al., 2008
<i>In vitro</i>- HCT-116 e HCA-7	Linhas celulares de câncer do cólon humano HCT-116 e células HCA-7	50-400 µM	Indução da p21; Diminuiu a expressão de proteínas antiapoptótica Bcl-2, Bcl-XL e Survivina	PATLOLLA et al.,2012
<i>In vitro</i>- Heya8-MDR, SKOV3-TR, ES-2, RMG-1 <i>In vivo</i>- Camundongos (N=10)	Linhagem de células quimio resistentes Heya8-MDR, SKOV3-TR, ES-2, RMG-1 inoculadas em camundongos	OME e 20mg/mL + paclitaxel (cultura celular) OME 50mg/kg+ paclitaxel 120µg por animal <i>In vivo</i> (I.P)	Aumento da citotoxicidade e ou apoptose de carcinoma de células quimio resistentes (Heya8-MDR, SKOV3-TR) e células de carcinomas claras (ES-2, RMG-1.) Inibição da Vy-Atepase e redução do microambiente ácido do tumor, diminuição do tumor em ratos	LEE et al., 2015

Legenda: BCL-2 = Célula-B de linfoma 2, BCL-XL = Linfoma de células B - extra grande, p21= Proteína 21, PARP-1 = Enzima poli (ADP-ribose) polimerase, TRAP = Fosfatase ácida resistente ao tartarato, CCK-2 = Receptor B de colecistoquinina, IEX-1 = Gene de resposta imediata X-1, V.O = Via oral, I.P = Via intraperitoneal

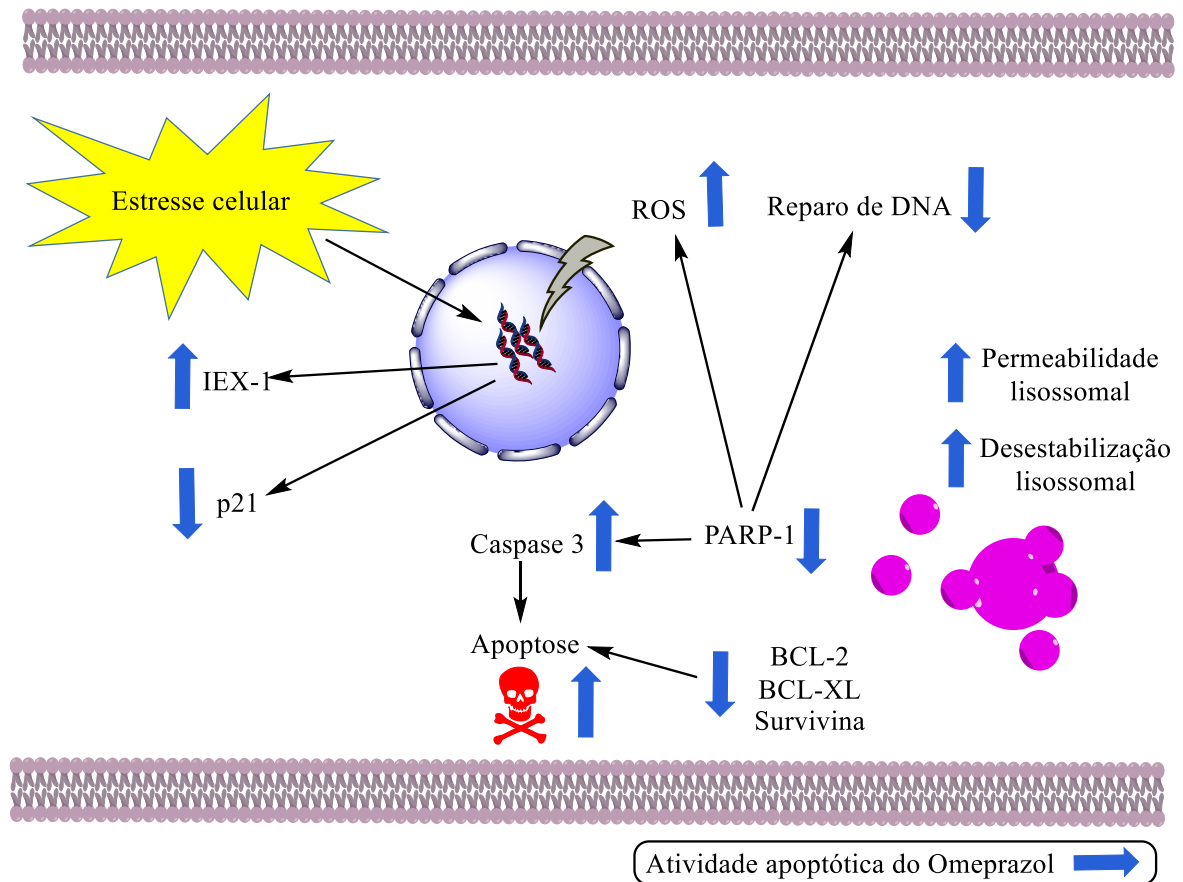
Em células normais, o aumento da caspase 3 foi observado em cultura de neutrófilos polimorfonucleares humanos (CAPODICASA et al., 2008) atividade também observada em linhagem de linfócitos T (Jurkat T) com a clivagem da enzima poli (ADP-ribose) polimerase (PARP-1) (SCARINGI et al., 2004) enzima nuclear envolvida no reparo e estabilidade do DNA e sua inibição ocorre devido a danos genotóxicos que levam a diminuição das taxas de reparo do DNA e aumento de ERO's (NIKOLETOPOULOU et al., 2013). Também foi observado a desestabilização dos lisossomos celulares (SCARINGI et al., 2004), onde essa organela está envolvida na degradação ácida implicada na regulação da morte celular (**Tabela 6**). Uma característica comum para os lisossomos e mitocôndrias é o aumento da permeabilidade da membrana, resultando na libertação do seu conteúdo na fase inicial da apoptose (MATHIASSEN; JÄÄTTELÄ, 2002).

Em células precursoras de osteoclastos e osteoblastos, há uma diminuição da atividade enzimática da fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP), demonstrando um efeito apoptótico nestas células (COSTA-RODRIGUES et al., 2013). Tendo em vista que a TRAP foi amplamente considerada como um marcador de células ósseas (LODATO et al., 2010) (**Tabela 6**).

3.8 Atividades do OME que induzem a morte celular

O processo de morte celular é observado em situações de danos celulares extensivos ou irreversíveis principalmente em situações de elevação do estresse oxidativo que lesam lipídeos, proteínas e o material genético celular levando a instabilidade gênica induzindo a célula a entrar em processo de morte celular ou perpetuar as alterações no seu DNA levando a um processo carcinogênico. O OME foi capaz de aumentar a desestabilização e permeabilidade lisossomal implicando no processo de digestão celular, proteína apoptótica caspase 3, reduzir proteínas antiapoptóticas (BCL-2, BCL-XL, Survivina), aumento da expressão de PARP-1 reduzindo o reparo de DNA e elevando a ERO's gerando lesão no material genético ativando a expressão de IEX-1 durante o estresse celular e reduziu a p21 inibindo a parada do ciclo celular. Esses fatores demonstram o papel do OME na indução da morte celular, mas também a sua capacidade de reduzir o reparo do DNA. Muito embora, a atividade apoptótica foi observada em células neoplásicas que em conjunto com a parada do ciclo celular, vista em modelo xenográfico, demonstra a capacidade do OME como agente antitumoral. Contudo o OME reduziu a viabilidade de células normais em culturas primárias de medula óssea e em neutrófilos polimorfonucleados (**Figura 3**).

Figura 3: Mecanismos de indução da morte celular



4 CONCLUSÃO

Em resumo, o OME foi capaz de elevar a atividade das defesas antioxidantes em modelos de lesão gástrica e intestinal em animais, próximo aos níveis de normalidade, reduzindo os danos oxidativos. A atividade anti-inflamatória do OME foi observada pela redução das citocinas pró-inflamatórias, mediadores da inflamação e elevação de citocinas anti-inflamatórias. Com a restauração das defesas antioxidantes e modulação do processo inflamatório, as células teciduais foram protegidas principalmente contra danos oxidativos, reduzindo os processos indutores da morte celular, efeito comprovado pela redução de marcadores moleculares apoptóticos, como a caspase 3, BAX e citocromo C; assim como pela elevação de marcadores antiapoptóticos como BCL-2 e BCL-XL, e da sua atividade antinecrótica sobre a mucosa gástrica, evidenciando o efeito gastroprotetor do OME. Entretanto, a capacidade pró-apoptótica do OME também foi observados em modelos animais

Dissertação de Mestrado | Ag-Anne Pereira Melo de Menezes

xenográficos, com redução da massa tumoral e em cultura de células cancerígenas a redução da viabilidade celular. Além desse efeito ser também observado em cultura primária de células da medula e em neutrófilos polimorfonucleados, podendo desencadear a morte celular.

REFERÊNCIAS

ABDULLA, M.A.; ALI, H.M.; AHMED, K.A.; NOOR, S.M; ISMAIL, S. Evaluation of the anti-ulcer activities of *Morus alba* extracts in experimentally-induced gastric ulcer in rats. **Biomedical Research**, v. 20, n. 1, 2009.

AKTAN, F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. **Life Sciences**, v. 75, n. 6, p. 639-653, 2004.

AL BATRAN, R.; AL-BAYATY, F.; AL-OBAIDI, M. M. J.; ABDUALKADER, A. M.; HADI, H. A.; ALI, H. M.; ABDULLA, M. A. In vivo antioxidant and antiulcer activity of *Parkia speciosa* ethanolic leaf extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **PLoS One**, v. 8, n. 5, p. e64751, 2013.

ALBAAYIT, S. F. A.; ABBA, Y.; ABDULLAH, R.; ABDULLAH, N. Prophylactic effects of *Clausena excavata* Burum. f. leaf extract in ethanol-induced gastric ulcers. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 10, p. 1973, 2016.

ALMASAUDI, S. B.; EL-SHITANY, N. A.; ABBAS, A. T.; ABDEL-DAYEM, U. A.; ALI, S. S.; AL JAOUNI, S. K.; HARAKEH, S. Antioxidant, anti-inflammatory, and antiulcer potential of manuka honey against gastric ulcer in rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2015.

AL-SAYED, E.; EL-NAGA, R. N. Protective role of ellagitannins from *Eucalyptus citriodora* against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Impact on oxidative stress, inflammation and calcitonin-gene related peptide. **Phytomedicine**, v. 22, n. 1, p. 5-15, 2015.

ATALAY, M.; OKSALA, N.; LAPPALAINEN, J.; LAAKSONEN, D. E.; SEN, C. K.; ROY, S. Heat shock proteins in diabetes and wound healing. **Current Protein and Peptide Science**, v. 10, n. 1, p. 85-95, 2009.

BALLA, A.; TOTH, B.; TIMAR, G.; BAK, J.; KRAJCSI, P. Molecular targets for pharmacological cytoprotection. **Biochem Pharmacol** 61:769-777,2001.

BISWAS, k.; BANDYOPADHYAY, U.; CHATTOPADHYAY, I.; VARADARAJ, A.; ALI, E.; BANERJEE, R. K. A novel antioxidant and antiapoptotic role of omeprazole to block gastric ulcer through scavenging of hydroxyl radical. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, n. 13, p. 10993-11001, 2003.

BLANDIZZI, C.; GHERARDI, G.; MARVEGGIO, C.; NATALE, G.; CARIGNANI, D.; DEL TACCA, M. Mechanisms of protection by omeprazole against experimental gastric mucosal damage in rats. **Digestion**, v. 56, n. 3, p. 220-229, 1995.

BLANDIZZI, C.; GHERARDI, G.; NATALE, G.; MARVEGGIO, C.; DEL TACCA, M. Protective action of omeprazole against gastric mucosal injury induced by hemorrhagic shock in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 39, n. 10, p. 2109-2117, 1994.

BLANDIZZI, C.; NATALE, G.; GHERARDI, G.; LAZZERI, G.; MARVEGGIO, C.; COLUCCI, R.; CARIGNANI, D.; TACCA, M. Gastroprotective effects of pantoprazole against experimental mucosal damage. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 14, n. 2, p. 89-99, 2000.

BOUTET, R.; WILCOCK, M.; MACKENZIE, I. Survey on repeat prescribing for acid suppression drugs in primary care in Cornwall and the Isles of Scilly. **Alimentary pharmacology & Therapeutics**, v. 13, n. 6, p. 813-817, 1999.

BRUCKER, M.C.; FAUCHER, M.A. Pharmacologic management of common gastrointestinal health problems in women. **Journal of Nurse-Midwifery**, v. 42, n. 3, p. 145-162, 1997.

BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P.C.; KONTUREK, S.J.; PAJDO, R.; BIELANSKI, W.; BRZOZOWSKA. The role of melatonin and L-tryptophan in prevention of acute gastric lesions induced by stress, ethanol, ischemia, and aspirin. **Journal of Pineal Research**, v. 23, n. 2, p. 79-89, 1997.

BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; KONTUREK, S. J.; SLIWOWSKI, Z.; PAJDO, R.; DROZDOWICZ, D.; PTAK, A.; HAHN, E. G. Classic NSAID and selective cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 inhibitors in healing of chronic gastric ulcers. **Microscopy Research and Technique**, v. 53, n. 5, p. 343-353, 2001.

BRZOZOWSKI, T.; Konturek, P. C.; Mierzwa, M.; Drozdowicz, D.; Bielanski, W.; Kwiecien, S.; Hahn, E. G. Effect of Probiotics and Triple Eradication Therapy on the Cyclooxygenase (COX)-2 Expression, Apoptosis, and Functional Gastric Mucosal Impairment in Helicobacter pylori-Infected Mongolian Gerbils. **Helicobacter**, v. 11, n. 1, p. 10-20, 2006.

CANITANO, A.; IESSI, E.; SPUGNINI, E. P.; FEDERICI, C.; FAIS, S. Proton pump inhibitors induce a caspase-independent antitumor effect against human multiple myeloma. **Cancer Letters**, v. 376, n. 2, p. 278-283, 2016.

CAPODICASA, E.; CORNACCHIONEL, B.; NATALINP, A.; BARTOLI, S.; COACCIOLP, P.; MARCONI, P.; SCARING, L. Omeprazole induces apoptosis in normal human polymorphonuclear leucocytes. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 21, n. 1, p. 73-85, 2008.

CHANCHAL, S.K.; MAHAJAH, U. B.; SIDDHARTH, S.; REDDY, N.; GOYAL, S. N.; PATIL, P. H.; BOMMANAHALLI, B. P.; KUNDU, C. N.; PATIL, C. R.; OJHA, S. In vivo and in vitro protective effects of omeprazole against neuropathic pain. **Scientific Reports**, v. 6, p. 30007, 2016.

CHATTOPADHYAY, I.; NANDI, B.; CHATTERJEE, R.; BISWAS.K.; BANDYOPADHYAY, U.; BANERJEE,K. Mechanism of antiulcer effect of Neem (Azadirachta indica) leaf extract: effect on H⁺-K⁺-ATPase, oxidative damage and apoptosis. **Inflammopharmacology**, v. 12, n. 2, p. 153-176, 2004.

CHAVEZ-VALDEZ, R.; MARTIN, L. J.; NORTHINGTON, F. J. Programmed necrosis: a prominent mechanism of cell death following neonatal brain injury. **Neurology Research International**, v. 2012, 2012.

CHEN, S. H.; LIANG, Y. C.; CHAO, J. C.; TSAI, L. H.; CHANG, C. C.; WANG, C. C.; PAN, S. Protective effects of Ginkgo biloba extract on the ethanol-induced gastric ulcer in rats. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 11, n. 24, p. 3746, 2005.

CHEN, S.; ZHU, K.; WANG, R.; HAO, X. Preventive effect of polysaccharides from the large yellow croaker swim bladder on HCl/ethanol induced gastric injury in mice. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 8, n. 1, p. 316-322, 2014.

CHENG, Y. T.; WU, S. L.; HO, C. Y.; HUANG, S. M.; CHENG, C. L.; YEN, G. C. Beneficial effects of camellia oil (Camellia oleifera Abel.) on ketoprofen-induced gastrointestinal mucosal damage through upregulation of HO-1 and VEGF. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 3, p. 642-650, 2014.

CHOI, E.Y.; HWANG, H.J.; KIM, I.H.; NAM, T.J. Protective effects of a polysaccharide from Hizikia fusiformis against ethanol toxicity in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 1, p. 134-139, 2009

CHOO, B. K.; ROH, S. S. Berberine protects against esophageal mucosal damage in reflux esophagitis by suppressing proinflammatory cytokines. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 6, n. 3, p. 663-670, 2013.

CLAPP, C.; PORTT, L.; KHOURY, C.; SHEIBANI, S.; EID, R.; GREENWOOD, M.; VALI, H.; MANDATO, C. A.; GREENWOOD, M. T. Untangling the roles of anti-apoptosis in regulating programmed cell death using humanized yeast cells. **Frontiers in Oncology**, v. 2, 2012.

CORLEY, D.A.; KUBO, A.; ZHAO, W.; QUESENBERRY, C. Proton pump inhibitors and histamine-2 receptor antagonists are associated with hip fractures among at-risk patients. **Gastroenterology** 139: 93-101, 2010.

- COSTA-RODRIGUES, J.; REIS, S.; TEIXEIRA,S.; LOPES, S.; FERNANDES, M. H. Dose-dependent inhibitory effects of proton pump inhibitors on human osteoclastic and osteoblastic cell activity. **The FEBS journal**, v. 280, n. 20, p. 5052-5064, 2013.
- COYLE, C. H.; KADER, K. N. Mechanisms of H₂O₂-induced oxidative stress in endothelial cells exposed to physiologic shear stress. **ASAIO journal**, v. 53, n. 1, p. 17-22, 2007.
- DENECKER, G.; VERCAMMEN, D.; DECLERCQ, W.; VANDENABEELE P. Apoptotic and necrotic cell death induced by death domain receptors. **Cellular and Molecular Life Sciences** 58: 356-370, 2001.
- DENG, C.; ZHANG, P.; HARPER, J.W.; ELLEDGE, S.J.; LEDER, P. Mice lacking p21CIP1/WAF1 undergo normal development, but are defective in G1 checkpoint control. **Cell** , 82 : 675 –684, 1995.
- DINARELLO, C.A. Proinflammatory cytokines. **Chest Journal**, v. 118, n. 2, p. 503-508, 2000.
- DOWNES, N.; FOSTER, J. Regulatory Forum Opinion Piece: Carcinogen Risk Assessment: The Move from Screens to Science. **Toxicol Pathol**, v.43, n.8, p.1064-73, 2015.
- EL-ASHMAWY, N. E.; KHEDR, E. G.; EL-BAHRAMY, H. A.; & SELIM, H. M.; Nebivolol prevents indomethacin-induced gastric ulcer in rats. **Journal of Immunotoxicology**, v. 13, n. 4, p. 580-589, 2016.
- EL-MARAGHY, S. A.; RIZK, S. M.; SHAHIN, N. N. Gastroprotective effect of crocin in ethanol-induced gastric injury in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 229, p. 26-35, 2015.
- ELMORE, S. Apoptosis: a review of programmed cell death. **Toxicologic Pathology**, v. 35, n. 4, p. 495-516, 2007.
- EL-NAGA, R. N. Apocynin protects against ethanol-induced gastric ulcer in rats by attenuating the upregulation of NADPH oxidases 1 and 4. **Chemico-Biological Interactions**, v. 242, p. 317-326, 2015.
- ESTEBAN, I.; HANNESTAD, J.; LEVANTI, B.; DEL VALLE, M. E.; NAVES, F. J.; VEGA, J. A. Neurotrophin receptor proteins immunoreactivity in human gastrointestinal endocrine cells. **Brain Research Bulletin**, v. 38, n. 6, p. 539-543, 1995.
- FANG, H. M.; WANG, J. J.; ZHANG, L. J.; XU, J. M.; MEI, Q.; LU, C. X. Omeprazole and rabeprazole azole effect on rat intestinal P-glycoprotein. **Chinese Journal of Hospital Pharmacy**, v. 33, n. 1, p. 7-11, 2013.
- FERREIRA, C. D. S.; MAGANHIN, C. C.; SIMÕES, R. D. S.; GIRÃO, M. J. B. C.; BARACAT, E. C.; SOARES-JR, J. M. Cell death modulator. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 6, p. 715-718, 2010.

FINK, S. L.; COOKSON, B. T. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 4, p. 1907-1916, 2005.

GAO, W.; LI, H. Y.; WANG, L. X.; HAO, L. J.; GAO, J. L.; ZHENG, R. J.; CAI, C-J.; Si, Y. L. Protective effect of omeprazole on gastric mucosal of cirrhotic portal hypertension rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 7, n. 5, p. 402-406, 2014.

GOSWAMI, S. K; WAN, D; YANG, J; DA SILVA, C. A. T; MORISSEAU, C; KODANI, S. D; YANG, G. Y; INCEOGLU, B; HAMMOCK, B. D. Anti-ulcer efficacy of soluble epoxide hydrolase inhibitor TPPU on diclofenac-induced intestinal ulcers. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 357, n. 3, p. 529-536, 2016.

GRAHAM, J.R. Gastric polyposis: onset during long-term therapy with omeprazole. **The Medical Journal of Australia**, v. 157, n. 4, p. 287-288, 1992

GUPTA, D. K.; INOUE, M.; RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; SANDALIO, L. M. Oxidative stress and arsenic toxicity: role of NADPH oxidases. **Chemosphere**, v. 90, n. 6, p. 1987-1996, 2013.

HAASTRUP, P.F.; PAULSEN, M.S.; CHRISTENSEN, R.D.; SONDERGAARD, J.; HANSEN, J.M.; JARBOL, D.E. Medical and non-medical predictors of initiating long-term use of proton pump inhibitors: a nationwide cohort study of first-time users during a 10-year period. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 44, n. 1, p. 78-87, 2016.

HAMDAN, D. I.; MAHMOUD, M. F.; WINK, M.; EL-SHAZLY, A. M. Effect of hesperidin and neohesperidin from bitter-sweet orange (*Citrus aurantium* var. *bigaradia*) peel on indomethacin-induced peptic ulcers in rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 37, n. 3, p. 907-915, 2014.

HASHIOKA, S.; KLEGERIS, A.; MCGEER, P.L. Proton pump inhibitors exert anti-inflammatory effects and decrease human microglial and monocytic THP-1 cell neurotoxicity. **Experimental Neurology**, v. 217, n. 1, p. 177-183, 2009.

HAWKEY, C. J.; RAMPTON, D. S. Prostaglandins and the gastrointestinal mucosa: are they important in its function, disease, or treatment?. **Gastroenterology**, v. 89, n. 5, p. 1162-1188, 1985.

HOLGUÍN, H.; CEBALLOS, M.; AMARILES, P. Relevancia clínica de la interacción clopidogrel y omeprazol: revisión sistemática. **Revista Colombiana de Cardiología**, v. 19, n. 1, p. 25-32, 2012.

HONGO, M.; FUJIMOTO, K.; GASTRIC POLYPS STUDY GROUP. Incidence and risk factor of fundic gland polyp and hyperplastic polyp in long-term proton pump inhibitor therapy: a prospective study in Japan. **Journal of Gastroenterology**, v. 45, n. 6, p. 618-624, 2010.

IKEDA, H.; SUZUKI, Y.; SUZUKI, M.; KOIKE, M.; TAMURA, J.; TONG, J.; NOMURA, M.; ITOH, G. Apoptosis is a major mode of cell death caused by ischaemia and ischaemia/reperfusion injury to the rat intestinal epithelium. **Gut** 1998;42:530–7.

JIANG, H.; HOU, C.; ZHANG, S.; XIE, H.; ZHOU, W.; JIN, Q.; CHENG, X.D.; QIAN, R. L.; ZHANG, X. Matrine upregulates the cell cycle protein E2F-1 and triggers apoptosis via the mitochondrial pathway in K562 cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 559, n. 2, p. 98-108, 2007.

JIANG, X.; WANG, X. Cytochrome C-mediated apoptosis. **Annual Review of Biochemistry**, v. 73, 2004.

JIN, G.; RAMANATHAN, V.; QUANTE, M.; BAIK, G. H.; YANG, X.; WANG, S. S.; TU, S.; GORDON, S. A.; PRITCHARD, D. M.; VARRO, A.; SHULKES, A.; WANG, T. C. Inactivating cholecystokinin-2 receptor inhibits progastrin-dependent colonic crypt fission, proliferation, and colorectal cancer in mice. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 119, n. 9, p. 2691, 2009.

KANDUC, D.; MITTELMAN, A.; SERPICO, R.; SINIGAGLIA, E.; SINHA, A. A.; NATALE, C.; SANTACROCE, R.; DI CORCIA, M. G.; LUCCHESI, A.; DINI, L.; PANI, P.; SANTACROCE, S.; SIMONE, S.; BUCCI, R.; FARBER E. Cell death: apoptosis versus necrosis. **International Journal of Oncology**, v. 21, n. 1, p. 165-170, 2002.

KAPPELMAN, M. D.; RIFAS-SHIMAN, S. L.; KLEINMAN, K.; OLLENDORF, D.; BOUSVAROS, A.; GRAND, R. J.; FINKELSTEIN, J. A. The prevalence and geographic distribution of Crohn's disease and ulcerative colitis in the United States. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v. 5, n. 12, p. 1424-1429, 2007.

KARIN, M.; YAMAMOTO, Y.; WANG, Q.M. The IKK NF-[kappa] B system: a treasure trove for drug development. **Nature Reviews Drug discovery**, v. 3, n. 1, p. 17, 2004.

KIM, J.S.; HE, L.; LEMASTERS, J.J. Mitochondrial permeability transition: a common pathway to necrosis and apoptosis. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 304, n. 3, p. 463-470, 2003.

KIM, Y. J.; LEE, J. S.; HONG, K. S.; CHUNG, J. W.; KIM, J. H.; HAHM, K. B. Novel application of proton pump inhibitor for the prevention of colitis-induced colorectal carcinogenesis beyond acid suppression. **Cancer Prevention Research**, v. 3, n. 8, p. 963-974, 2010.

KINSEY, S. G.; NOMURA, D. K.; O'NEAL, S. T.; LONG, J. Z.; MAHADEVAN, A.; CRAVATT, B. F.; GRIDER, J.R.; LICHTMAN, A. H. Inhibition of monoacylglycerol lipase attenuates nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric hemorrhages in mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 338, n. 3, p. 795-802, 2011.

KISHIMOTO, T. IL-6: from its discovery to clinical applications. **International Immunology**, v. 22, n. 5, p. 347-352, 2010.

KONDRATYEV, A. D.; CHUNG, K. N.; JUNG, M. O. Identification and characterization of a radiation-inducible glycosylated human early-response gene. **Cancer Research**, v. 56, n. 7, p. 1498-1502, 1996.

KOOSIRIRAT, C.; LINPISARN, S.; CHANGSOM, D.; CHAWANSUNTATI, K.; WIPASA, J. Investigation of the anti-inflammatory effect of Curcuma longa in Helicobacter pylori-infected patients. **International Immunopharmacology**, v. 10, n. 7, p. 815-818, 2010.

KUMAR, K.R.; IQBAL, R.; COSS, E.; PARK, C.; CRYER, B.; GENTA, R.M. Helicobacter gastritis induces changes in the oxyntic mucosa indistinguishable from the effects of proton pump inhibitors. **Human Pathology**, v. 44, n. 12, p. 2706-2710, 2013.

LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 41-60, 2008.

LAURA, R. P.; DONG, D.; REYNOLDS, W. F.; MAKI, R. A. T47D Cells Expressing Myeloperoxidase Are Able to Process, Traffic and Store the Mature Protein in Lysosomes: Studies in T47D Cells Reveal a Role for Cys319 in MPO Biosynthesis that Precedes Its Known Role in Inter-Molecular Disulfide Bond Formation. **PloS One**, v. 11, n. 2, p. e0149391, 2016.

LAWRENCE, T. The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 1, n. 6, p. a001651, 2009.

LEE, Y-Y.; JEON H. K.; HONG, J. E.; CHO, Y. J.; RYI, J. Y.; CHOI, J. J.; LEE, S.H.; YOON, G.; KIM, W, Y.; DO, I-G.; KIM, M.K.; KIM, T-J.;1, CHOI, C.H.; LEE, J-W.; BAE, D-S.; KIM, M. K. Proton pump inhibitors enhance the effects of cytotoxic agents in chemoresistant epithelial ovarian carcinoma. **Oncotarget**, v. 6, n. 33, p. 35040, 2015.

LEONARD, J.; MARSHALL, J.K.; MOAYYEDI, P. Systematic review of the risk of enteric infection in patients taking acid suppression. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 102, n. 9, p. 2047, 2007.

LEY, K. The role of selectins in inflammation and disease. **Trends in Molecular Medicine**, v. 9, n. 6, p. 263-268, 2003.

LI, G. J.; SUN, P.; WANG, R.; ZHOU, Y. L.; QIAN, Y.; ZHAO, X. Preventive effect of polysaccharide of Larimichthys crocea swim bladder on reserpine induced gastric ulcer in ICR mice. **The Korean Journal of Physiology & Pharmacology**, v. 18, n. 2, p. 183-190, 2014.

LI, H.; HELANDER, HERBERT F. Hypergastrinemia increases proliferation of gastroduodenal epithelium during gastric ulcer healing in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 41, n. 1, p. 40-48, 1996.

LI, N. S.; LUO, X. J.; ZHANG, Y. S.; HE, L.; LIU, Y. Z.; PENG, J. Phloroglucinol protects gastric mucosa against ethanol-induced injury through regulating myeloperoxidase and catalase activities. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, v. 25, n. 4, p. 462-468, 2011.

LINKERMANN, A.; STOCKWELL, B. R.; KRAUTWALD, S.; ANDERS, H. J. Regulated cell death and inflammation: an auto-amplification loop causes organ failure. *Nature reviews. Immunology*, v. 14, n. 11, p. 759, 2014.

LIU, Z.; LUO, Y.; CHENG, Y.; ZOU, D.; ZENG, A.; YANG, C.; XU, J.; ZHAN, H. Gastrin attenuates ischemia-reperfusion-induced intestinal injury in rats. *Experimental Biology and Medicine*, v. 241, n. 8, p. 873-881, 2016.

LODATO, F.; AZZAROLI, F.; TURCO, L.; MAZZELLA, N.; BUONFIGLIOLI, F.; ZOLI, M.; MAZZELLA, G. Adverse effects of proton pump inhibitors. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, v. 24, n. 2, p. 193-201, 2010.

LUO, X. J.; LIU, B.; DAI, Z.; LI, T. B.; LI, N. S.; ZHANG, X. J.; YANG, Z. C.; LI, Y. J.; PENG, J. Expression of apoptosis-associated microRNAs in ethanol-induced acute gastric mucosal injury via JNK pathway. *Alcohol*, v. 47, n. 6, p. 481-493, 2013.

MAHMOUD-AWNY, M.; ATTIA, A. S.; ABD-ELLAH, M. F.; EL-ABHAR, H. S. Mangiferin mitigates gastric ulcer in ischemia/reperfused rats: Involvement of PPAR- γ , NF- κ B and Nrf2/HO-1 signaling pathways. *PloS One*, v. 10, n. 7, p. e0132497, 2015.

MAITY, B.; YADAV, S. K.; PATRO, B. S.; TYAGI, M.; BANDYOPADHYAY, S. K.; CHATTOPADHYAY, S. Molecular mechanism of the anti-inflammatory activity of a natural diarylnonanoid, malabaricone C. *Free Radical Biology and Medicine*, v. 52, n. 9, p. 1680-1691, 2012.

MAO, S.; YANG, G.; LI, W.; ZHANG, J.; LIANG, H.; LI, J.; ZHANG, M. Gastroprotective effects of astragaloside IV against acute gastric lesion in rats. *PloS One*, v. 11, n. 2, p. e0148146, 2016.

MATHIASSEN, I.S.; JÄÄTTELÄ, M. Triggering caspase-independent cell death to combat cancer. *Trends Mol Med*. 2002 May; 8(5):212-20.

MEI, X.; XU, D.; XU, S.; ZHENG, Y.; XU, S. Novel role of Zn (II)-curcumin in enhancing cell proliferation and adjusting proinflammatory cytokine-mediated oxidative damage of ethanol-induced acute gastric ulcers. *Chemico-Biological Interactions*, v. 197, n. 1, p. 31-39, 2012.

MORINI, G.; GRANDI, D.; ARCARI, M. L.; BERTACCINI, G. Gastroprotective activity of the novel proton pump inhibitor lansoprazole in the rat. *General Pharmacology: The Vascular System*, v. 26, n. 5, p. 1021-1025, 1995.

MORINI, G.; GRANDI, D.; ARCARI, M. L.; BERTACCINI, G. Indomethacin-induced morphological changes in the rat gastric mucosa, with or without prior treatment with two proton pump inhibitors. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, v. 9, n. 6, p. 615-623, 1995.

MÜERKÖSTER, S. S.; RAUSCH A. V.; ISBERNER, A.; MINKENBERG, J.; BLASZCZUK, E.; WITT, M.; UR FOLSCH, U.R.; SCHMITZ, F.; SCHAFER, H.; ARLT, A. The apoptosis-inducing effect of gastrin on colorectal cancer cells relates to an increased IEX-1 expression mediating NF-[kappa] B inhibition. **Oncogene**, v. 27, n. 8, p. 1122, 2008.

MÜERKÖSTER, S. S.; RAUSCH, A. V.; ISBERNER, A.; MINKENBERG, J.; BLASZCZUK, E.; WITT, M.; FÖLSCH, U. R.; SCHMITZ, F.; SCHÄFER, H.; ARL, A. The apoptosis-inducing effect of gastrin on colorectal cancer cells relates to an increased IEX-1 expression mediating NF-[kappa] B inhibition. **Oncogene**, v. 27, n. 8, p. 1122, 2008.

MÜERKÖSTER, S.; ISBERNER, A.; ARLT, A.; WITT, M.; REIMANN, B.; BLASZCZUK, E.; WERBING, V.; FÖLSCH, R. F.; SCHMITZ, F.; SCHÄFER, H. Gastrin suppresses growth of CCK2 receptor expressing colon cancer cells by inducing apoptosis in vitro and in vivo. **Gastroenterology**, v. 129, n. 3, p. 952-968, 2005.

MUKHTAR, E.; ADHAMI, V. M.; KHAN, N.; MUKHTAR, H. Apoptosis and autophagy induction as mechanism of cancer prevention by naturally occurring dietary agents. **Current Drug Targets**, v. 13, n. 14, p. 1831-1841, 2012.

MUSUMBA, C.; PRITCHARD, D. M.; PIRMOHAMED, M. cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 30, n. 6, p. 517-531, 2009.

MUTHURAMAN, A.; RAMESH, M.; CHAUHAN, A. Mitochondrial dependent apoptosis: ameliorative effect of flunarizine on ischemia–reperfusion of celiac artery-induced gastric lesions in the rat. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 56, n. 8, p. 2244-2251, 2011.

MUTHURAMAN, A.; SOOD, S. Antisecretory, antioxidative and antiapoptotic effects of montelukast on pyloric ligation and water immersion stress induced peptic ulcer in rat. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 83, n. 1, p. 55-60, 2010.

NASSENSTEIN, C.; KERZEL, S.; BRAUN, A. Neurotrophins and neurotrophin receptors in allergic asthma. **Progress in Brain Research** 146: 347–367, 2004.

NICOTERA, P.; LEIST, M.; FERRANDO-MAY, E. Intracellular ATP, a switch in the decision between apoptosis and necrosis. **Toxicology Letters**, v. 102, p. 139-142, 1998.

NIKOLETOPOULOU, V.; MARKAKI, M.; PALIKARAS, K.; TAVERNARAKIS, N. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1833, n. 12, p. 3448-3459, 2013.

NISHIO, H.; HAYASHI, Y.; TERASHIMA, S.; TAKEUCHI, K. Role of endogenous nitric oxide in mucosal defense of inflamed rat stomach following iodoacetamide treatment. **Life Sciences**, v. 79, n. 16, p. 1523-1530, 2006.

NORSETT, K. G.; LAEGREID, A.; LANGAAS, M.; WORLUND, S., FOSSMARK, R.; WALDUM, H. L.; SANDVIK, A. K. Molecular characterization of rat gastric mucosal response to potent acid inhibition. **Physiological Genomics**, v. 22, n. 1, p. 24-32, 2005.

NUMICO, G.; FUSCO, V.; FRANCO, P.; ROILA, F. Proton Pump Inhibitors in cancer patients: How useful they are A review of the most common indications for their use. **Critical Reviews In Oncology/hematology**, v. 111, p.144-151, 2017.

PATLOLLA, J. M.; ZHANG, Y.; LI, Q.; STEELE, V. E.; RAO, C. V. Anti-carcinogenic properties of omeprazole against human colon cancer cells and azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci formation in rats. **International Journal of Oncology**, v. 40, n. 1, p. 170-175, 2012.

PAVLYUKOV, M. S.; ANTIPOVA, N. V.; BALASHOVA, M. V.; VINOGRADOVA, T. V.; KOPANTZEV, E. P.; SHAKHPARONOV, M. I. Survivin monomer plays an essential role in apoptosis regulation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 26, p. 23296-23307, 2011.

PEY, A.; ZAMOUM, T.; CHRISTEN, R.; MERLE, P. L.; FURLA, P. Characterization of glutathione peroxidase diversity in the symbiotic sea anemone *Anemonia viridis*. **Biochimie**, v. 132, p. 94-101, 2017.

PUIAC, S.; SEM, X.; NEGREA, A.; RHEN, M.; Small-molecular virulence inhibitors show divergent and immunomodulatory effects in infection models of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 38, n. 5, p. 409-416, 2011

REED, S. M.; QUELLE, D. E. p53 acetylation: regulation and consequences. **Cancers**, v. 7, n. 1, p. 30-69, 2014.

REN, K.; TORRES, R. Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. **Brain Research Reviews**, v. 60, n. 1, p. 57-64, 2009.

RODRÍGUEZ, C.; MEDICI, M.; MOZZI, F.; DE VALDEZ, G. F. Therapeutic effect of *Streptococcus thermophilus* CRL 1190-fermented milk on chronic gastritis. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 16, n. 13, p. 1622, 2010.

RONGVAUX, A.; JACKSON, R.; HARMAN, C. C.; LI, T.; WEST, A. P.; DE ZOETE, M. R.; WU, Y.; YORDY, B.; LAKHANI, S.A.; KUAN, C.Y.; TANIGUCHI, T.; SHADEL, G.S.; CHEN, Z.J.; IWASAKI, A.; FLAVELL, R.A. Apoptotic caspases prevent the induction of type I interferons by mitochondrial DNA. **Cell**, v. 159, n. 7, p. 1563-1577, 2014.

RUBIN, D. C.; SHAKER, A.; LEVIN, M.S. Chronic intestinal inflammation: inflammatory bowel disease and colitis-associated colon cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 3, 2012.

RYTER, S. W.; CHOI, A. M. Heme oxygenase-1: redox regulation of a stress protein in lung and cell culture models. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 7, n. 1-2, p. 80-91, 2005

SABAT, R.; GRÜTZ, G.; WARSZAWSKA, K.; KIRSCH, S.; WITTE, E.; WOLK, K.; GEGINET, J. Biology of interleukin-10. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 21, n. 5, p. 331-344, 2010.

SAVARINO, V.; DULBECCO, P.; DE BORTOLI, N.; OTTONELLO, A.; SAVARINO, E. The appropriate use of proton pump inhibitors (PPIs): Need for a reappraisal. **European Journal Of Internal Medicine**, v. 37, p.19-24, 2017.

SCARINGI, L.; CORNACCHIONE, E.; AYROLDP, L.; CORAZZP, E.; CAPODICASA, R. R.; MARCONI, P. Omeprazole induces apoptosis in jurkat cells. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 17, n. 3, p. 331-342, 2004.

ŞEN, H.; ORUÇ, M.; IŞIK, V. M.; SADIÇ, M.; SAYAR, H.; ÇITIL, R.; KORKMAZ, M.; KOÇER, U. The effect of omeprazole usage on the viability of random pattern skin flaps in rats. **Annals of plastic surgery**, v. 78, n. 6, p. e5-e9, 2017.

SHAKER, E.; MAHMOUD, H.; MNAA, S. Anti-inflammatory and anti-ulcer activity of the extract from *Alhagi maurorum* (camelthorn). **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 10, p. 2785-2790, 2010

SHIMOYAMA, A. T.; SANTIN, J. R.; MACHADO, I. D.; SILVA, A. M. D. O.; MELO, I. L. P.; MANCINI-FILHO, J.; FARSKY, S. H. Antiulcerogenic activity of chlorogenic acid in different models of gastric ulcer. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 386, n. 1, p. 5-14, 2013.

SIES, H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: oxidative eustress. **Redox Biology**, 2017.

SLOMIANY, B. L.; PIOTROWSKI, J.; SLOMIANY, A. Gastric mucosal inflammatory responses to *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide: suppression of caspase-3 and nitric oxide synthase-2 by omeprazole and sucralfate. **Inflammopharmacology**, v. 7, n. 2, p. 163-177, 1999.

SMITH, J. M.; JOHANESEN, P. A.; WENDT, M. K.; BINION, D.G.; DWINELL, M. B. CXCL12 activation of CXCR4 regulates mucosal host defense through stimulation of epithelial cell migration and promotion of intestinal barrier integrity. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol** 288: G316–G326, 2005.

SMYTH, G.K. Linear models and empirical bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments. **Statistical Applications in Genetics and Molecular Biology**, v. 3, n. 1, p. 1-25, 2004

SOFIDIYA, M.O.; AGUFOBI, G.; AKINDELE, A.J.; OLOWE, J.A.; FAMILONI, O. B. Efeito de flabellaria paniculata Cav. extraí na úlcera gástrica em ratos. **BMC Complem Altern H** 12 (2): 168, 2012

SONG, J-W.; SEO, C. S.; KIM, T. I.; MOOM, O. S.; WON, Y. S.; SON, H. Y.; SON, K. S.; KWON, H. J. Protective effects of manassantin A against ethanol-induced gastric injury in rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 39, n. 2, p. 221-229, 2016.

SURH, Y. J.; KUNDU, J. K.; NA, H. K. Nrf2 as a master redox switch in turning on the cellular signaling involved in the induction of cytoprotective genes by some chemopreventive phytochemicals. **Planta Medica**, v. 74, n. 13, p. 1526-1539, 2008.

SZLACHCIC, A.; SLIWOWSKI, Z.; KARCZEWSKA, E.; BIELAŃSKI, W.; PYTKO-POLONCZYK, J.; KONTUREK, S. J. Helicobacter pylori and its eradication in rosacea. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 50, n. 5, p. 777-786, 1999.

TURNER, M. D.; TURNER, M. D.; NEDJAI, B; HURST, T.; PENNINGTON, D. J. Cytokines and chemokines: at the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1843, n. 11, p. 2563-2582, 2014

TYTELL1, M.; HOOPER, P. L. Heat shock proteins: new keys to the development of cytoprotective therapies. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 5, n. 2, p. 267-287, 2001.

ULANOVA, M.; PUTTAGUNTA, L.; KIM, M.K.; SCHREIBER, A.D.; BEFUS, A.D. Antisense oligonucleotides to Syk kinase: a novel therapeutic approach for respiratory disorders. **Current Opinion in Investigational Drugs** v. 4, n. 5, p. 552-555, 2003.

VAKKILA J.; LOTZE M. Michael T. Opinion: Inflammation and necrosis promote tumour growth. **Nature reviews. Immunology**, v. 4, n. 8, p. 641, 2004

WANG, H.; ZHU, F.; HUANG, Y.; DING, Y.; JIAN, J.; WU, Z. Construction of glutathione peroxidase (GPx) DNA vaccine and its protective efficiency on the orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) challenged with *Vibrio harveyi*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 60, p. 529-536, 2017.

WANG, H.Y.; LIU, Y. M.; LI, H.Y.; FENG, Q.J.; GUO, J.Y.; NIU, X. Effects of oils in *Alpinia officinarum* Hance on serum motilin, somatostatin, substance P, vasoactive intestinal peptide in gastrectomy mice model. **Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae**, v. 17, n. 4, p. 105-107, 2011.

WANG, J.; ZHANG, T.; ZHU, L.; MA, C.; WANG, S. Anti-ulcerogenic effect of Zuojin Pill against ethanol-induced acute gastric lesion in animal models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 459-467, 2015.

WANG, Q.; WANG, J. J.; BOYCE, S.; FISCHER, J. E.; HASSELGREN, P. O. Endotoxemia and IL-1 β stimulate mucosal IL-6 production in different parts of the gastrointestinal tract. **Journal of Surgical Research**, v. 76, n. 1, p. 27-31, 1998.

- WANG, X.; LI, S. Protein mislocalization: Mechanisms, functions and clinical applications in cancer. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1515, p. 13-25, 2014.
- WATANABE, T.; HIGUCHI, K.; TOMINAGA, K.; FUJIWARA, Y.; ARAKAWA, T. Acid regulates inflammatory response in a rat model of induction of gastric ulcer recurrence by interleukin 1 β . **Gut**, v. 48, n. 6, p. 774-781, 2001.
- WILLEMIJNTJE, A. H.; PANKAJ, J. P. Agents used for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers and gastroesophageal reflux disease. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. GH Joel & EL Lee, Eds, p. 1010-1011, 2001.
- WILLIAMS R.O.; PALEOLOG, E.; FELDMANN, M. Cytokine inhibitors in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 4, p. 412-417, 2007.
- WU, C.; CHEN, Z.; DARDALHON, V.; XIAO, S.; THALHAMER, T.; LIAO, M.; MADI, A.; FRANCA, R. F.; HAN, T.; OUKKA, M.; KUCHROO, V. The transcription factor musculin promotes the unidirectional development of peripheral Treg cells by suppressing the TH2 transcriptional program. **Nature Immunology**, v. 18, n. 3, p. 344, 2017.
- YADAV, A.; SAINI, V.; ARORA, S. MCP-1: chemoattractant with a role beyond immunity: a review. **Clinica Chimica Acta**, v. 411, n. 21, p. 1570-1579, 2010.
- ZARGHI, A.; ARFAEI, S. Selective COX-2 inhibitors: a review of their structure-activity relationships. **Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR**, v. 10, n. 4, p. 655, 2011.
- ZHANG, F.; WANG, L.; WANG, J. J.; LUO, P. F.; WANG, X. T.; XIA, Z. F. The caspase-1 inhibitor AC-YVAD-CMK attenuates acute gastric injury in mice: involvement of silencing NLRP3 inflammasome activities. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.
- ZHANG, Q.; HUANG, N.; WANG, J.; LUO, H.; HE, H.; DING, M.; DENG, W. Q.; ZOU, K. The H⁺/K⁺-ATPase inhibitory activities of Trametenolic acid B from *Trametes lactinea* (Berk.) Pat, and its effects on gastric cancer cells. **Fitoterapia**, v. 89, p. 210-217, 2013.
- ZHAO, X.; GONZALES, N.; ARONOWSKI, J. Pleiotropic Role of PPAR γ in Intracerebral Hemorrhage: An Intricate System Involving Nrf2, RXR, and NF- κ B. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 21, n. 4, p. 357-366, 2015.
- ZHENG, H.; CHEN, Y.; ZHANG, J.; WANG, L.; JIN, Z.; HUANG, H.; MAN, S.; GAO, W. Evaluation of protective effects of costunolide and dehydrocostuslactone on ethanol-induced gastric ulcer in mice based on multi-pathway regulation. **Chemico-Biological Interactions**, v. 250, p. 68-77, 2016.
- ZHIVOTOVSKY, B.; KROEMER, G. Apoptosis and genomic instability. **Nature Reviews. Molecular Cell Biology**, v. 5, n. 9, p. 752, 2004.

ZHOU, B.; WANG, H.; XUE, F.; WANG, X.; FEI, C.; WANG, M.; ZHANG, T.; YAO, X.; HE, P. Effects of diclazuril on apoptosis and mitochondrial transmembrane potential in second-generation merozoites of *Eimeria tenella*. **Veterinary Parasitology**, v. 168, n. 3, p. 217-222, 2010.

ZHOU, Y. L.; WANG, R.; FENG, X.; ZHAO, X. Preventive effect of insect tea against reserpine-induced gastric ulcers in mice. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 8, n. 4, p. 1318-1324, 2014.



***Capítulo II* - RISCOS DE INSTABILIDADE GENÉTICA INDUZIDOS PELO
OMEPRAZOL EM PACIENTES COM GASTRITE**

Ag-Anne Pereira Melo de Menezes, José Victor de Oliveira Santos, Antonielly Campinho dos Reis, Rosália Maria Tôrres de Lima, Marcia Fernanda Corrêia Jardim Paz, Ana Maria Oliveira Ferreira da Mata, João Marcelo de Castro e Sousa¹, Sônia Alves Machado, Thiago Soares Gondim Medeiros, Carlos Dimas de Carvalho Sousa, Muhammad Torequl Islam, Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante.

RISCOS DE INSTABILIDADE GENÉTICA INDUZIDOS PELO OMEPRAZOL EM PACIENTES COM GASTRITE

Autores

Ag-Anne Pereira Melo de Menezes, 1,2, José Victor de Oliveira Santos1,2, Antonielly Campinho dos Reis2, Rosália Maria Tôrres de Lima4, Marcia Fernanda Corrêa Jardim Paz4, Ana Maria Oliveira Ferreira da Mata4, João Marcelo de Castro e Sousa1, Sônia Alves Machado5, Thiago Soares Gondim Medeiros5, Carlos Dimas de Carvalho Sousa5, Muhammad Torequl Islam4, Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante1,2,4

¹ Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

² Núcleo de Tecnologia farmacêutica, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

³ Pós-graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, Brasil

⁴ RENORBIO Rede de Biotecnologia do Nordeste

⁵ Hospital Getúlio Vargas, Teresina, Piauí, Brasil

RESUMO

A gastrite é uma infiltração da mucosa gástrica na parede do estômago, devido ao desequilíbrio entre os agentes lesivos (ácido clorídrico e pepsina). Os inibidores da bomba de prótons (IBP's), dentre eles o Omeprazol, são considerados os supressores mais eficazes da secreção de ácido gástrico, porém seus efeitos colaterais, tóxicos e genotóxicos devem ser considerados, já que ainda geram controvérsias. Assim, o estudo objetivou o monitoramento de danos genotóxicos, oxidantes e apoptóticos em linfócitos de sangue periférico de pacientes com gastrite em terapia com omeprazol com aplicação do ensaio cometa em sua versão alcalina. E, ainda, avaliar os possíveis mecanismos de danos oxidativos no DNA e defesas antioxidantes no organismo, incluindo as correlações entre biomarcadores citogenéticos, estresse oxidativo, defesas enzimáticas e estilo de vida. Participaram da pesquisa 132 pacientes distribuídos nos grupos sem gastrite (26 pacientes); com gastrite (26 pacientes); com gastrite e infecção por *Helicobacter pylori* (16 pacientes); sem gastrite em terapia com omeprazol (22 pacientes); com gastrite em terapia com omeprazol (26 pacientes); com gastrite e infecção com *H. pylori* e em terapia com omeprazol (16 pacientes). O Omeprazol induziu danos genotóxicos e apoptose em pacientes com gastrite. Também foi observado aumento de catalase e superóxido dismutase, bem como de peroxidação lipídica e de nitrito. Correlações positivas foram evidenciadas entre o tabagismo, exercício físico e exposição a químicos com os danos ao DNA e com apoptose, bem como entre os biomarcadores citogenéticos. Os dados apontam que os pacientes em terapia com o omeprazol devem ser monitorados quanto aos riscos de instabilidade genômica como estratégia para a prevenção do câncer.

Palavras-chave: Genotoxicidade. Estresse oxidativo. Antioxidantes.

ABSTRACT

Gastritis is an infiltration of the gastric mucosa inducing inflammation in the stomach wall due to the imbalance between the harmful agents (hydrochloric acid and pepsin). Proton pump inhibitors (PPIs), among them there is Omeprazole, are considered the most effective suppressors of gastric acid secretion, however their side effects, toxicity and genotoxic should be considered by its controversial actions. However, damage to genetic material still causes controversy. Thus, the study aimed the biomonitoring of genotoxic, oxidant and apoptotic damages in peripheral blood lymphocytes of gastric patients with omeprazole treatment with application of the alkaline version comet assay. Also, to evaluate the possible mechanisms of oxidative damage of endogenous antioxidant defenses, including the correlations between cytogenetic biomarkers, oxidative stress, enzymatic defenses and lifestyle. A total of 132 patients distributed in the SG groups - without gastritis (26 patients) participated in the study; without gastritis (26 patients); with gastritis (26 patients); with gastritis and *Helicobacter pylori* infection (16 patients); without gastritis in omeprazole therapy (22 patients); with gastritis in omeprazole therapy (26 patients); with gastritis infection with *H. pylori* and in therapy with omeprazole (16 patients). Omeprazole induces genotoxic damage in a patient with gastritis. It was also observed an increase of catalase and superoxide dismutase, as well as lipid and nitrite peroxidation. Positive correlations were evidenced between smoking, physical exercise and exposure to chemicals with DNA damage and with apoptosis, as well as between cytogenetic biomarkers. The data indicate that patients in omeprazole therapy should be monitored for the risks of genomic instability as a strategy for cancer prevention.

Key words: Omeprazole. Genotoxicity. Oxidative stress. Antioxidants.

1 INTRODUÇÃO

Diversos fatores causam danos na mucosa gástrica e geram lesões pelo desequilíbrio entre os agentes lesivos (ácido clorídrico [HCl] e pepsina), que desestabilizam a barreira gástrica, e mecanismos protetores da mucosa, desencadeando, assim, uma inflamação aguda (KWIECIEN et al. 2002; BALLWEG et al, 2017). Esse desequilíbrio proporciona a perda da proteção da mucosa, devido a deficiência da secreção de muco e bicarbonato, bem como, dificuldade na re-epitelização, tornando-a mais permeável ao HCl e levando a sua degeneração (MALFERTHEINER; CHAN; MCCOLL, 2009; SONG et al, 2017). As lesões gástricas podem ser desencadeadas e agravadas por fatores como o uso de drogas anti-inflamatórias não-esteroidais, estresse, tabagismo, consumo excessivo de álcool e pela presença, no trato gastrointestinal, da *Helicobacter pylori* (ALQASOUMI et al., 2009; PANDYA et al., 2017). E podem ser caracterizadas apenas por lesões superficiais e inflamatórias, como a gastrite, ou comprometer a integridade do revestimento do estômago ou do duodeno, atingindo desde as camadas superficiais, até as mais profundas camadas da parede muscular da mucosa gástrica, como é o caso das úlceras gástricas (BANSAL et al., 2009; HONG et al, 2017).

O principal objetivo terapêutico no tratamento das lesões gástricas é a redução da secreção do HCl, para criar um ambiente favorável para a cicatrização da ferida e alívio dos sintomas (LEWIS, 2003; LAHNER et al, 2014). Os inibidores da bomba de prótons (IBPs) (Omeprazol [OME], Lansoprazol, Rabeprazol, Pantoprazol, Esomeprazol e Dexlansoprazol) são os agentes mais eficazes para suprimir a acidez gástrica, pois tem como alvo a bomba de prótons presente na célula parietal, responsáveis pela secreção do HCl (SCHUBERT; PEURA, 2008; MINALYAN et al, 2017). Contudo, o uso de IBPs pode apresentar alguns efeitos adversos leves como cefaléia, diarreia, náusea, constipação, dor abdominal, prurido, hipersecreção ácida rebote, má absorção, deficiência de vitamina B12 e hipotensão (O'NEIL; LEONARD, 2011), bem como efeitos mais graves, os quais podem levar à formação de câncer gástrico, como aumento da produção da gastrina, levando a hipergastrinemia, resultante da menor liberação de somatostatina a partir das células D, desenvolvimento de pólipos gástricos, e o aumento do risco de infecção bacteriana, como pela *H. pylori* (YUAN, et al., 2006; CHUBINEH; BIRK, 2012). Entretanto, ainda são escassos relatos sobre os efeitos do OME em relação ao material genético.

Assim, torna-se importante o biomonitoramento clínico de terapias com OME frente aos seus possíveis danos ao DNA, devido as suas associações e uso indiscriminado (WONG, 2003). Agências regulatórias como a *Food and Drug Administration* (FDA), *European Medicines Agency* (EMA) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) preconizam diversos testes de genotoxicidade (*in vitro* e *in vivo*), dentre eles o ensaio cometa, que detectam o potencial de uma droga de induzir mutações genéticas ou aberrações cromossômicas, para a validação de uma droga (ARALDI et al., 2015). O ensaio cometa pode ser utilizado para avaliações de genotoxicidade, biomonitoramento humano e ecogenotoxicidade, além de ser uma ferramenta de escolha para avaliação de risco, diagnóstico precoce, monitoramento de terapia e prognóstico de doenças como o câncer, por ser capaz de mensurar danos ao DNA, como quebras de fita simples e dupla, incluindo danos oxidativos causados por espécies reativas de oxigênio (EROs), e reparo (COLLINS, 2014; GUNASEKARANA; RAJ; CHAND, 2015).

Elevados níveis de EROs causam danos ao DNA, proteínas e lipídeos, promovendo instabilidade genética e tumorigênese, pela ativação de vias de sinalização, perda de função de genes supressores de tumores, aumento do metabolismo de glicose, adaptações à hipóxia e geração de mutações, contribuindo assim, para o crescimento anormal de células, metástase, resistência a apoptose, angiogênese, e conseqüentemente, com o desenvolvimento do câncer (MOLONEY; GOTTER, 2017). O estresse oxidativo nas células, representado pelo aumento dos níveis de EROs, pode ser minimizado por mecanismos de defesas antioxidantes. A capacidade antioxidante de células humanas consiste na síntese endógena de antioxidantes como Superóxido Dismutase (SOD), Glutathione (GSH), Catalase (CAT) peroxireduxinas, dentre outras (PROPAC et al., 2017), que podem ser utilizados como biomarcadores.

Diante do exposto, o presente trabalho buscou realizar o biomonitoramento de danos genotóxicos, oxidantes e apoptóticos em pacientes com gastrite em terapia gástrica com OME, bem como, alguns dos possíveis mecanismos de danos oxidativos de defesas antioxidantes endógenas, incluindo as correlações entre biomarcadores citogenéticos, estresse oxidativo, defesas enzimáticas e estilo de vida.

2 METODOLOGIA

2.1 Aspectos Éticos

A pesquisa do tipo transversal controlado foi realizada após aprovação dos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) da UNINOVAFAPI (nº 1.521.307) (**anexo IV**) e da Universidade Federal do Piauí – UFPI (nº 1.607.441) (**anexo VI**), bem como, da Comissão de Ética do Hospital Getúlio Vargas (nº 1.569.041) (**anexo VII**). Todos os participantes concordaram em participar de forma voluntária de acordo com a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (**anexo III**).

2.2 População em Estudo

Participaram da pesquisa 132 pacientes submetidos a endoscopia digestiva alta, atendidos no ambulatório de gastroenterologia do Hospital Getúlio Vargas, Teresina - PI, no período de maio a outubro de 2017, monitorados antes, durante e ao final do procedimento. Os laudos médicos apresentam as informações de presença ou ausência de doenças gástricas, dentre elas a gastrite, e de *H. pylori*. Após a liberações destes, os participantes foram separados em grupos: SG - sem gastrite (26 pacientes); G – gastrite (26 pacientes); G + HP - gastrite + *H. pylori* (16 pacientes); SG + OME - sem gastrite + omeprazol (22 pacientes); G + OME - gastrite + omeprazol (26 pacientes); G + HP + OME - gastrite + *H. pylori* + omeprazol (16 pacientes).

2.3 Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídos na pesquisa pacientes: com gastrite ou não; maiores de 18 anos e legalmente capazes; esclarecidos sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta poderia lhes causar caso aceitassem participar da pesquisa; que necessitavam, ou não, de tratamento prolongado com Omeprazol, por recomendação médica, para resolução de problemas gástricos; e com participação de forma gratuita. Foram excluídos participantes: fora dos critérios de inclusão;

acima de 70 anos de idade; e/ou pacientes diagnosticados com enfermidades que necessitassem de tratamento com cirurgia, quimioterapia ou radioterapia.

2.4 Coleta de dados

2.4.1 Questionários

Foram aplicados questionários antes da endoscopia adaptados de Carrano e Natarajam (1988) com adaptações (**anexo II**), conforme protocolo publicado pela Comissão Internacional para Proteção Ambiental a Mutágenos e Carcinógenos (ICPEMC), que abordam, além de aspectos nutricionais, informações socioculturais, de saúde e estilo de vida de cada participante.

2.4.2 Coleta de material biológico

As amostras de sangue periférico foram coletadas, por punção venosa, pelos pesquisadores no momento da abordagem dos pacientes antes da endoscopia. Os suportes com os microtubos com heparina contendo as amostras para serem imediatamente processadas foram colocados sobre uma camada de papel toalha, evitando o contato com o gelo, em caixa de isopor para o transporte até ao Laboratório de Genética Toxicológica da Universidade Federal do Piauí – UFPI, onde foram processados e realizados os experimentos.

2.5 Ensaio Cometa

O Ensaio Cometa foi realizado com as amostras de sangue periférico, conforme descrito por Tice e colaboradores (2000) com adaptações de Arshad e colaboradores (2016). Alíquotas de 10 µl das amostras foram misturadas com uma fina camada de agarose “*low melting*” 0,75% (95 µl) e colocadas sobre lâminas pré-cobertas com agarose normal a 1,5%; estas lâminas foram mergulhadas em uma solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA e 10 mM Tris, pH 10 com adição de 1% Triton X-100 e 10% DMSO na hora do uso), por no mínimo 1 hora até no máximo 72 horas a 4°C, para o rompimento das membranas celulares. A

lise celular permitiu a migração dos fragmentos de DNA que foi realizada após a incubação das lâminas em tampão alcalino (300 mM NaOH e 1 mM EDTA, pH > 13) por 20 minutos e subsequente aplicação de uma corrente elétrica de 300 mA e 25 V por 15 minutos nas células lisadas sobre as lâminas para microscopia em uma cuba de eletroforese de DNA. As lâminas foram neutralizadas logo após a eletroforese com tampão Tris 0,4 M, pH 7,5 e coradas com solução de prata. Os resultados foram expressos em índice de danos (ID) e frequência de danos (FD). O ID foi obtido pela avaliação visual das classes de dano (de 0 a 4) e ausência de nucleioide como indicativo de apoptoses, extraindo-se um índice calculado ($ID = n^{\circ} \text{ de células dano } 0 \times 0 + n^{\circ} \text{ de células dano } 1 \times 1 + n^{\circ} \text{ de células dano } 2 \times 2 + n^{\circ} \text{ de células dano } 3 \times 3 + n^{\circ} \text{ de células dano } 4 \times 4$) que expressa o dano geral sofrido por uma população de células (100 células por lâmina em duplicata), os núcleos intactos aparecem redondos (classe 0 – sem danos), já nas células lesadas, o DNA migra do núcleo em direção ao ânodo, durante a eletroforese, mostrando uma “cauda” de fragmentos sedimentados, semelhante a um cometa e são classificados entre classes um (dano mínimo) a quatro (dano máximo). A FD foi calculada baseada no número de células contadas (100) menos as células sem cauda (dano 0).

2.6 Avaliação do perfil antioxidante

2.6.1 Método de determinação da catalase (CAT)

Os homogenatos dos eritrócitos a 10% (tampão fosfato de sódio 50 mM pH 7,4) foram centrifugados (800 g, 20 min) e os sobrenadantes utilizados para ensaio de atividades da catalase (CAT). Foi preparado o meio reacional com H₂O₂ (18 mL) mais Tampão Tris HCl 1M, EDTA 5 mM pH 8,0 (1,0 mL) e H₂O (0,8 mL). Em seguida, foi colocado na cubeta de quartzo 980 µL do meio reacional mais 20 µL do homogenato dos eritrócitos a 10% preparado em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,4. Por fim, foi realizada a leitura em espectrofotômetro durante 6 minutos em 230 nm. O branco foi feito pela leitura na absorbância relativa a 230 nm com apenas 1 mL do meio reacional (CHANCE; MAEHL, 1955). A concentração de proteínas foi determinada (LOWRY et al., 1951). Os resultados foram expressos em mmol/min/mg de proteína.

2.6.2 Método da determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD)

Os homogenatos dos eritrócitos a 10% (tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,4) foram centrifugados (800 g, 20 min); e os sobrenadantes utilizados para ensaio de atividades da superóxido dismutase (SOD). Atividade da SOD foi testada por meio da taxa de redução do citocromo C pelos radicais superóxidos, utilizando o sistema xantina-xantina oxidase como fonte geradora de ânion superóxido (O_2^-) (ARTHUR; BOYNE, 1985). Os resultados foram expressos em U/mg de proteína. Uma unidade (U) da atividade da SOD corresponde à inibição de 50% da reação do O_2^- com o citocromo C. Para a determinação da concentração de proteínas foi usado o método de Lowry e colaboradores (1951).

2.6.3 Método da determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH)

A determinação da concentração de GSH foi baseada na reação de Ellman (5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenzoico), conforme algumas modificações da técnica descrita por Sedlak e Lindsay (1988). Em um tubo foram adicionados 400 μ L do homogenato dos eritrócitos a 10% (tampão EDTA pH 5,4), acrescidos 320 μ L de água destilada e mais 80 μ L de ácido tricloroacético a 50%. O material foi agitado e centrifugado a 3000 rpm por 15 minutos. Em seguida, foram recolhidos 400 μ L do sobrenadante e acrescido de 800 μ L de tampão Tris-HCl 0,4 M, pH 8,9 e mais 20 μ L de DTNB 0,01 M; e, após 1 minuto de reação, foi feita a leitura em espectrofotômetro em 412 nm. A concentração foi expressa em mg/g de hemoglobina.

2.7 Avaliação de possíveis mecanismos para indução de estresse oxidativo pelo OME

2.7.1 Determinação de peroxidação lipídica pelo conteúdo de substâncias ácidas reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS)

O sangue com anticoagulante EDTA foi centrifugado a 3000 rpm/4 °C por 5 minutos. Em seguida, foi retirado o plasma e acrescentado solução gelada de NaCl (0,9%) para lavagem dos eritrócitos, seguida de nova centrifugação para retirada do sobrenadante. O procedimento anterior foi realizado por mais duas vezes para a obtenção dos eritrócitos e posterior diluição a 10% em tampão fosfato de sódio (50 mM pH 7,4). O homogenato a 10%

(w/w) foi armazenado a -20 °C. O grau de peroxidação lipídica foi mensurado por meio da determinação dos níveis de TBARS, método previamente descrito por Draper e Hadley (1990). Dessa forma, 250 µL do homogenato a 10%, 1 mL de ácido tricloroacético a 10% e 1 mL de solução de ácido tiobarbitúrico 0,67% foram adicionados em um mesmo tubo e, em seguida, a mistura foi agitada. Posteriormente, essa mistura foi mantida em um banho de água fervente por 15 minutos e resfriada em água corrente. Após o resfriamento, foram adicionados 2 mL de n-butanol e realizada agitação durante 1 minuto. Após a agitação, a mistura foi centrifugada a 1200 rpm por 5 minutos. A fase butanólica foi tomada para leitura em espectrofotômetro a 535 nm. A concentração de proteínas foi determinada (LOWRY et al., 1951). Os resultados foram expressos em nM/mg de proteína, feito pela leitura na absorbância relativa a 230 nm com apenas 1 mL do meio reacional (CHANCE; MAEHLI, 1955). Os resultados foram expressos em mmol/min/mg de proteína.

2.7.2 Determinação do conteúdo de nitrito

A dosagem do conteúdo de nitrito foi baseada na reação de Griess (GREEN; TANNENBAUM; GOLDMAN, 1981) no qual, em um tubo branco, foram adicionados 500 µL do reagente de Griess, mais 500 µL de água destilada (Branco). Em outro tubo teste foram adicionados 500 µL do reagente de Griess mais 500 µL do homogenato dos eritrócitos a 10% (tampão fosfato de sódio 50 mM pH 7,4) (Teste). Foi feita a leitura em espectrofotômetro a 560 nm. Os resultados foram expressos em µM/mg de proteína.

2.8 Análise Estatística

Os resultados do Ensaio Cometa foram apresentados como média ± desvio padrão da média. Os dados obtidos foram avaliados por meio da Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste Bonferroni como *post hoc test*. Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism 5.0 (San Diego, CA, EUA), os grupos experimentais foram comparados com o grupo controle e entre si. As correlações de *Pearson r* foram realizadas através do programa estatístico *IBM SPSS Statistics 23*. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas até $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

3.1 Caracterização sociocultural e de saúde da população em estudo

A maioria dos participantes dos grupos em estudo foram do sexo feminino. Em relação à etnia predominou-se a parda, principalmente nos grupos SG, G + HP e SG + OME. O intervalo de idade dos pacientes foi entre 38 a 56 anos e o peso médio foi de 67 kg. Quanto ao estado civil os pacientes em predominância eram casados. A maioria dos entrevistados possui ensino fundamental incompleto, exceto, no grupo G + HP onde 50% possuem ensino médio incompleto. Os pacientes da pesquisa relataram exposição a produtos de limpeza, agrotóxicos e tintas/solventes. Entretanto, os dados foram mais significativos à exposição a produtos de limpeza. Em relação a exercícios físicos, a maioria dos pacientes relataram a não realização destes. Quanto ao tabagismo os pacientes dos grupos SG, G e G + OME relataram o hábito de fumar como também para o consumo de bebidas alcoólicas. Foi relatado o consumo de carnes e vegetais pela maioria dos pacientes (**Tabela 1**).

Para os aspectos de saúde e terapêuticos, os pacientes relataram, em sua grande maioria, a ausência de casos de câncer na família. Porém, dentre os que relataram, 7% informaram sobre câncer de estômago e/ou intestino. Em relação a outras doenças hereditárias, os pacientes informaram o não registro na família. Comumente os pacientes do estudo afirmaram sobre uso constante de medicamentos, exceto no grupo SG. Dentre os medicamentos utilizados, em sua maioria foram medicamentos para hipertensão. Entretanto, a maioria dos pacientes incluindo os sem gastrite, as informações sobre o uso do Omeprazol foram significantes, porém, sem o relato de efeitos colaterais. Cabe enfatizar, que os pacientes, especialmente dos grupos G, G + OME e G + HP + OME, relataram exposição a radiações ionizantes no último ano por indicações médicas. Em relação a outros tratamentos de saúde os pacientes do grupo SG expuseram sobre o tratamento de coluna, hérnia, próstata e enxaqueca. E os pacientes do grupo G para hanseníase e próstata. Entretanto, em G + HP todos apontaram para o tratamento para gastrite. Contudo, os pacientes em terapia com o Omeprazol relataram o tratamento de coluna e enxaqueca, mas o grupo com G + OME apontaram o tratamento para coluna, cirrose hepática e diabetes, enquanto o G + HP + OME para hérnia e diabetes (**Tabela 2**).

Tabela 1 – Aspectos socioculturais dos pacientes com gastrite em terapias com Omeprazol, no Hospital Getúlio Vargas (Teresina-PI/2017)

Parâmetros	SG (n=26)	G (n=26)	G+HP (n=16)	SG + OME (n=22)	G + OME (n=26)	G+HP+OME (n=16)
Sexo (% válido)						
Masculino	29,4	23,1	37,5	46,2	47,4	12,5
Feminino	70,6*	76,9*	62,5*	56,8	52,6	87,5*
Etnia (% válido)						
Branco	5,9	15,4	12,5	23,1	21,1	50,0
Pardo	58,8*	46,2	62,5*	69,2*	57,9	37,5
Negro	35,3	38,5	25,0	7,7	21,1	12,5
Idade (MD ± DV)	48, 82 ± 13,77	56,77 ± 10,50	43,63 ± 16,76	38,17 ± 13,24	52,58 ± 12,07	50,75 ± 13,69
Peso (Kg) (MD ± DV)	84,00 ± 8,48	59,85 ± 12,95	67,43 ± 16,13	63,58 ± 10,39	64,75 ± 10,55	67,87 ± 9,12
Estado civil (% válido)						
Casado	41,2	23,1	50,0	56,8	63,2*	50,0*
Separado	11,8	15,4	12,5	-	5,3	12,5
Solteiro	29,4	30,8	37,5	46,2	15,8	37,5
Viúvo	17,6	30,8	-	-	15,8	-
Escolaridade (% válido)						
Sem escolaridade	17,6	15,4	12,5	-	-	12,5
Ensino fundamental completo	11,8	-	12,5	38,5	15,4	12,5
Ensino fundamental incompleto	23,5	53,8	25,0	15,4	38,5	12,5
Médio completo	17,6	15,4	-	7,5	-	50,0
Médio incompleto	23,5	7,7	50,0	7,7	30,8	12,5
Exp. aos químicos (% válido)						
Produtos de limpeza	30,0	66,7*	80,0*	60,0*	70,0*	80,0*
Agrotóxicos	20,0	16,7	-	-	30,0	20,0*
Tintas/Solventes	50,0	16,7	20,0	40,0	-	-
Exercício Físico (% válido)						
Sim	35,3	38,5	37,5	38,5	31,6	25,0
Não	64,7*	61,5*	62,4	68,4	68,4	75,0
Tabagismo (% válido)						
Sim	64,7*	61,5*	25,0	46,2	63,2	50,0
Não	35,3	38,5	75,0*	58,8	56,8	50,0
Etilismo (% válido)						
Sim	70,3*	46,2	75,0*	69,2*	73,7*	62,5
Não	23,5	30,8	25,0	23,1	26,3	37,5
Consumo de Vegetais(% válido)						
Sim	82,4*	92,3*	100	84,6*	100	100
Não	17,6	7,7	-	15,4	-	-
Consumo de Carnes (% válido)						
Sim	94,1	100	100	92,3	100	100
Não	5,9	-	-	7,7	-	-

SG – Sem Gastrite; G – Gastrite; G+HP – Gastrite + *H. pylori*; SG+OME – Sem Gastrite + Omeprazol; G+OME – Gastrite + Omeprazol; G+HP+OME – Gastrite + *H. pylori* + Omeprazol. Média ± D.P.M. As diferenças entre os dados para cada variável foram observadas com o teste T pareado com $p < 0,05$.

Tabela 2 - Aspectos de saúde e terapêuticos dos pacientes em terapias com Omeprazol, no Hospital Getúlio Vargas (Teresina-PI/2017)

Parâmetros	SG (n=26)	G (n=26)	G+HP (n=16)	SG + OME (n=22)	G + OME (n=26)	G+HP+OME (n=16)
Câncer na família (% válidos)						
Sim	35,3	46,2	12,5	15,4	42,1	62,5*
Não	64,7*	53,8*	87,5*	84,6*	57,9*	37,5
Doenças hereditárias (% válidos)						
Sim	5,9	15,4		7,7	-	12,5
Não	94,1	84,6	100	92,3	100	87,5
Uso de medicamento (% válidos)						
Sim	29,4	46,2	62,5*	30,8	73,7*	62,5*
Não	70,6*	55,9	25,0	69,2*	26,3	27,5
Medicamentosa (% válidos)						
Hormônios	14,3	12,5	-			
Vitaminas/Suplemento	14,3	7,7	20,0	20,0	11,1	50,0
Hipertensivos	57,1*	62,5*	60,0*	40,0*	77,0*	16,7
Outros	14,3	7,7	20,0	20,0	11,1	36,4
Uso do OME (% válidos)						
Sim	-	-	-	100	100	100
Não	100	100	100	-	-	-
Efeitos colaterais do OME						
Sim	-	-	-	-	-	--
Não	-	-	-	100	100	100
Exposição a radiografias recentes (% válidos)						
Sim	52,9	75,0	12,5	38,5	63,2	62,5
Não	47,1	25,0	87,5	60,5	36,8	37,5
Tratamento médico (% válido)						
Coluna	16,7	-	-	50,0	25,0	-
Hernia	16,7	-	-	-	-	50,0
Próstata	16,7	50,0	-	-	-	-
Fígado	16,7	-	-	-	-	-
Enxaqueca	16,7	-	-	50,0	-	-
Hemodiálise	16,7	-	-	-	-	-
Cirrose hepática	-	-	-	-	-	-
Diabetes	-	-	-	-	25,0	-
Hanseníase	-	50,0	-	-	-	50,0

SG – Sem Gastrite; G – Gastrite; G+HP – Gastrite + *H. pylori*; SG+OME – Sem Gastrite + Omeprazol; G+OME – Gastrite + Omeprazol; G+HP+OME – Gastrite + *H. pylori* + Omeprazol. Média ± D.P.M. *As diferenças entre os dados para cada variável foram observadas com o teste T pareado com p<0,05.

3.2 Avaliação dos riscos de genotoxicidade em pacientes em terapia com Omeprazol

Os dados apontaram que o uso do OME induziu danos genotóxicos, quando comparados aos pacientes sem gastrite como apresentado no perfil fotomicrográfico, onde foi observado aumento de diferentes tipos de danos (1-4), como também riscos de apoptoses (AP), especialmente em pacientes com gastrite e com gastrite com *H. pylori*, em terapias com OME (**Figura 1**). Os danos ao DNA em linfócitos foram analisados conforme o índice (ID) e frequência (FD) de danos corroborando com o resultado indicativo para riscos genotóxicos de terapias gástricas com o uso de OME, pelo aumento significativo ($p < 0,0001$ e $p < 0,05$) de danos ao DNA em comparação ao grupo sem gastrite e entre os grupos estudados (**Figura 2**).

Figura 1. Perfil fotomicrográfico de linfócitos de sangue periférico de pacientes em terapias com Omeprazol, analisado por ensaio cometa destacando os aumentos de danos genéticos ao DNA (0 - 4). **D0**: Dano 0; **D1**: Dano 1; **D2**: Dano 2; **D3**: Dano 3 e **D4**: dano 4. **AP**: Apoptoses. Células coradas com nitrato de prata. Microscopia óptica com aumento de 400 X.

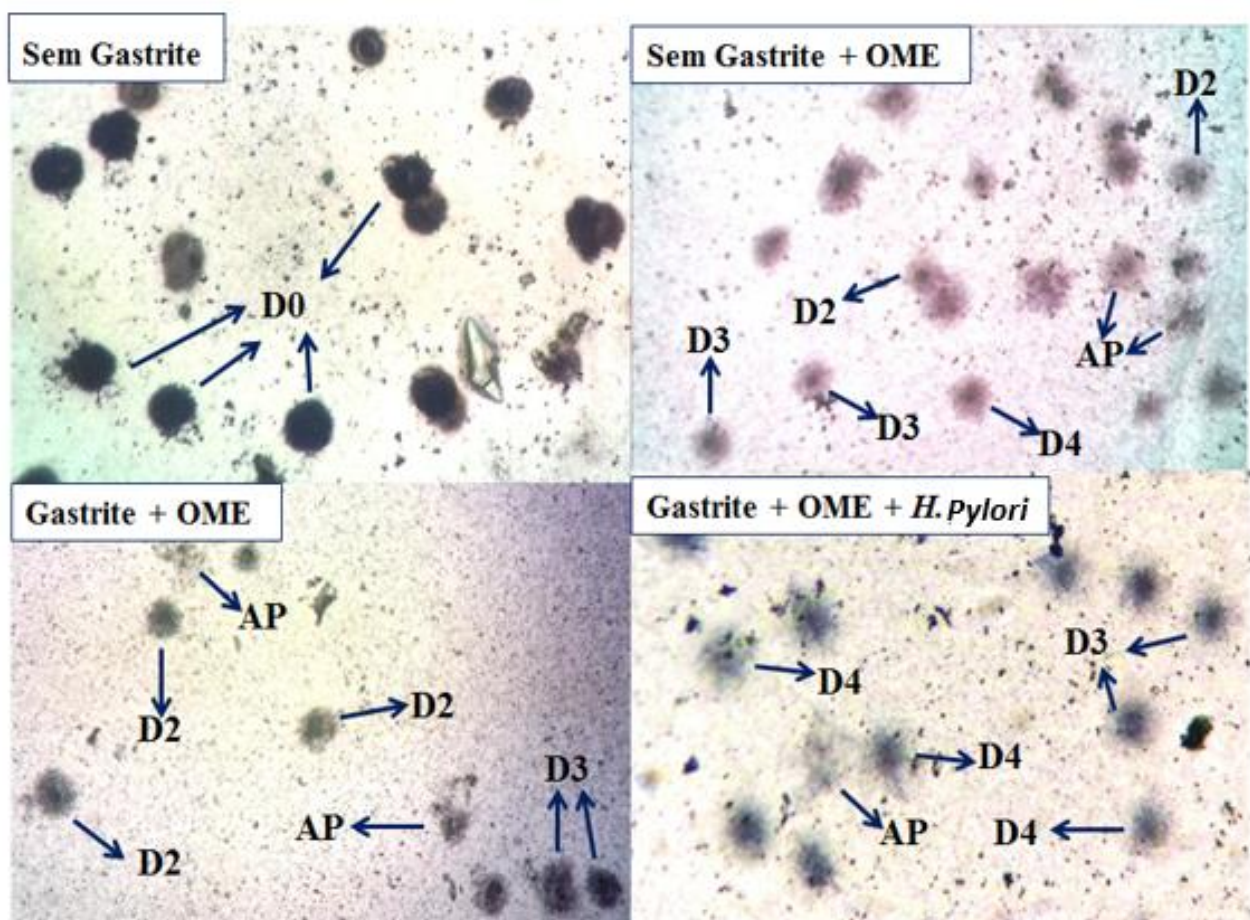
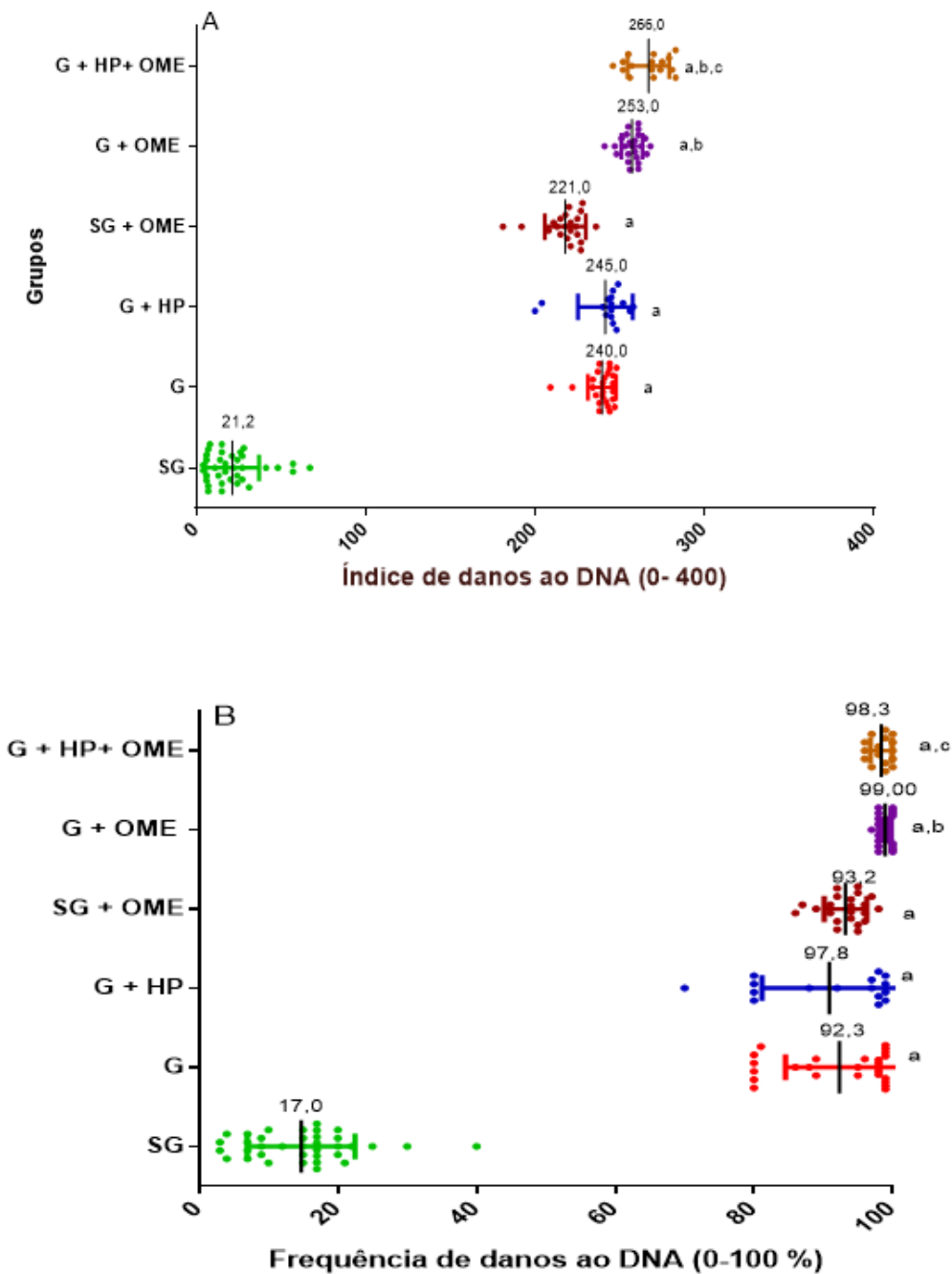


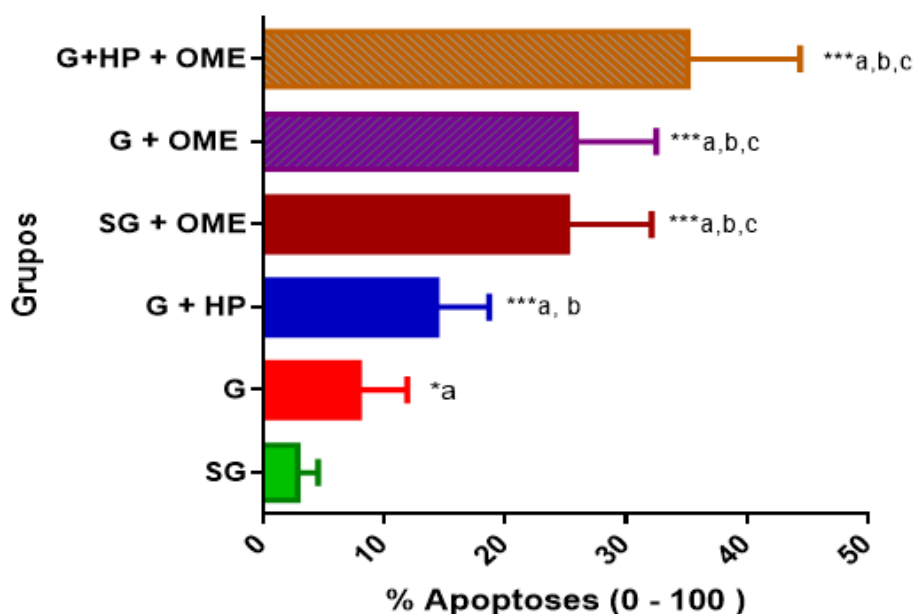
Figura 2 - Danos genotóxicos em linfócitos de pacientes em terapias com Omeprazol avaliados pelo: **(A)** Índice de Danos (ID) e **(B)** Frequência de Danos (FD). **SG** (Sem Gastrite, n=26); **G** (Gastrite-n=26); **G+HP** (Gastrite + *H.pylori*, n=16); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, n=22), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, n=26), **G+HP+OME** (Gastrite + *H.pylori* + Omeprazol, n=16). Os valores representam a média ± D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA (R=0,9850)), seguido do teste de Bonferroni (*post hoc test*) ^ap<0,0001 comparado a SG, ^bp<0,0001 comparado a G, ^cp<0,05 em relação a G+HP.



3.3 Avaliação dos possíveis efeitos apoptóticos da terapia com Omeprazol em sangue periférico de pacientes com e sem gastrite

Os dados apontaram aumentos significantes ($p < 0,0001$) de apoptose para G e G + HP quando comparados ao grupo SG. Entretanto, de forma similar ao observar o ID e FD (**Figura 2**) os danos genotóxicos foram significativamente ampliados ($p < 0,0001$ e $p < 0,05$) durante a terapia com o Omeprazol (**Figura 3**).

Figura 3 - Apoptose em linfócitos de pacientes em terapias com Omeprazol. **SG** (Sem Gastrite, $n=26$); **G** (Gastrite- $n=26$); **G+HP** (Gastrite + *H.pylori*, $n=16$); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, $n=22$), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, $n=26$), **G+HP+OME** (Gastrite + *H.pylori* + Omeprazol, $n=16$). Os valores representam a média \pm D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA ($R=0,9850$)), seguido do teste de Bonferroni (post hoc teste) ^a $p < 0,0001$ comparado a SG, ^b $p < 0,0001$ comparado a G, ^c $p < 0,05$ em relação a G+HP.

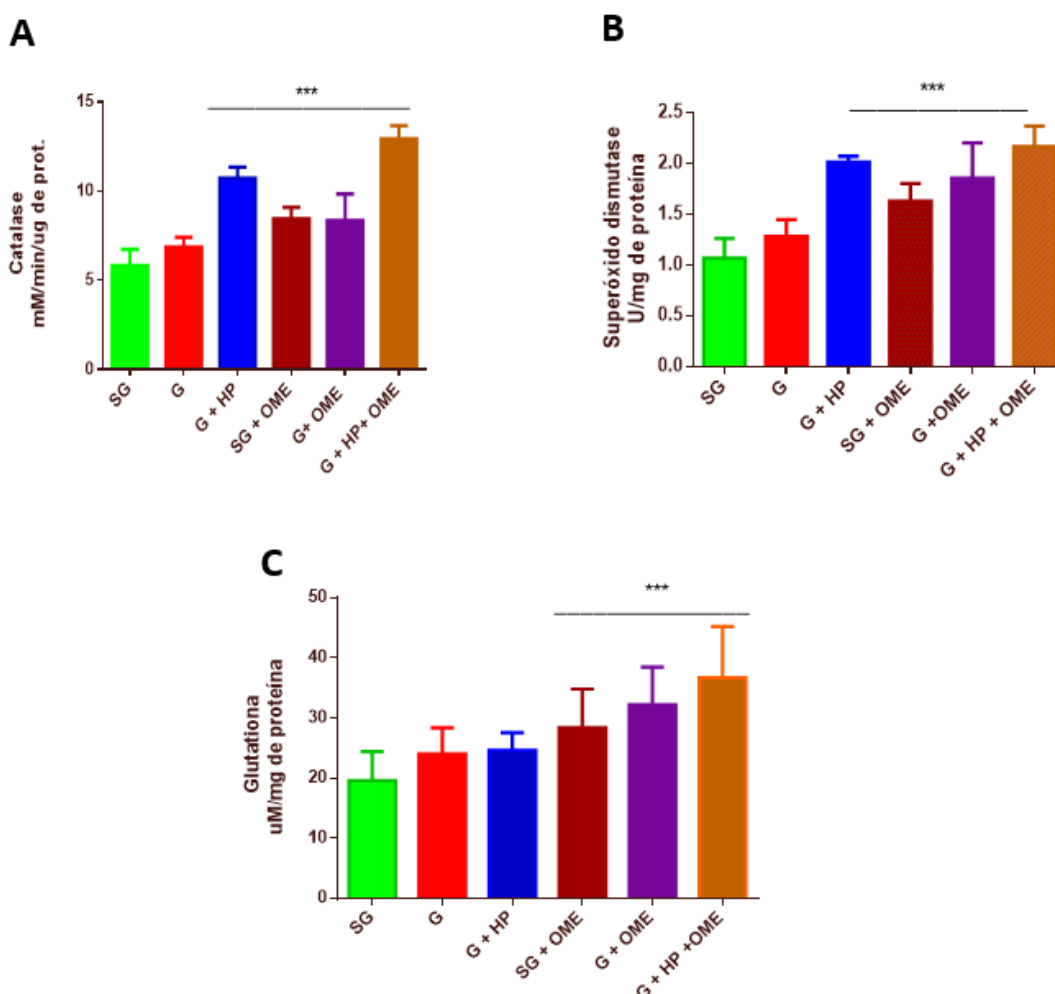


3.4 Avaliação das defesas antioxidantes e danos oxidativo em eritrócitos de pacientes com e sem gastrite

Os dados apontaram aumento significativo ($p < 0,0001$) dos níveis das dosagens de Catalase (CAT) Superóxido Dismutase (SOD) e Glutathiona (GSH) durante a terapia
Dissertação de Mestrado | Ag-Anne Pereira Melo de Menezes

com o Omeprazol (SG + OME, G + OME e G + HP + OME) quando comparado ao grupo SG (**Figura 4**). Os dados demonstraram ainda que o OME e *H. pylori* podem induzir aumento de defesas antioxidantes.

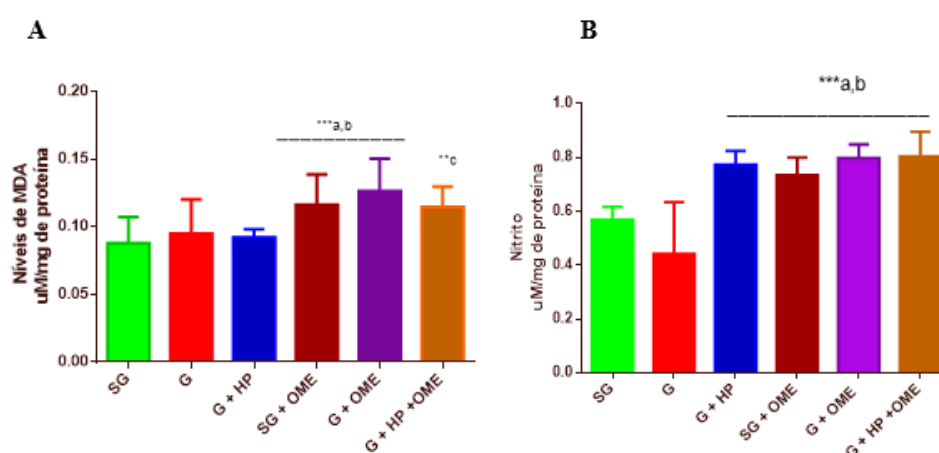
Figura 4 - Perfil das dosagens de enzimas antioxidantes em eritrócitos de pacientes com gastrite em terapias com Omeprazol. Em **A** Catalase, **B** Superóxido Dismutase e **C** Glutaciona. **SG** (Sem Gastrite, n=26); **G** (Gastrite-n=26); **G+HP** (Gastrite + *H.pylori*, n=16); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, n=22), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, n=26), **G+HP+OME** (Gastrite + *H.pylori* + Omeprazol, n=16). Os valores representam a média ± D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA (R=0,9850)), seguido do teste de Bonferroni (*post hoc test*). ***p<0,0001 comparado a SG.



A terapia com OME aumentou significativamente (P<0,0001) os níveis de peroxidação lipídica pela avaliação do conteúdo de MDA em relação ao grupo SG, G e G+HP. Entretanto, em relação ao aumento de nitrito, além dos pacientes em terapia com

Omeprazol, foi observado no grupo G +HP altos níveis de nitrito quando comparados com os grupos G e SG (**Figura 5**).

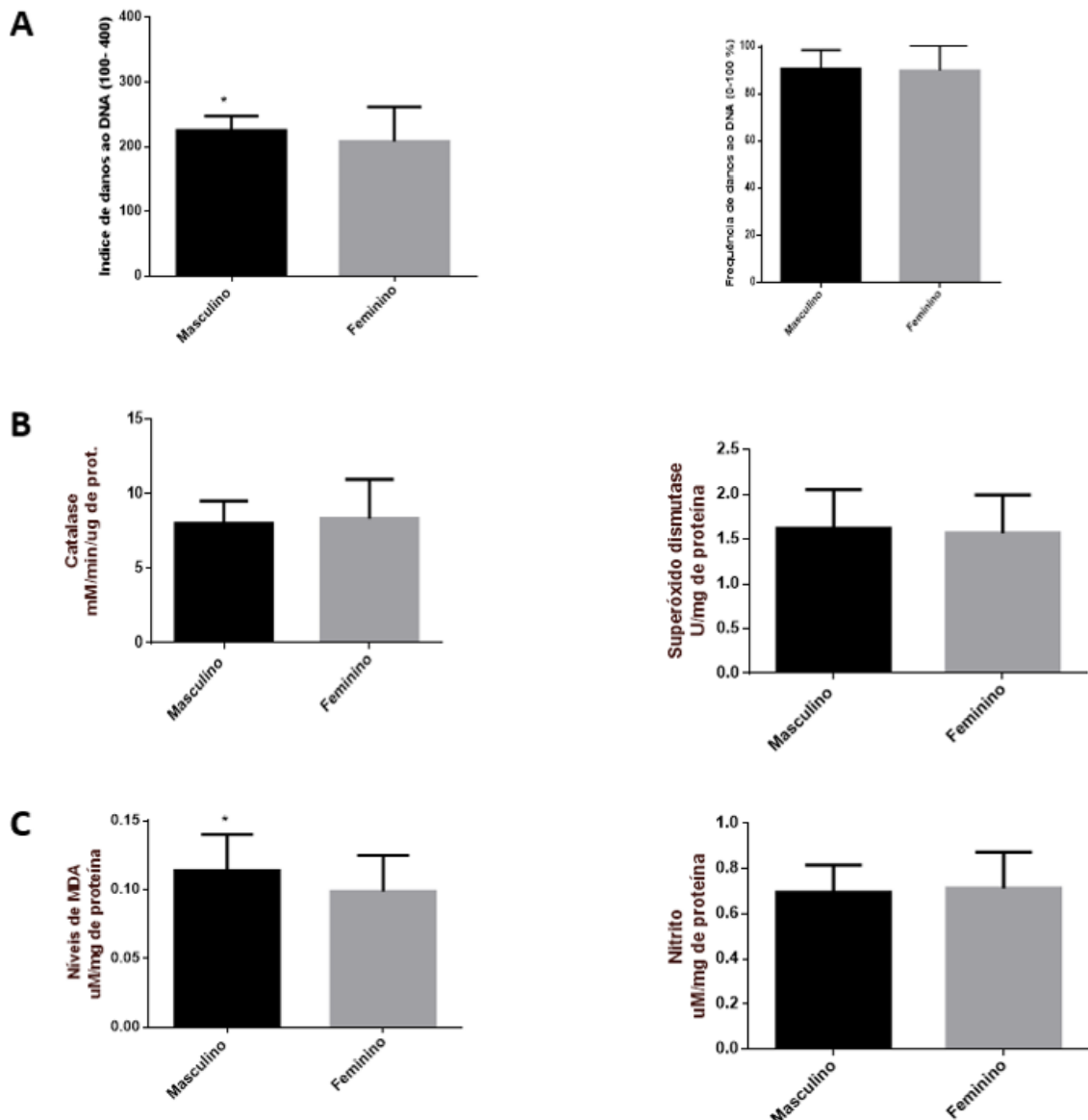
Figura 5 - O Omeprazol no aumento dos níveis de peroxidação lipídica (**A**) e de nitrito (**B**) em eritrócitos de pacientes com gastrite. **SG** (Sem Gastrite, n=26); **G** (Gastrite, n=26); **G+HP** (Gastrite + *H.pylori*, n=16); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, n=22), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, n=26), **G+HP+OME** (Gastrite + *H.pylori* + Omeprazol, n=16). Os valores representam a média \pm D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA (R=0,3619)), seguido do teste de Bonferroni (*post hoc test*). ***p<0,0001 e **p<0,001, ^a comparado a SG, ^b comparado a G e ^c em relação a G+HP.



3.5 Avaliação das possíveis correlações estatísticas entre os biomarcadores citogenéticos, defesas enzimáticas, danos oxidativos e estilo de vida

Considerando as possíveis diferenças estatísticas entre os sexos em relação aos danos genotóxicos, perfil das defesas antioxidante e danos oxidativos, os resultados apresentam significantes aumentos ($p<0,05$) para ID do sexo masculino em relação ao ID do sexo feminino, como também para os níveis de peroxidação lipídica. Porém, não foram observados significância entre os sexos para enzima SOD, CAT e níveis de nitrito (**Figura 6**).

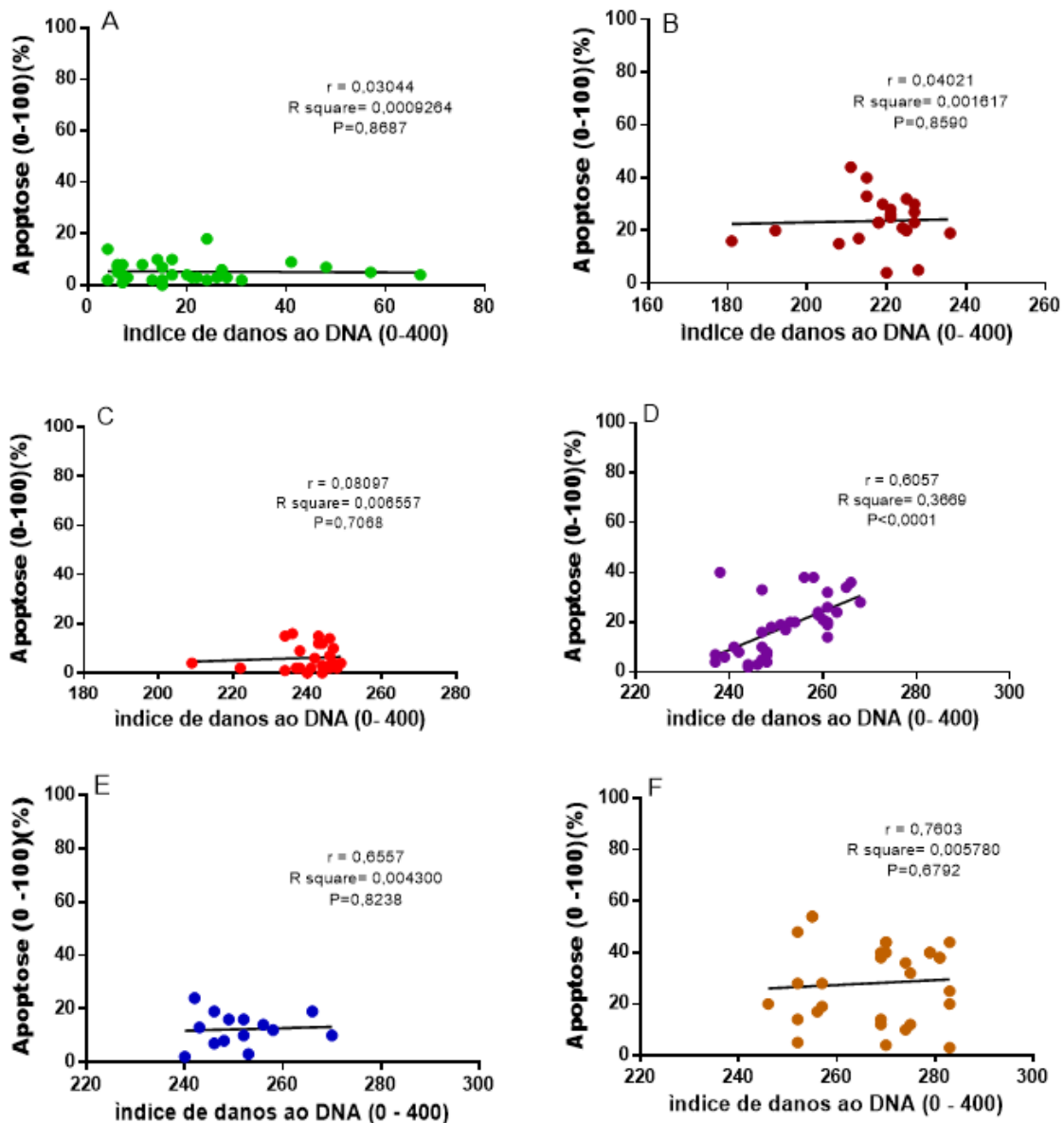
Figura 6 - Diferenças entre os sexos masculino (n=66) e feminino (n=66) em relação às respostas aos danos genotóxicos (A) e perfil de defesas antioxidantes e de danos oxidativos (B e C). **SG** (Sem Gastrite, n=26); **G** (Gastrite-n=26); **G+HP** (Gastrite + *H. pylori*, n=16); **SG+OME** (Sem Gastrite + Omeprazol, n=22), **G+OME** (Gastrite + Omeprazol, n=26), **G+HP+OME** (Gastrite + *H. pylori* + Omeprazol, n=16). Os valores representam a média ± D.P.M. As diferenças entre os grupos foram determinadas por Análise de Variância (ANOVA), seguido do teste de Bonferroni (*post hoc test*) Valores significantes para *p<0,05.



Também foi verificadas possíveis correlações entre ID e apoptose. Os dados apontam que após a análise estatística de correlação de *Pearson r* é possível indicar que apenas o grupo de pacientes com G+OME apresentou significativa correlação positiva (r

= 0,6057; $R\ square = 0,3669$; $P < 0,0001$) entre ID e apoptose, indicando que a terapia com OME pode induzir apoptose (**Figura 7**).

Figura 7 - Correlações de *Pearson r* entre os índices de danos ao DNA e percentuais (%) de apoptoses em linfócitos de pacientes em terapias com Omeprazol. **A** (Sem Gastrite); **B** (Sem Gastrite + Omeprazol); **C** (Gastrite); **D** (Gastrite + Omeprazol); **E** (Gastrite + *H. pylori*) e **F** (Gastrite + *H. pylori* + Omeprazol).



Foram realizados através de análise estatística a correlação de *Pearson r* entre os marcadores citogenéticos, enzimáticos, oxidantes e os parâmetros sócio cultural dos pacientes. Os resultados apontam correlação positiva entre ID e FD em SG (0,778**;
Dissertação de Mestrado | Ag-Anne Pereira Melo de Menezes

0,008); G (0,996**; 0,000); SG+OME (0,815**; 0,008); G+OME (0,800**; 0,000) e G+HP+OME (0,931**; 0,000). Significante correlação positiva entre ID e CAT foram observadas em paciente do grupo G (0,900**; 0,037) e SG+OME (0,757*; 0,039), bem como para ID e nitrito no grupo SG+OME (0,757*; 0,039). No grupo G+HP foi observado influência do tabagismo com aumento de nitrito (0,963**; 0,002). De forma similar ao observado ao estresse oxidativo no grupo G+HP+OME em relação ao aumento de SOD (0,823*; 0,023). No grupo G e SG+OME foi observado aumento de ID positivamente correlacionado a exposição a químicos (0,997**; 0,003). No grupo SG+OME foram observadas correlações positivas (0,963**; 0,002) entre consumo de carne e nitrito e correlações negativas (- 0,778*; 0,008) entre consumo de vegetais e FD. No grupo G+OME foi encontrado correlação entre a prática de exercícios físicos com o aumento de CAT (0,526*; 0,025) (**Tabela 3**).

Tabela 3 - Correlações de *Pearson r* significantes entre os biomarcadores citogenéticos, enzimáticos, oxidativos e parâmetros sócio culturais e de saúde em pacientes em terapias com Omeprazol.

Grupos	Correlações (Valor de <i>Pearson r</i> e de P)
SG	ID <i>versus</i> FD (0,778**; 0,008)
G	ID <i>versus</i> FD (0,996**; 0,000) ID <i>versus</i> CAT (0,900**; 0,037) Exposição a químicos <i>versus</i> ID (0,997**; 0,003)
G+HP	Tabagismo <i>versus</i> Nitrito (0,890*; 0,043)
SG +OME	ID <i>versus</i> FD (0,815**; 0,008) ID <i>versus</i> CAT (0,757*; 0,039) ID <i>versus</i> Nitrito (0,963**; 0,002) Consumo de vegetais <i>versus</i> FD (- 0,778*; 0,008) Exposição a químicos <i>versus</i> ID (1,000**; 0,009) Consumo de carnes <i>versus</i> nitrito (0,963**; 0,002)
G + OME	ID <i>versus</i> FD (0,800**; 0,000) Exercícios Físicos <i>versus</i> CAT (0,526*; 0,025)
G+HP +OME	ID <i>versus</i> FD (0,931**; 0,000) Tabagismo <i>versus</i> SOD (0,823*; 0,023)

SG(Sem Gastrite); G (Gastrite); G+HP (Gastrite+*H. pylori*); SG+OME (Sem Gastrite+Omeprazol); G+OME (Gastrite+Omeprazol); G+HP+OME (Gastrite+*H. pylori*+Omeprazol). Os valores representam o valor de *Pearson r* e de significância para *p<0,05 e **p < 0,001)

4 DISCUSSÃO

A gastrite crônica, inflamação da mucosa do estômago, é uma precursora para alterações patológicas mais severas, como a úlcera péptica e o câncer gástrico (GRAHAM, 2014; DIAS et al., 2015), sua complicação pela infecção por *Helicobacter pylori*, exposição a ácido e pepsina pela mucosa gástrica, amplia os riscos da progressão da gastrite para o câncer (EBULE, LONGDOH, PALOHEIMO 2013; GRAHAM, 2014). O *H. pylori* é descrito como uma bactéria gram negativa cujo reservatório é o estômago humano (MACHADO et al., 2008; CARTAGENES et al., 2009). Além desse aspecto, o *H. pylori* está associado ao carcinoma gástrico (CaG) por induzir o aumento de espécies reativas e estimular a produção de oncoproteínas, a exemplo do *citotoxin antigen associated* (CagA) (WADHWA et al., 2014). No experimento realizado em gerbilos da Mongólia infectados com *H. Pylori* e tratados com OME durante 6 meses, houve um aumento de 60% dos casos de adenocarcinoma e 7% nos infectados com a bactéria sem tratamento com OME, em relação ao grupo sem tratamento e sem *H. Pylori* que não houve casos de adenocarcinoma (HAGIWARA et al., 2011).

A caracterização toxicogenética de substâncias possivelmente indutoras de instabilidade genética assume importância na saúde humana (ZEIGER et al., 2015). Muitos fármacos podem ser carcinógenos por mecanismos associados à genotoxicidade (LEE et al., 2014) e, assim devem ser considerados os benefícios diante dos riscos (BRAMBILLA, MATTIOLI, MARTELLI, 2010; BRAMBILLA, MARTELLI, 2009; DOWNES, FOSTER, 2015). Nos grupos sem tratamento com OME foram observados danos genotóxicos em linfócitos de sangue periférico de pacientes com gastrite sem e com *Helicobacter pylori* em comparação ao grupo de pacientes sem diagnóstico endoscópico para gastrite (**Figuras 1 e 2**), como observado nos resultados do ensaio cometa. Esses danos foram ampliados com a terapia do OME. O teste tem sido amplamente aplicado como ferramenta de biomonitoramento em humanos e os biomarcadores citogenéticos tem sido utilizado para avaliar os potenciais efeitos genotóxicos, com a finalidade de detectar diferentes tipos e níveis de dano do DNA em diferentes tipos de células (WOOD et al., 2015; ARSHAD et al., 2016; LEE; KIM; KANG, 2017; HAZUKOVÁ et al. 2017). Entretanto, os danos evidenciados com o teste cometa podem ser reparados (MALUF; ERDTMANN, 2001).

Existem estudos em ratos mostrando que o OME pode ser associado covalentemente com o DNA (BURLINSON et al., 1990), como também induzir a formação de aberrações cromossômicas e de micronúcleos (ROSENKRANZ; KJOPMAN, 1991). A genotoxicidade do OME também foi evidenciada por mecanismos associados ao aumento de síntese de DNA não programada, e atividade proliferativa celular, pela ornitina descarboxilase (ODC) (FURIHATA; HIROSE; MATSUSHIMA, 1991), um marcador de proliferação celular e desenvolvimento de câncer (LANGE, 2014). O OME tem a capacidade de aumentar o conteúdo do DNA na mucosa, e isso, pode resultar em estimulação de proliferação celular, podendo ser o primeiro passo de carcinogênese (WETSCHER, 1999). Esse efeito proliferativo do OME também é relatado pelo aumento do receptor β de colecistoquinina 2 (CCK2) e o antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) (LIU et al., 2016; ZHENG et al., 2016).

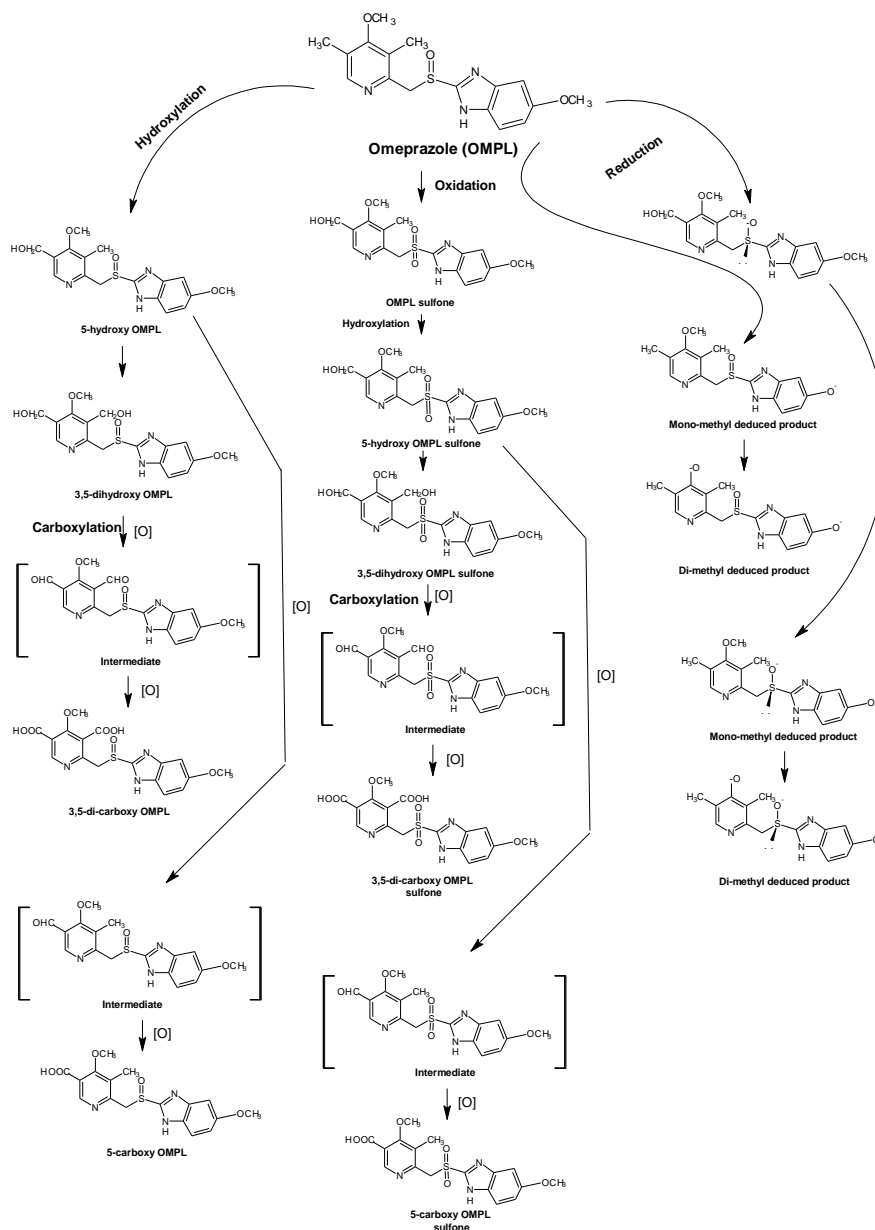
O OME pode ser ativado a pH ácido na luz gástrica e, após modificações químicas, torna-se reativo em relação a um grupo tiol (SH) da $K^+ / H^+ -ATPase$ que forma um dissulfureto misto, responsável pela inibição da bomba de prótons através da ligação covalente com os resíduos de cisteína (TONAZZI; EBERINI; INDIVERI, 2013), em uma de suas formas metabolizadas. A reatividade dos grupos sulfonamidas dependem do pH, quando o pH se encontra cerca de 1 no estômago rapidamente o OME é convertido para sua forma contendo sulfonamida. Existem relatos do seu potencial genotóxico do seu derivado sulfenamida, que é altamente ativo (um inibidor de $H^+, K^+ -ATPase$) e tem potencial eletrofílico identificado, capaz de provocar ataques ao DNA (ROSENKRANZ; KJOPMAN, 1991; POWERS; LAWTON; MODLIN, 1995). Porém, estudos em células parietais da mucosa gástrica de coelhos o OME, em condições de formação de sulfonamida, não foi genotóxico. Esse estudo também aponta que o OME não induz quebra de fitas simples no DNA através do método de eluição alcalina (FRYKLUND; FALKNAS; HELANDER, 1992).

O OME inibi a bomba de ácido gástrico na célula parietal, liberando metabolitos sulfona, sulfito e hidroxí-omeprazol e é completamente metabolizado no fígado (YANAGIHARA, 2015), esses compostos podem gerar danos ao DNA. As enzimas CYP1A1 e CYP1A2 estão envolvidas no metabolismo de algumas moléculas de caráter farmacológico e na bioativação de determinadas substâncias, cujos metabolitos apresentam perfil toxicológico mais marcado, possuindo uma maior capacidade de

danos biológicos sendo quimicamente indutores carcinogênicos (LEMAIRE, 2004; NOVOTNA et al., 2014).

O omeprazol(5-metoxi-2-[[[4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinil) metil] sulfinil] -1H-benzimidazole) (OME) através das CYP2C9 / CYP2C19 converte 5-hidroxi OME (LI et al., 2012; NAZIR et al., 2015), que é o principal produto metabólico do omeprazol. Porém a oxidação do 5-hidroxi OME pode se transformar em 5-carboxi OME. Além disso, o omeprazol após a ação da CYP2C19 pode ser hidrolisado para 3,5-hidroxi OME, que após a oxidação também pode se transformar em 3,5-di-carboxi OME. A oxidação no enantiômero S, que ocorre pela CYP3A4 (NAZIR et al., 2015). A sulfonamida é o primeiro metabolito por esta via, que por ação da CYP2C19 pode gerar produtos de hidroxilação 5-hidroxi OME sulfona e 3,5-OME sulfona e produtos de carboxilação a 5-carboxi OME e 3,5-di-carboxi OME, respectivamente. A redução não enzimática da OME resulta em um metabolito OME inativo chamado sulfato OME (NAESDAL et al., 1986). Por outro lado, a redução enzimática da OME produz metabolitos ativos de sulfoxido e mono-di-metilo de OME (**Figura 8**).

Figura 8 Possíveis metabólitos do omeprazol OME associados a riscos de genotoxicidade



Com o ensaio cometa também é possível observar células com fragmentação de cromatina (DNA) indicativas de apoptose, por ativação de moléculas pró-apoptóticas (FERREIRA et al., 2010). As lesões causadas ao DNA podem ter como consequência respostas celulares que resultam em apoptoses (HUSSEINI et al., 2005; SPIVAK et al., 2009). O OME induziu significante aumento da frequência de apoptose em linfócitos

de pacientes com gastrite sem e com co-infecção com *H. pylori* (**Figura 3**). O OME por mecanismos associados a oxidação induziu redução da viabilidade celular em células de glândulas gástricas de coelhos (KOHLENER et al., 2010). Também existem estudos relatando o uso do OME em associação com fármacos antitumorais (ISHIGURA et al., 2012) e relatos de sua ação co-adjuvante em tratamento do câncer de colo retal (ZHANG et al., 2017).

Cabe enfatizar que estudos relatam efeitos apoptóticos do OME em células de câncer gástrico humano (HGC-27) (ZHANG et al., 2013), em células de colón pelo aumento da secreção de gastrina aumentando a expressão de resposta imediata X-1 (IEX-1), gene sensível ao estresse (KONDRATYEV et al., 1996; MÜERKÖSTER et al., 2005; MÜERKÖSTER et al., 2008), em carcinoma (MÜERKÖSTER et al., 2008; MÜERKÖSTER et al., 2005), por mecanismos associados a redução de Bcl-2 (BRZOWSKI et al., 2006; MAHMOUD-AWNY et al., 2015; PATLOLLA et al., 2012), BCL-XL (PATLOLLA et al., 2012) e p21 (DENG et al., 1995). Em linhagens celulares o OME também aumenta a taxa de apoptose no tratamento de células em conjunto com o paclitaxel em células quimiorresistentes (HeyA8-MDR, SKOV3-TR) e em células de carcinoma (ES-2, RMG-1) (LEE et al., 2015).

Outros estudos apontam o mesmo efeito em cultura de neutrófilos polimorfonucleares humanos em que houve o aumento da caspase 3 (CAPODICASA et al., 2008) proteína apoptótica (LIU et al., 2016). Mas os dados ainda são controversos, pois estudos também apontam que o OME reduz apoptoses via redução da caspase 3 em lesões gástricas em ratos (LOU et al., 2013; LI; HELANDER, 1996; LIU et al., 2016).

Os radicais livres são tóxicos para tecidos e órgãos causando lesão celular, necrose e apoptose. A apoptose possui diversos critérios morfológicos principais como o encolhimento celular, condensação e marginalização da cromatina nuclear, vacuolização citoplasmática e a fragmentação do DNA (KANDUC et al., 2002). As alterações na mucosa estomacal, induzidas pelo OME, amplificam o estresse oxidativo resultante de uma gastrite. Assim, o OME pode lesar a mucosa gástrica (KOHLENER et al., 2010). Em nível molecular, a hipo ou acloridria desencadeia a formação de N-nitrosaminas, que também podem ocasionar fragmentação nuclear, induzindo danos ao DNA e provocar a síntese de anomalias nucleares, como micronúcleos, picnose e cariorrexe (MERETO; GHIA; MARTELLI, et al., 1993; THONGON; KRISHNAMRA,

2011; NOVOTNA; SROVNALOVA; SVECAROVA 2014).

O OME induziu estresse oxidativo em linfócitos de sangue periférico de pacientes com gastrite, independente de co-infecção com *H. pylori* (**Figura 4**). O estresse oxidativo pode ser avaliado através das defesas antioxidantes, a exemplo das defesas endógenas feitas pela superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), e não enzimática pela glutathione redutase (GSH). Cabe enfatizar que essas proteínas são de extrema importância por diminuírem a injúria causada por mecanismos oxidantes (GLORIEUX; CALDERON, 2017). Para os níveis de CAT, SOD e GSH houve aumento significativo em todos os grupos de pacientes em terapia com o OME e G + HP, porém esse aumento não foi observado para os níveis de GSH no grupo G + HP, como apresentado na **Figura 4**. O aumento dessas enzimas pode estar relacionado ao aumento do estresse oxidativo decorrente do excesso de ERO's, demonstrando uma relação através superprodução de espécies oxidantes que estimula os mecanismos antioxidantes celulares (BALDISSERA; CRUZAT, 2014).

O papel da GSH também é importante na defesa das lesões induzidas por estresse oxidativo, servindo como doador de elétrons para outras enzimas de eliminação de radicais livres (MUTHURAMAN; SOOD, 2010; WANG, 2017). Cabe a SOD promover a dismutação do O_2^- transformando assim em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), a CAT é responsável pela eliminação de H_2O_2 levando a formação de água para manter os níveis de ERO's baixos nos organismos (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Uma enzima é complementar a outra, deste modo explicaria a correlação de elevação entre o aumento de SOD e CAT para combater uma superprodução de ERO's (GARCEZ et al., 2004), como observado no estudo. O H_2O_2 possui papel fundamental no processo metabólico sob condições fisiológicas e patológicas, assim, foi necessário o organismo desenvolver múltiplos sistemas de manutenção de níveis de H_2O_2 para a homeostase, como as catalases, glutathione redutases e peroxidases, peroxirredutases, superóxidos dismutases dentre outros (TOVMASYAN et al., 2015).

Apesar do aumento das defesas antioxidantes de pacientes com gastrite e co-infecção com o *H. pylori* (**Figura 4**), estudos relatam que a bactéria tem componentes de resistência ao estresse oxidativo, como superóxido dismutase ferro-cofator (SodB), catalase (KatA) e hidoperóxido redutase (AhpC), tioredoxinas e tioperoxidases, além de produzir urease, que participa do metabolismo de nitrogênio, resistência ao ácido gástrico e virulência (KUSTERS; VAN VLIET; KUIPERS, 2006). Além desse aspecto,

Goyal e Basak (2010) afirmam que em condições anaeróbicas, alguns microorganismos parasitas precisam de CAT como forma de proteção ao H₂O₂ produzido no organismo hospedeiro. Já foi determinado também uma correlação entre danos no material genético e capacidade antioxidante (LEE; KIM; KANG, 2017). Foi demonstrado também que o OME em linhagem de linfócitos T (Jurkat T) cliva a enzima poli (ADP-ribose) polimerase (PARP-1) (SCARINGI et al., 2004) que é envolvida na estabilidade do DNA e sua inibição decorre devido a danos genotóxicos que levam a diminuição das taxas de reparo do DNA e aumento de ERO's (NIKOLETOPOULOU et al., 2013).

Para avaliar os possíveis mecanismos de indução de estresses oxidativo também foram analisados em eritrócitos dos pacientes o nível de peroxidação lipídica e de nitrito como observados na **Figura 5**. A terapia com OME aumenta significativamente os níveis de MDA em relação ao grupo SG, G e G+HP. O MDA é um marcador de estresse oxidativo devido este ser o produto da peroxidação lipídica, principal efeito de lesão mediada por radicais livre causando danos a membrana celular (CHEN et al., 2014). Em relação ao aumento de nitrito além dos pacientes em terapia com OME, foi observado nos grupos G +HP, que apresentaram altos níveis de nitrito quando comparados com os grupos G e SG. O OME através da inibição do ácido clorídrico leva a mudanças importantes no meio gástrico quem tem impactos sistêmicos e o aumento do pH, pela inibição da bomba de prótons, diminui a proteção natural gástrica levando a colonização de bactérias nitrozantes que produzem compostos nitrosos, estes são capazes de induzir efeitos mutagênicos com potenciais iniciadores de carcinogênese (ZIEBARTH; SPIEGELHALDER; BARTSCH, 1997), o que explica a elevação de micronúcleos em linfócitos de sangue periférico de Sinués et al., (2004). Entretanto, outros estudos indicam que o efeito mutagenico do OME não ocorre pela ação direta com o DNA (SCOTT ET AL., 1990; SACHS ET AL., 1990) e os estudo de Taneja et al., (2017) indicaram correlações positivas entre compostos nitrosos em ratos e o risco de desenvolvimento de câncer gástrico.

O OME induz aumento de peroxidação lipídica, como observado pelo aumento do conteúdo de MDA, bem como pelo aumento de nitrito (**Figura 5**). Igualmente aos nossos resultados, foi observado que o estresse oxidativo medido pelo MDA, CAT e SOD é mais elevado em homens do que em mulheres (IDE et al., 2002). De acordo com a estimativa do INCA, o câncer de estomago esta entre os dez tipos de câncer mais

incidentes estimados para 2016, com cerca de 12.920 (6%) novos casos para homem e 7.600 (3,7%) para mulheres (INCA, 2015), colaborando com os nossos achados do estudo.

Bloomer; Richard e Fisher-Wellman (2010) ressaltam também que em resposta pós-prandial a ingestão de lipídeos e os níveis de MDA e peróxido de hidrogênio são aumentados no sexo masculino. As espécies reativas do oxigênio são responsáveis por danos mitocondriais como modificações na permeabilidade mitocondrial (KIRKINEZOS et al., 2005), danos na cadeia respiratória (GHEZZI; ZEVIANI, 2012) e danos e mutações no DNA mitocondrial (HOLLENSWORTH et al., 2000). Quebras no DNA de forma constante torna o teste cometa um bom parâmetro indireto do estresse oxidativo (FANG et al., 2015). Níveis elevados de ERO's levam à aceleração do dano oxidativo para proteínas celulares, lipídios da membrana e DNA, bem como apoptoses (PITTALUGA et al., 2015).

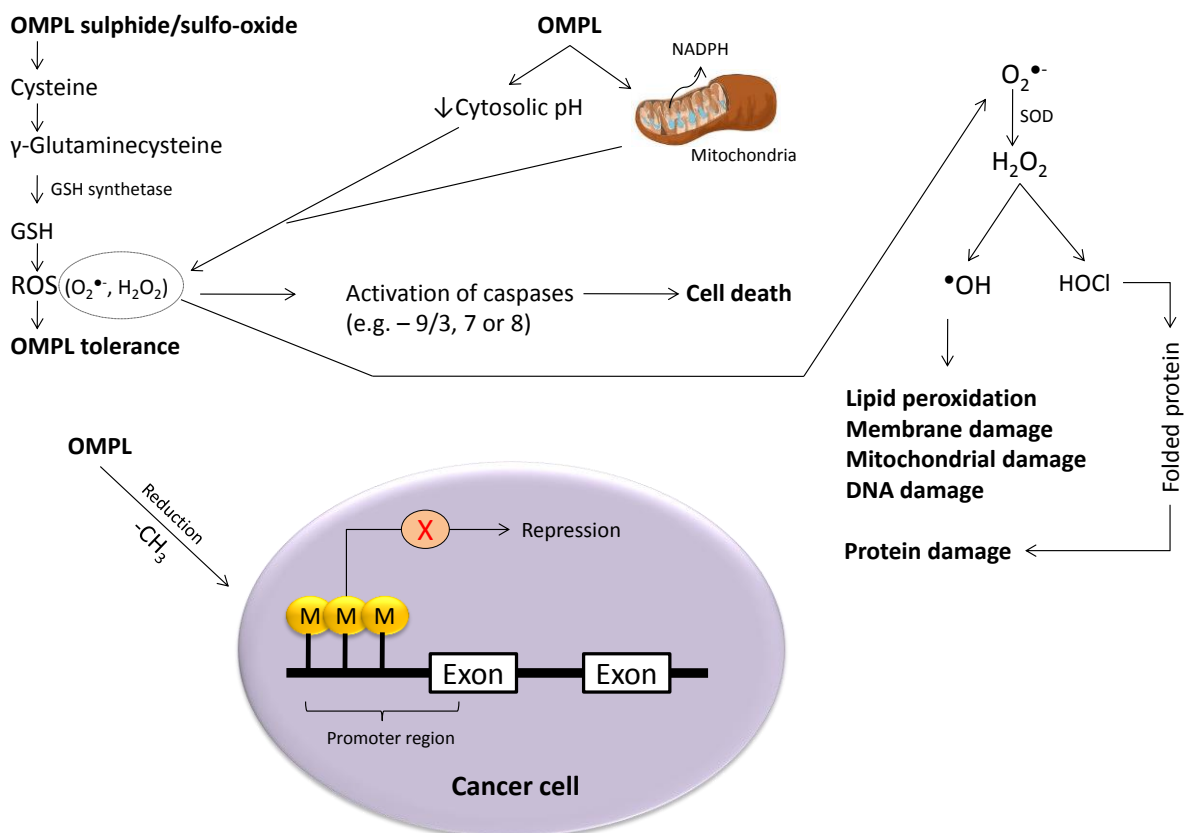
Esses eventos são inter-relacionados e podem ser entendidos como possíveis mecanismos para o risco do câncer induzido pelo uso contínuo do OME (**Figura 9**). Como relatado anteriormente o potencial genotóxico do OME possivelmente pode ser atribuído ao estresse oxidativo, como observado pelas defesas antioxidantes como também pelos mecanismos de indução de peroxidação lipídica e aumento de compostos nitrosos. Assim, é possível sugerir alguns dos mecanismos para a genotoxicidade do OME (**Figura 9**). Cabe lembrar que a glutathiona (GSH) é um tripeptídeo de baixo peso molecular encontrado em baixas concentrações (mM) intracelular em diversos tecidos e células. É o antioxidante mais abundante e este contém um grupo tiol (SH). Esta função tiol é fundamental para a atividade biológica de GSH (SCHMITT et al., 2015). A GSH é sintetizada através da enzima γ -glutamil cisteína sintetase (RAPPA et al., 2003).

A peroxidação lipídica, observado em nosso estudo (**Figura 5**), é caracterizada como uma deterioração de lipídios polissacarídeos pela adição de radicais livres, como o \bullet OH, e abstração de um grupo metileno ($-\text{CH}_2-$), resultando em radicais carbono que podem reagir com o O_2 e formar novos radicais peroxil, dando continuidade assim, a peroxidação lipídica (SCHAUR et al., 2015). Tecidos cancerígenos relacionados à inflamação formam lesões por danos induzidos por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, as quais promovem danos em ácidos nucleicos, proteínas e tecidos (OHNISHI et al., 2013). Wang e colaboradores (2005) realizaram estudos sobre a relação entre SOD e MDA em ensaios com pacientes com carcinoma e úlcera gástricos

onde observaram que: a atividade dos radicais livres produzidos na mucosa gástrica induziu carcinogênese em outros tecidos gástricos; a baixa capacidade antioxidante do tecido gástrico induz carcinogênese; e que em lesões ulcerativas essa capacidade é ainda mais reduzida.

Omeprazol através da NADPH mitocondrial e ao reduzir o pH citosólico pode induzir ROS's (por exemplo, $O_2^{\bullet-}$, H_2O_2). Por outro lado, o sulfato de OME e os seus metabolitos de sulfóxido através da γ -glutaminecisteína podem estimular a GSH, que também é responsável pela indução de ROS's. Estas espécies reativas ativam caspases, como a exemplo a 3/9, 7 e 8, levando a morte celular. Além disso, a SOD converte $O_2^{\bullet-}$ para H_2O_2 que pode produzir mais OH e HOCl. O primeiro é responsável por causar peroxidação lipídica e danos à membrana, mitocôndria e DNA, enquanto HOCl causa danos às proteínas. Além disso, os metabolitos de redução OME que podem liberar o grupo metil ($-CH_3$) que podem metilar a molécula de DNA e causar câncer (**Figura 9**).

Figura 9 - Possíveis sugestões para mecanismos dos metabolitos do OME frente aos riscos para o câncer



Estudos de correlações estatísticas de *Pearson* foram feitos para análises de fatores de interferência nos danos genotóxicos do OME e os dados apresentados nas **Figuras 6 e 7** e na **Tabela 4** apontaram correlações entre os biomarcadores citogenéticos e entre estes com os aspectos socioculturais, de saúde e estilo de vida. Significante correlação positiva foi observada entre ID e CAT em pacientes do grupo G e G+OME podendo ser da própria patologia, pois após ocorrido a lesão gástrica, o tecido é parcialmente oxidado (CHENG et al.,2014). De forma similar, ao estresse oxidativo no grupo G+HP+ OME em relação ao aumento de SOD, pois o desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e a produção de ERO's podem levar a danos celulares como a oxidação de proteínas, peroxidação lipídica e degradação do DNA (PEY at al., 2017; SIES at al.,2017).

No grupo G+HP foi observado influência do tabagismo com aumento de nitrito. O hábito de fumar e o aumento os teores de nitratos e nitritos são fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de estômago (MENEZES et al., 2002; MONTEIRO et al., 2009). O tabagismo, associados a outros fatores como o álcool, podem resultar em morte celular e danos celulares, como hiperproliferação podendo levar a mutação de oncogênese ou gene supressor de tumor resultando em carcinogênese (VIEIRA; SOUSA, 2015). Os ID e FD observados nos pacientes sem gastrite com o uso de OME apresentaram correlação positiva entre ID e níveis de CAT e de nitrito. Entretanto, o aumento dos níveis de nitrito pode ser também atribuído ao consumo de carne. O consumo de carne vermelha é outro fator de riscos para o câncer e alimentos embutidos, conteúdo nitritos e nitratos, que são importantes agentes carcinogênicos induzem a formação de células tumorais, devido ao aumento de composto nitrosos, que são relacionados com o aumento de radicais livres (GARÓFOLO et al., 2004).

Também foi observada correlação negativa entre consumo de vegetais e FD no grupo SG+OME. Os antioxidantes presentes na dieta são importantes fontes de defesas contra danos oxidativos causados pela ação dos radicais livre, a exemplo as vitaminas E, A e C em contras frutas e verduras (TURECK et al., 2017). Alguns alimentos contendo nutrientes antioxidantes são protetores e/ou quimiopreventivos, pois poderia reduzir o risco de câncer iniciados por danos oxidativos ao DNA (GASPAROVIC et al., 2013).

A exposição a químicos foi correlacionada com o aumento de ID no grupo G (**Tabela 3**). Como apresentado na **Tabela 1** os pacientes relataram exposição a

materiais de limpeza e estudos apontam genotoxicidade para esses produtos químicos (EVERATT et al., 2013). Existem relatos de genotoxicidade pelo aumento de ID em mulheres expostas a produtos de limpeza (TORAASON et al. 2003), como também em homens (AZIMI et al., 2017). Muitos produtos químicos ambientais, ocupacionais e industriais são capazes de gerar estresse oxidativo e possivelmente a danos genotóxicos, o que contribui para o desencadeamento de várias doenças humanas dentre elas o câncer (ERKEKOGLU; KOCER-GUMUSEL, 2014). Materiais de limpeza utilizados contém diversos ingredientes ativos como antimicrobianos e são comercializados em diversas formulações são relatados como genotóxicos (CAPKIN et al., 2017), a exemplo do triclosan (PERENCEVICH; WONG; HARRIS, 2001; LIN et a., 2014), percloroetileno (AZIMI et al., 2017), 2-butoxietanol (CORTHALS; KAMENDULIS; KLAUNIG, 2006), ftalatos (ERKEKOGLU; KOCER-GUMUSEL, 2014).

No grupo G+OME foi encontrado correlação entre a prática de exercícios físicos com o aumento de catalase. Já é relatado que o um aumento do nível de nitrito no plasma de pessoas que praticam atividade física. Davison (2016), em seus estudos, quantificou em células humanas, por meio do ensaio cometa, o potencial do exercício de alta intensidade de promover danos ao DNA por meio da produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (principalmente de $\bullet\text{OH}$) e de nitrogênio, as quais podem prejudicar a função celular por modificação oxidativa dos ácidos nucleicos e, conseqüentemente, a instabilidade genética. Buresh e Berg (2015) discorre sobre os benefícios da adaptação do exercício físico, onde durante a sua execução há aumento da formação de EROs, bioproduto tóxico da contração muscular ou metabolismos de oxigênio, porém, com a adaptação do treino, há a regulação do estado redox para promover a saúde, bem como, resistência ao desenvolvimento de doenças crônicas, pela redução artificial de EROs. A produção de EROs durante o exercício físico é regulada por uma resposta sinérgica entre o sistema antioxidantes endógeno e antioxidantes ingeridos na dieta. O sistema antioxidante se adapta ao treinamento pela manutenção do sistema redox, para contrabalancear os efeitos prejudiciais das EROs (KHANI et al., 2017). Assim, diante do exposto, o estudo aponta a necessidades do biomonitoramento dos riscos de instabilidades genética em terapias com o OME, como uma estratégia para a prevenção do câncer.

5 CONCLUSÃO

A terapia com omeprazol (OME) induz alterações no material genético de linfócitos de sangue periférico em pacientes com gastrite, independente da co-infecção com *H. pylori*, pelo aumento do índice (ID) e frequência de danos (FD), bem como por indução de apoptoses (AP). Esses danos genotóxicos podem ser possivelmente ocasionados por estresse oxidativo, como observado pelo aumento das defesas antioxidantes endógenas pelo aumento da catalase e da superóxido dismutase e da glutatona reduzida. Dentre os mecanismos para indução de danos oxidativos foi possível apontar que o OME induz aumento de peroxidação lipídica e de nitrito. Correlações estatísticas foram observadas entre ID e FD e entre estes e a apoptose. O ID foi correlacionado positivamente com o aumento de catalase. Exposição a químicos e baixo consumo de vegetais foram relacionados com a genotoxicidade e o consumo de carnes com o aumento de nitrito. Os exercícios físicos foram correlacionados com o aumento da catalase e o hábito de fumar com o aumento da superóxido dismutase. Cabe enfatizar a importância da associação entre a avaliação de genotoxicidade, com o ensaio cometa, e os parâmetros de estresse oxidativos e defesas antioxidantes em estudos de biomonitoramento de terapias do OME para prognósticos em relação aos riscos de instabilidade genética.

REFERÊNCIAS

- ALQASOUMI, S.; AL-SOHAIBANI, M.; AL-HOWIRINY, T.; AL-YAHYA, M.; RAFATULLAH, S. Rocket "Eruca sativa": a salad herb with potential gastric anti-ulcer activity. **World Journal of Gastroenterology**, v. 15, p. 1958-1965, 2009.
- AL-SAYED, E.; EL-NAGA, R. N. Protective role of ellagitannins from *Eucalyptus citriodora* against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Impact on oxidative stress, inflammation and calcitonin-gene related peptide. **Phytomedicine**, v. 22, n. 1, p. 5-15, 2015.
- ARALDI, R. P.; DE MELO, T. C.; MENDES, T. B.; DE SÁ JÚNIOR, P. L.; NOZIMA, B. H. N.; ITO, E. T.; DE CASSIA STOCCO, R. Using the comet assays for genotoxicity studies: A review. **Biomedicine & Pharmacology**, n. 72, p. 74-82, 2015.
- ARSHAD, M.; SIDDIQA, M.; RASHID, S.; HASHMI, I.; AWAN, M. A.; ALI, M. A. Biomonitoring of Toxic Effects of Pesticides in Occupationally Exposed Individuals. **Safety and Health at Work**, v. 7, n. 2, p. 156-160, 2016.
- ARTHUR, J.R.; BOYNE, R. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in neutrophils from selenium deficient and copper deficient cattle. **Life Sciences**, v. 36, n. 16, p. 1569-1575, 1985.
- AZIMI, M.; BAHRAMI, M. R.; HACHESU, V. R.; REZA, J. Z.; MIHANPOUR, H.; SAKHVIDI, M. J. Z.; MOSTAGHACI, M. Primary DNA Damage in Dry Cleaners with Perchloroethylene Exposure. **The International Journal of Occupational and Environmental medicine**, v. 8, n. 4 October, p. 1089-224-31, 2017.
- BALDISSERA, F. G.; CRUZAT, V. F. Estresse oxidativo, qualidade de vida e exercício: uma abordagem nutricional. In: WINKELMANN, E. R.; BERLEZI, E. M. **Atenção Integral à Saúde**. Ijuí: Ed. Unijuí, 2014.
- BALLWEG, R.; SCHOZER, F.; ELLIOTT, K.; KUHN, A.; SPOTTS, L.; AIHARA, E.; ZHANG, T. Multiscale positive feedbacks contribute to unidirectional gastric disease progression induced by helicobacter pylori infection. **BMC Systems Biology**, v. 11, n. 1, p. 111, 2017.
- BANSAL, V. K.; GOYAL, S. K.; GOSWAMI, D. S.; SINGLA, S.; RAHAR, S.; KUMAR, S. Herbal approach to peptic ulcer disease- REVIEW. **Journal of Bioscience and Technology**, v. 1, n. 1, p. 52-58, 2009.
- BLOOMER, RICHARD, J.; FISHER-WELLMAN, K. H. Lower postprandial oxidative stress in women compared with men. **Gender Medicine**, v. 7, n. 4, p. 340-349, 2010.
- BRAMBILLA, G.; MARTELLI, A.; Genotoxicity and carcinogenicity studies of analgesics, anti-inflammatory drugs and antipyretics; **Pharmacological Research**, v. 60, p. 1-17, 2009.
- BRAMBILLA, G.; MATTIOLI, F.; MARTELLI, A. Genotoxic and carcinogenic effects of gastrointestinal drugs. **Mutagenesis**, v. 25, n. 4, p. 315-326, 2010.

- BRZOZOWSKI, T.; Konturek, P. C.; Mierzwa, M.; Drozdowicz, D.; Bielanski, W.; Kwiecien, S.; Hahn, E. G. Effect of Probiotics and Triple Eradication Therapy on the Cyclooxygenase (COX)-2 Expression, Apoptosis, and Functional Gastric Mucosal Impairment in *Helicobacter pylori*-Infected Mongolian Gerbils. **Helicobacter**, v. 11, n. 1, p. 10-20, 2006.
- BURESH, R.; BERG, K. A tutorial on oxidative stress and redox signaling with application to exercise and sedentariness. **Sports Medicine-Open**, v. 1, n. 1, p. 3, 2015.
- BURLINSON, B.; MORRIS, S.H.; GATEHOUSE, D.G.; TWEATS, D.J. Genotoxicity studies of gastric acid inhibiting drugs. **The Lancet**, v. 335, n. 8686, p. 419-420, 1990.
- CAPKIN, E.; OZCELEP, T.; KAYIS, S.; ALTINOK, I. Antimicrobial agents, triclosan, chloroxylenol, methylisothiazolinone and borax, used in cleaning had genotoxic and histopathologic effects on rainbow trout. **Chemosphere**, v. 182, p. 720, 2017.
- CAPODICASA, E.; CORNACCHIONEI, B.; NATALINP, A.; BARTOLI, S.; COACCIOLP, P.; MARCONI, P.; SCARING, L. Omeprazole induces apoptosis in normal human polymorphonuclear leucocytes. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 21, n. 1, p. 73-85, 2008.
- CARRANO, A.; NATARAJAN, A. T. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques International Commission for protection against Environmental Mutagens and Carcinogens (ICPEMC publication 14). **Mutation Research**. v. 204, p. 379-406, 1988.
- CARTÁGENES, V. D.; MARTINS, L. C.; CARNEIRO, L. M.; BARILE, K. A.; CORVELO, T. C. *Helicobacter pylori* em crianças e associação de cepas CagA na transmissão mãe-filho na Amazônia brasileira. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 3, p. 298-302, 2009.
- CHANCE, B., MAEHLY, A.C. Assay catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v. 2, p. 764-768, 1955.
- CHEN, S.; ZHU, K.; WANG, R.; HAO, X. Preventive effect of polysaccharides from the large yellow croaker swim bladder on HCl/ethanol induced gastric injury in mice. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 8, n. 1, p. 316-322, 2014.
- CHENG, Y. T.; WU, S. L.; HO, C. Y.; HUANG, S. M.; CHENG, C. L.; YEN, G. C. Beneficial effects of camellia oil (*Camellia oleifera* Abel.) on ketoprofen-induced gastrointestinal mucosal damage through upregulation of HO-1 and VEGF. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 3, p. 642-650, 2014.
- CHUBINEH, S.; BIRK, J. Proton pump inhibitors: the good, the bad, and the unwanted. **Southern Medical Journal**. v. 105, n. 11, p. 613-618, 2012.
- COLLINS, A.R. Measuring oxidative damage to DNA and its repair with the comet assay. **Biochimica et Biophysica Acta**, n. 1840, p. 794-800, 2014.

CORTHALS, S. M.; KAMENDULIS, L. M.; KLAUNIG, J. E. Mechanisms of 2-butoxyethanol-induced hemangiosarcomas. **Toxicological Sciences**, v. 92, n. 2, p. 378-386, 2006.

DAVISON, G. W. Exercise and oxidative damage in nucleoid DNA quantified using single cell gel electrophoresis: present and future application. **Frontiers in Physiology**, v. 7, 2016.

DENG, C.; ZHANG, P.; HARPER, J.W.; ELLEDGE, S.J.; LEDER, P. Mice lacking p21CIP1/WAF1 undergo normal development, but are defective in G1 checkpoint control. **Cell**, 82 : 675 –684, 1995.

DIAS, S. N.; SANTOS, A. P.; PINTO, M.V; FERNANDES, C. K. C.; GONÇALVES, A. F.; SOUZA, S. A. O; MENDONÇA, B. O. M.; ALVES, F. A. B. V. Análise de prontuários de pacientes com gastrite em um hospital na região oeste ii do estado de Goiás. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 8, n. 1, 2015.

DOWNES, N.; FOSTER, J. Regulatory Forum Opinion Piece: Carcinogen Risk Assessment: The Move from Screens to Science. **Toxicologic Pathology**, v.43, n.8, p.1064-73, 2015.

DRAPER, H. H.; HADLEY, M. Malondialdehyde determination as an index of lipid peroxidation. **Methods in Enzymology**, v. 186, p. 421-431, 1990.

EBULE, I. A.; LONGDOH, A. N.; PALOHEIMO, I. L. Helicobacter pylori infection and atrophic gastritis. **African Health Sciences**, v. 13, n. 1, p. 112-117, 2013.

EL-MARAGHY, S. A.; RIZK, S. M.; SHAHIN, N. N. Gastroprotective effect of crocin in ethanol-induced gastric injury in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 229, p. 26-35, 2015.

EL-NAGA, R. N. Apocynin protects against ethanol-induced gastric ulcer in rats by attenuating the upregulation of NADPH oxidases 1 and 4. **Chemico-biological Interactions**, v. 242, p. 317-326, 2015.

ERKEKOGLU, PINAR.; KOCER-GUMUSEL, BELMA. Genotoxicity of phthalates. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 24, n. 9, p. 616-626, 2014.

EVERATT, R.; SLAPŠYTĖ, G.; MIERAUSKIENĖ, J.; DEDONYTĖ, V.; BAKIENĖ, L. Biomonitoring study of dry cleaning workers using cytogenetic tests and the comet assay. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**, v. 10, n. 11, p. 609-621, 2013.

FERREIRA, C. D. S.; MAGANHIN, C. C.; SIMÕES, R. D. S.; GIRÃO, M. J. B. C.; BARACAT, E. C.; SOARES-JR, J. M. Cell death modulator. **Revista da Associação Medica Brasileira**, v. 56, n. 6, p. 715-718, 2010.

FRYKLUND, J.; FALKNAS, A-K.; HELANDER, H.F. Omeprazole does not cause unscheduled DNA synthesis in rabbit parietal cells in vitro. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 27, n. 6, p. 521-528, 1992.

FURIHATA, C.; HIROSE, K.; MATSUSHIMA, T. Genotoxicity and cell proliferative activity of omeprazole in rat stomach mucosa. **Mutation Research Letters**, v. 262, n. 1, p. 73-76, 1991.

GARCEZ, M.; BORDIN, D.; PERES, W.; SALVADOR, M. **Radicais livres e espécies reativas**. In: SALVADOR, M.; HENRIQUE, J. A. P. Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. Ulbra, Canoas, 2004. p. 13-33.

GARÓFOLO, A.; AVESANI, C. M.; CAMARGO, K. G.; BARROS, M. E.; SILVA, S. R. J.; Taddei, J. A. D. A. C.; Sigulem, D. M. Dieta e câncer: um enfoque epidemiológico. **Revista de nutrição**, 2004.

GASPAROVIC, A. C.; JAGANJAC, M.; MIHALJEVIC, B.; SUNJIC, S. B.; ZARKOVIC, N. Assays for the measurement of lipid peroxidation. **Cell Senescence: Methods and Protocols**, p. 283-296, 2013.

GHEZZI, D.; ZEVIANI, M. Assembly factors of human mitochondrial respiratory chain complexes: physiology and pathophysiology. In: **Mitochondrial Oxidative Phosphorylation**. Springer New York, 2012. p. 65-106

GLORIEUX, C.; CALDERON, P.B. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. **Biological Chemistry**, 2017.

GOYAL, M. M.; BASAK, A. Human catalase: looking for complete identity. **Protein & Cell**, v. 1, n. 10, p. 888-897, 2010.

GRAHAM, D. Y. History of Helicobacter pylori, duodenal ulcer, gastric ulcer and gastric cancer. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 20, n. 18, p. 5191, 2014.

GREEN, L. C.; TANNENBAUM, S. R.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in the germfree and conventional rat. **Science**, v. 212, p. 56-58, 1981.

GUNASEKARANA, V.; RAJ, G.V.; CHAND, P. A comprehensive review on clinical applications of comet assay. **Journal of Clinical and Diagnostic Research.**, v. 9, n. 3, p. 1-5, 2015.

HAGIWARA, T.; MUKAISHO, K. I.; NAKAYAMA, T.; SUGIHARA, H.; HATTORI, T. Long-term proton pump inhibitor administration worsens atrophic corpus gastritis and promotes adenocarcinoma development in Mongolian gerbils infected with Helicobacter pylori. **Gut**, v. 60, n. 5, p. 624-630, 2011.

Hagiwara, T.; Mukaisho, K. I.; Nakayama, T.; Sugihara, H.; Hattori, T. Long-term proton pump inhibitor administration worsens atrophic corpus gastritis and promotes adenocarcinoma development in Mongolian gerbils infected with Helicobacter pylori. **Gut**, v. 60, n. 5, p. 624-630, 2011.

HAZUKOVÁ, R.; ŘEZÁČOVÁ, M.; KÖHLEROVÁ, R.; TOMEK, T.; ČERMÁKOVÁ, E.; KOČÍ, J.; PLESKOT, M. Comet assay in evaluating deoxyribonucleic acid damage after out-of-hospital cardiac arrest. **Anatolian Journal of Cardiology**, v. 18, n. 1, p. 31, 2017.

HOLLENSWORTH, S. B., SHEN, C. C., SIM, J. E., SPITZ, D. R., WILSON, G. L., & LEDOUX, S. P. Glial cell type-specific responses to menadione-induced oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 28, n. 8, p. 1161-1174, 2000.

HONG, F.; WU, N.; ZHOU, Y.; JI, L.; CHEN, T.; WANG, L. Gastric toxicity involving alterations of gastritis-related protein expression in mice following long-term exposure to nano TiO₂. **Food Research International**, v. 95, p. 38-45, 2017.

HUSSEINI, G. A.; O'NEILL, K. L.; PITT, W. G. The comet assay to determine the mode of cell death for the ultrasonic delivery of doxorubicin to human leukemia (HL-60 Cells) from Pluronic P105 micelles. **Technology in Cancer Research & Treatment**, v. 4, n. 6, p. 707-711, 2005.

IDE, T.; TSUTSUI, H.; OHASHI, N.; HAYASHIDANI, S.; SUEMATSU, N.; TSUCHIHASHI, M.; TAMAI, H.; TAKESHITA, A. Greater oxidative stress in healthy young men compared with premenopausal women. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 22, n. 3, p. 438-442, 2002.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). **Incidência de Câncer no Brasil - Estimativa 2016**. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>

ISHIGURO, T.; ISHIGURO, M.; ISHIGURO, R.; IWAI, S. Cotreatment with dichloroacetate and omeprazole exhibits a synergistic antiproliferative effect on malignant tumors. **Oncology Letters**, v. 3, n. 3, p. 726-728, 2012.

KANDUC, D.; MITTELMAN, A.; SERPICO, R.; SINIGAGLIA, E.; SINHA, A. A.; NATALE, C.; SANTACROCE, R.; DI CORCIA, M. G.; LUCCHESI, A.; DINI, L.; PANI, P.; SANTACROCE, S.; SIMONE, S.; BUCCI, R.; FARBER E. Cell death: apoptosis versus necrosis. **International Journal of Oncology**, v. 21, n. 1, p. 165-170, 2002.

KHANI, M.; MOTAMEDI, P.; DEHKHODA, M. R.; NIKUKHESLAT, S. D.; KARIMI, P. Effect of thyme extract supplementation on lipid peroxidation, antioxidant capacity, PGC-1 α content and endurance exercise performance in rats. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 11, 2017.

KIRKINEZOS, I. G.; BACMAN, S. R.; HERNANDEZ, D.; OCA-COSSIO, J.; ARIAS, L. J.; PEREZ-PINZON, M. A.; BRADLEY, W. G.; MORAES, C. T. Cytochrome c association with the inner mitochondrial membrane is impaired in the CNS of G93A-SOD1 mice. **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 1, p. 164-172, 2005.

KIRKINEZOS, I. G.; BACMAN, S. R.; HERNANDEZ, D.; OCA-COSSIO, J.; ARIAS, L. J.; PEREZ-PINZON, M. A.; BRADLEY, W. G.; MORAES, C. T. Cytochrome c association with the inner mitochondrial membrane is impaired in the CNS of G93A-SOD1 mice. **Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 1, p. 164-172, 2005.

KOHLER, J. E.; BLASS, A. L.; LIU, J.; TAI, K.; SOYBEL, D. I Antioxidant pre-treatment prevents omeprazole-induced toxicity in an in vitro model of infectious gastritis. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 49, n. 5, p. 786-791, 2010.

KONDRATYEV, A. D.; CHUNG, K. N.; JUNG, M. O. Identification and characterization of a radiation-inducible glycosylated human early-response gene. **Cancer Research**, v. 56, n. 7, p. 1498-1502, 1996.

KUSTERS, J. G.; VAN VLIET, A. H.; KUIPERS, E. J. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 3, p. 449-490, 2006.

KWIECIEN, S. et al. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 53, p. 39-50, 2002.

LANGE, I.; GEERTS, D.; FEITH, D. J.; MOCZ, G.; KOSTER, J.; BACHMANN, A. S. Novel interaction of ornithine decarboxylase with sepiapterin reductase regulates neuroblastoma cell proliferation. **Journal of molecular biology**, v. 426, n. 2, p. 332-346, 2014.

LEE, J. H.; KIM, J. G.; JUNG, H. K.; KIM, J. H.; JEONG, W. K.; JEON, T. J.; KIM, H. I. Clinical practice guidelines for gastric cancer in Korea: an evidence-based approach. **Journal of Gastric Cancer**, v. 14, n. 2, p. 87-104, 2014.

LEE, M. Y.; KIM, H. A.; KANG, M. H. Comparison of lymphocyte DNA damage levels and total antioxidant capacity in Korean and American diet. **Nutrition Research and Practice**, v. 11, n. 1, p. 33-42, 2017.

LEE, Y.-Y.; JEON H. K.; HONG, J. E.; CHO, Y. J.; RYI, J. Y.; CHOI, J. J.; LEE, S.H.; YOON, G.; KIM, W. Y.; DO, I-G.; KIM, M.K.; KIM, T-J.;1, CHOI, C.H.; LEE, J-W.; BAE, D-S.; KIM, M. K. Proton pump inhibitors enhance the effects of cytotoxic agents in chemoresistant epithelial ovarian carcinoma. **Oncotarget**, v. 6, n. 33, p. 35040, 2015.

LEMAIRE, G., DELESCLUSE, C., PRALAVORIO, M., LEDIRAC, N., LESCA, P., & RAHMANI, R. The role of protein tyrosine kinases in CYP1A1 induction by omeprazole and thiabendazole in rat hepatocytes. **Life Sciences**, 74, 2265-2278, 2004.

LEWIS, S. Gastric ulceration in an equine neonate. **Canadian Veterinary Journal**. May, vol.44, n.5, p. 420-421, 2003.

LI, HONG.; HELANDER, HERBERT F. Hypergastrinemia increases proliferation of gastroduodenal epithelium during gastric ulcer healing in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 41, n. 1, p. 40-48, 1996.

LI, X.Y.; LIU, Y.N.; YUAN, M.; LI, Y.P.; YANG, Y.Z.; ZHU, J.B. Effect of high altitude hypoxia on the activity and protein expression of CYP2C9 and CYP2C19. **Acta Pharmaceutica Sinica**, v. 47, n. 2, p. 188-193, 2012.

LIN, D.; LI, Y.; ZHOU, Q.; XU, Y.; WANG, D. Effect of triclosan on reproduction, DNA damage and heat shock protein gene expression of the earthworm Eisenia fetida. **Ecotoxicology**, v. 23, n. 10, p. 1826-1832, 2014.

LIU, Z.; LUO, Y.; CHENG, Y.; ZOU, D.; ZENG, A.; YANG, C.; XU,J.; ZHAN, H. Gastrin attenuates ischemia-reperfusion-induced intestinal injury in rats. **Experimental Biology and Medicine**, v. 241, n. 8, p. 873-881, 2016.

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDAL, R.J. Protein measurement with follin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

LUO, X. J.; LIU, B.; DAI, Z.; LI, T. B.; LI, N. S.; ZHANG, X. J.; YANG, Z. C.; LI, Y. J.; PENG, J. Expression of apoptosis-associated microRNAs in ethanol-induced acute gastric mucosal injury via JNK pathway. **Alcohol**, v. 47, n. 6, p. 481-493, 2013.

MACHADO, R.S.; SILVA, M.R.; VIRIATO, A. – Furazolidone, tetracycline and omeprazole: a low-cost alternative for *Helicobacter pylori* eradication in children. **J Pediatr** (Rio J). v.84, n.2, p-160-165, 2008.

MAHMOUD-AWNY, M.; ATTIA, A. S.; ABD-ELLAH, M. F.; EL-ABHAR, H. S. Mangiferin mitigates gastric ulcer in ischemia/reperfused rats: Involvement of PPAR- γ , NF- κ B and Nrf2/HO-1 signaling pathways. **PLoS one**, v. 10, n. 7, p. e0132497, 2015.

MALUF, S. W.; ERDTMANN, B. Genomic instability in Down syndrome and Fanconi anemia assessed by micronucleus analysis and single-cell gel electrophoresis. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 124, n. 1, p. 71-75, 2001.

MENEZES, A. M.; HORTA, B. L.; OLIVEIRA, A. L. B.; KAUFMANN, R. A.; DUQUIA, R.; DINIZ, A.; GOMES, L. Risco de câncer de pulmão, laringe e esôfago atribuível ao fumo. **Revista Saúde Pública**, p. 129-134, 2002.

MERETO, E.; GHIA, M.; MARTELLI, A.; BRAMBILLA, G. Lack of evidence of omeprazole genotoxicity in Sprague-Dawley rats. **Mutagenesis**, v. 8, n. 5, p. 379-386, 1993.

MOLONEY, J.N.; GOTTER, T.G. ROS signaling in the biology of cancer. **Seminars in Cell & Development Biology**, 2017.

MONTEIRO, N. M. L.; ARAÚJO, D. F. D.; BASSETTI-SOARES, E.; VIEIRA, J. P. F. B.; SANTOS, M. R. M. D.; OLIVEIRA JÚNIOR, P. P. L. D.; DELGADO, T. S. J. Câncer de esôfago: perfil das manifestações clínicas, histologia, localização e comportamento metastático em pacientes submetidos a tratamento oncológico em um centro de referência em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 55, n. 1, p. 27-32, 2009.

MÜERKÖSTER, S. S.; RAUSCH, A. V.; ISBERNER, A.; MINKENBERG, J.; BLASZCZUK, E.; WITT, M.; FÖLSCH, U. R.; SCHMITZ, F.; SCHÄFER, H.; ARL, A. The apoptosis-inducing effect of gastrin on colorectal cancer cells relates to an increased IEX-1 expression mediating NF- κ B inhibition. **Oncogene**, v. 27, n. 8, p. 1122, 2008.

MÜERKÖSTER, S.; ISBERNER, A.; ARLT, A.; WITT, M.; REIMANN, B.; BLASZCZUK, E.; WERBING, V.; FÖLSCH, R. F.; SCHMITZ, F.; SCHÄFER, H. Gastrin suppresses growth of CCK2 receptor expressing colon cancer cells by inducing apoptosis in vitro and in vivo. **Gastroenterology**, v. 129, n. 3, p. 952-968, 2005.

MUTHURAMAN, A.; RAMESH, M.; CHAUHAN, A. Mitochondrial dependent apoptosis: ameliorative effect of flunarizine on ischemia–reperfusion of celiac artery-

induced gastric lesions in the rat. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 56, n. 8, p. 2244-2251, 2011.

MUTHURAMAN, A.; SOOD, S. Antisecretory, antioxidative and antiapoptotic effects of montelukast on pyloric ligation and water immersion stress induced peptic ulcer in rat. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 83, n. 1, p. 55-60, 2010.

NAESDAL, J.; ANDERSSON, T., BODEMAR, G.; LARSSON, R.; REGÅRDH, C. G.; SKÅNBERG, I.; WALAN, A. Pharmacokinetics of [14C] omeprazole in patients with impaired renal function. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 40, n. 3, p. 344-351, 1986.

NAZIR, S.; IQBAL, Z.; AHMAD, L.; SHAH, Y.; NASIR, F. Pharmacokinetics of omeprazole and its metabolites in three phases of menstrual cycle. **European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 40, n. 1, p. 13-22, 2015.

NIKOLETOPOULOU, V.; MARKAKI, M.; PALIKARAS, K.; TAVERNARAKIS, N. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research**, v. 1833, n. 12, p. 3448-3459, 2013.

NOVOTNA, A.; SROVNALOVA, A.; SVECAROVA, M.; KORHONOVA, M.; BARTONKOVA, I.; DVORAK, Z. Differential effects of omeprazole and lansoprazole enantiomers on aryl hydrocarbon receptor in human hepatocytes and cell lines. **PLoS One**, v. 9, n. 6, p. e98711, 2014.

OHNISHI, S.; MA, N.; THANAN, R.; PINLAOR, S.; HAMMAM, O.; MURATA, M.; KAWANISHI, S. DNA damage in inflammation-related carcinogenesis and cancer stem cells. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, 2013.

O'NEIL, D. H. R; LEONARD, A. Gastric disorders:modifications of gastric content, antacids and drugs influencing gastric secretions and motility. **Anaesthesia and Intensive Care Medicine**. v. 13, n. 2, 2011.

PANDYA, H. B.; AGRAVAT, H. H.; PATEL, J. S. Prevalence of Specific Helicobacter Pylori cagA, vacA, iceA, ureC Genotypes and its Clinical Relevance in the Patients with Acid-Peptic Diseases. **Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR**, v. 11, n. 8, p. DC23, 2017.

PATLOLLA, J. M.; ZHANG, Y.; LI, Q.; STEELE, V. E.; RAO, C. V. Anti-carcinogenic properties of omeprazole against human colon cancer cells and azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci formation in rats. **International Journal of Oncology**, v. 40, n. 1, p. 170-175, 2012.

PERENCEVICH, E. N.; WONG, M. T.; HARRIS,A.D. National and regional assessment of the antibacterial soap market: a step toward determining the impact of prevalent antibacterial soaps. **American Journal of Infection Control**, v. 29, n. 5, p. 281-283, 2001.

PEY, A.; ZAMOUM, T.; CHRISTEN, R.; MERLE, P. L.; FURLA, P. Characterization of glutathione peroxidase diversity in the symbiotic sea anemone *Anemonia viridis*. **Biochimie**, v. 132, p. 94-101, 2017.

PITTALUGA, M.; SGADARI, A.; DIMAURO, I.; TAVAZZI, B.; PARISI, P.; CAPOROSSI, D. Physical exercise and redox balance in type 2 diabetics: effects of moderate training on biomarkers of oxidative stress and DNA damage evaluated through comet assay. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2015, 2015.

POWERS, R. E.; LAWTON, G. P.; MODLIN, I. M. Genotoxicity, carcinogenicity and acid-suppressing medications. **Pharmacology & therapeutics**, v. 65, n. 3, p. 303-317, 1995.

PROPAC, P.; JOMOVA, K.; SIMUNKOVA, M.; KOLLAR, V.; RHODES, C.J.; VALKO M. Targeting free radicals in oxidative stress- related human diseases. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 38, n. 7, p. 592-607, 2017.

RAPPA, G.; GAMCSIK, M. P.; MITINA, R. L.; BAUM, C.; FODSTAD, O.; LORICO, A. Retroviral transfer of MRP1 and γ -glutamyl cysteine synthetase modulates cell sensitivity to l-buthionine-S, R-sulphoximine (BSO): new rationale for the use of BSO in cancer therapy. **European Journal of Cancer**, v. 39, n. 1, p. 120-128, 2003.

ROSENKRANZ, H. S.; KLOPMAN, G. Omeprazole: an exploration of its reported genotoxicity. **Mutagenesis**, v. 6, n. 5, p. 381-384, 1991.

SACHS, G.; SCOTT, D.; REUBEN, M. Omeprazole and the gastric mucosa. **Digestion**, v. 47, n. Suppl. 1, p. 35-38, 1990.

SCARINGI, L.; CORNACCHIONE, E.; AYROLDI, L.; CORAZZI, E.; CAPODICASA, R. R.; MARCONI, P. Omeprazole induces apoptosis in jurkat cells. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 17, n. 3, p. 331-342, 2004.

SCHAUR, R. J.; SIEMS, W.; BRESGEN, N.; ECKL, P. M. 4-Hydroxy-nonenal—a bioactive lipid peroxidation product. **Biomolecules**, v. 5, n. 4, p. 2247-2337, 2015.

SCHMITT, B.; VICENZI, M.; GARREL, C.; DENIS, F. M. Effects of N-acetylcysteine, oral glutathione (GSH) and a novel sublingual form of GSH on oxidative stress markers: A comparative crossover study. **Redox Biology**, v. 6, p. 198-205, 2015.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. São Paulo, v. 10, n. 4, p. 308–13, 2004.

SCHUBERT, M. L.; PEURA, D. A. Control of gastric acid secretion in health and disease. Reviews in basic and clinical gastroenterology. **Gastroenterology**, v. 134, p.1842–1860, 2008.

SCOTT, D.; REUBEN, M.; ZAMPIGHI, G.; SACHS G. Cell isolation and genotoxicity assessment in gastric mucosa. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 35, n. 10, p. 1217-1225, 1990.

SEDLAK, J., LINDSAY, R.H. Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissues with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, 25, 192-205, 1988.

SIES, H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: oxidative eustress. **Redox Biology**, 2017.

SINUÉS, B.; FANLO, A.; BERNAL, M. L.; VAL, M.; MAYAYO, E. Omeprazole treatment: genotoxicity biomarkers, and potential to induce CYP1A2 activity in humans. **Human & Experimental Toxicology**, v. 23, n. 3, p. 107-113, 2004.

SONG, J. H.; KIM, S. G.; JIN, E. H.; LIM, J. H.; YANG, S. Y. Risk Factors for Gastric Tumorigenesis in Underlying Gastric Mucosal Atrophy. **Gut and Liver**, 2017.

SPIVAK, G.; COX, R. A.; HANAWALT, P. C. New applications of the Comet assay: Comet-FISH and transcription-coupled DNA repair. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 681, n. 1, p. 44-50, 2009.

TANEJA, P.; LABHASETWAR, P.; NAGARNAIK, P.; ENSINK, J. H. The risk of cancer as a result of elevated levels of nitrate in drinking water and vegetables in Central India. **Journal of Water and Health**, p. wh2017283, 2017.

THONGON N, KRISHNAMRA N. Omeprazole decreases magnesium transport across Caco-2 monolayers. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 12, p. 1574-1583, 2011.

TICE, R.R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J.C.; SASAKI, Y.F. Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 35, n. 3, p. 206-221, 2000.

TONAZZI, A.; EBERINI, I.; INDIVERI, C. Molecular mechanism of inhibition of the mitochondrial carnitine/acylcarnitine transporter by omeprazole revealed by proteoliposome assay, mutagenesis and bioinformatics. **PloS One**, v. 8, n. 12, p. e82286, 2013.

TORAASON, M.; BUTLER, M. A.; RUDER, A.; FORRESTER, C.; TAYLOR, L.; ASHLEY, D.L.; MATHIAS, P.; MARLOW, K.L.; CHEEVER, K.L.; KRIEG, E.; WEY, H. Effect of perchloroethylene, smoking, and race on oxidative DNA damage in female dry cleaners. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 539, n. 1, p. 9-18, 2003.

TOVMASYAN, A.; MAIA, C. G.; WEITNER, T.; CARBALLAL, S.; SAMPAIO, R. S.; LIEB, D.; REBOUCAS, J. S. A comprehensive evaluation of catalase-like activity of different classes of redox-active therapeutics. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 86, p. 308-321, 2015.

TURECK, C.; LOCATELI, G.; CORRÊA, V. G.; KOEHNLEIN, E. A. Avaliação da ingestão de nutrientes antioxidantes pela população brasileira e sua relação com o estado nutricional. **Revista Brasileira Epidemiol**, v. 20, n. 1, p. 30-42, 2017.

- VIEIRA, Â. C.; SOUZA, F. V. Tabagismo e sua relação com o câncer bucal: uma Revisão de literatura. **Revista Bionorte**, v. 4, n. 2, 2015.
- WADHWA, R.; SONG, S.; LEE, J. S.; YAO, Y.; WEI, Q; AJANI, J. A. Gastric cancer [mdash] molecular and clinical dimensions. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 10, n. 11, p. 643-655, 2013.
- WANG, H.; ZHU, F.; HUANG, Y.; DING, Y.; JIAN, J.; WU, Z. Construction of glutathione peroxidase (GPx) DNA vaccine and its protective efficiency on the orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) challenged with *Vibrio harveyi*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 60, p. 529-536, 2017.
- WANG, S. H.; WANG, Y. Z.; ZHANG, K. Y.; SHEN, J. H.; ZHOU, H. Q.; QIU, X. Y. Effect of superoxide dismutase and malondialdehyde metabolic changes on carcinogenesis of gastric carcinoma. **World Journal of Gastroenterology: WJG**, v. 11, n. 28, p. 4305, 2005.
- WETSCHER, G. J.; HINDER, R. A.; SMYRK, T.; PERDIKIS, G.; ADRIAN, T. E.; PROFANTER, C. Gastric acid blockade with omeprazole promotes gastric carcinogenesis induced by duodenogastric reflux. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 44, n. 6, p. 1132-1135, 1999.
- WONG, A. Os usos inadequados e os efeitos adversos de medicamentos na prática clínica. **Jornal de Pediatria**, v. 79, n. 5, p. 379-80, 2003.
- WOOD, J. P.; SMITH, A. J.; BOWMAN, K. J.; THOMAS, A. L.; JONES, G. D. Comet assay measures of DNA damage as biomarkers of irinotecan response in colorectal cancer in vitro and in vivo. **Cancer Medicine**, v. 4, n. 9, p. 1309-1321, 2015.
- YANAGIHARA, G. R. et al. Efeitos da administração em longo prazo do omeprazole sobre a densidade mineral óssea e as propriedades mecânicas do osso. **Revista Brasileira de Ortopedia**. V. 2, n. , p. 232-238, 2015.
- YUAN, Y; PADOL, I. T.; HUNT, R. H. Peptic ulcer disease today. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. 3(2):80, 2006.
- ZEIGER, E.; GOLLAPUDI, B.; AARDEMA, M. J.; AUERBACH, S.; BOVERHOF, D.; CUSTER, L.; KIM, J. H. Opportunities to integrate new approaches in genetic toxicology: An ILSI-HESI workshop report. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 56, n. 3, p. 277-285, 2015.
- ZHANG, J. L.; LIU, M.; YANG, Q.; LIN, S. Y.; SHAN, H. B.; WANG, H. Y.; XU, G. L. Effects of omeprazole in improving concurrent chemoradiotherapy efficacy in rectal cancer. **World Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 14, p. 2575, 2017.
- ZHANG, Q.; HUANG, N.; WANG, J.; LUO, H.; HE, H.; DING, M.; DENG, W. Q.; ZOU, K. The H⁺/K⁺-ATPase inhibitory activities of Trametenolic acid B from *Trametes lactinea* (Berk.) Pat, and its effects on gastric cancer cells. **Fitoterapia**, v. 89, p. 210-217, 2013.
- ZHENG, H.; CHEN, Y.; ZHANG, J.; WANG, L.; JIN, Z.; HUANG, H.; MAN, S.; GAO, W. Evaluation of protective effects of costunolide and dehydrocostuslactone on

ethanol-induced gastric ulcer in mice based on multi-pathway regulation. **Chemico-Biological Interactions**, v. 250, p. 68-77, 2016.

ZIEBARTH, D.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H. N-nitrosation of medicinal drugs catalysed by bacteria from human saliva and gastro-intestinal tract, including *Helicobacter pylori*. **Carcinogenesis**, v. 18, n. 2, p. 383-389, 1997.

ZOU, X.; RATTI, B. A.; O'BRIEN, J. G.; LAUTENSCHLAGER, S. O.; GIUS, D. R.; BONINI, M. G.; ZHU, Y. Manganese superoxide dismutase (SOD2): is there a center in the universe of mitochondrial redox signaling? **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, n. 49, p. 325-333, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo a literatura o omeprazol (OME) foi capaz de elevar a atividade das defesas antioxidantes em modelos de lesão gástrica e intestinal em animais, próximo aos níveis de normalidade, reduzindo os danos oxidativos demonstrando uma atividade antioxidante. Também foi observado a atividade anti-inflamatória através da redução das citocinas pró-inflamatórias, mediadores da inflamação e elevação de citocinas anti-inflamatórias. Demonstrando redução dos processos indutores da morte celular, comprovado pela redução de marcadores moleculares apoptóticos, como a caspase 3, BAX e citocromo C; assim como pela elevação de marcadores antiapoptóticos como BCL-2 e BCL-XL. Porém, em modelos de animais xenográficos foi observada redução de massa tumoral e redução da viabilidade em cultura celular, demonstrando atividade apoptótica.

Na parte experimental da pesquisa, a terapia com OME induziu alterações no material genético de linfócitos de sangue periférico em pacientes com gastrite, analisados pelo aumento dos índices (ID) e frequências de danos (FD), bem como por indução de apoptoses, através do teste cometa versão alcalina. Os danos genotóxicos podem ser ocasionados por estresse oxidativo, que foi comprovado pelo aumento das defesas antioxidantes endógenas catalase, superóxido dismutase e glutathione reduzida. A terapia com OME aumentou significativamente os níveis de peroxidação lipídica pela avaliação do conteúdo de MDA. O aumento de nitrito, também foi observado nos pacientes.

Os resultados das possíveis diferenças estatísticas entre os sexos em relação aos danos genotóxicos, perfil das defesas antioxidante e danos oxidativos, apresentaram significantes aumentos para ID do sexo masculino em relação ao ID do sexo feminino, como também para os níveis de peroxidação lipídica. Para as possíveis correlações entre ID e apoptose, os dados apontaram que apenas o grupo de pacientes com G+OME obteve correlação positiva, semelhante aos resultados anteriores, indicando que a terapia com OME pode induzir apoptose. A genotoxicidade foi correlacionada com a exposição a químicos e baixo consumo de vegetais, e o consumo de carnes com o aumento de nitrito. O aumento da catalase foi correlacionado com os exercícios físicos e o hábito de fumar com o aumento da superóxido dismutase. Cabe enfatizar a

importância do ensaio cometa para a avaliação de genotoxicidade, e os parâmetros de estresse oxidativos e defesas antioxidantes para o biomonitoramento de instabilidade genética para os pacientes em terapias gástricas com OME.

ANEXOS

ANEXO I – CARTA DE SUBMISSÃO DO ARTIGO REFERENTE AO CAPÍTULO I

Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology Omeprazole, both in protective and in the events of cell death --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Omeprazole, both in protective and in the events of cell death
Article Type:	Review
Corresponding Author:	Md. Torequl Islam, PhD (Ongoing) Universidade Federal do Piauí Teresina, Piauí BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidade Federal do Piauí
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Ag-Anne Pereira Melo de Menezes
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Ag-Anne Pereira Melo de Menezes
	José Victor de Oliveira Santos
	Antonielly Campinho dos Reis
	Rai Pablo de Sousa Aguiar
	Antonio Lima Braga
	Marcia Fernanda Correira Jardim Paz
	Ana Maria Oliveira Ferreira da Mata
	João Marcelo de Castro e Sousa
	Ricardo Melo de Carvalho
	Carlos Dimas de Carvalho Sousa
	Md. Torequl Islam, PhD (Ongoing)

	Paulo Michel Pinheiro Ferreira
	Ana Amélia Amélia de Carvalho Melo Cavalcante
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	
Abstract:	<p>Gastric lesions involve inflammatory infiltration, endothelial dysfunction, cell membrane damage through the production of reactive oxygen species eventually causing mucosal damage. The drugs of choice in the treatment of the pathologies is associated with the effects of gastric acid include, Proton Pump Inhibitors (PPIs) which promote effective blockade of basal acid secretion. However, PPIs are associated with some pathological alterations, since these drugs are of prolonged and intermittent use, leading genotoxic damage and/or carcinogenic effects. The cell death process is observed in situations of extensive or irreversible cellular damage, especially in situations with elevated oxidative stress on lipids, proteins and genetic materials. These effects lead to gene instability forcing the cell to enter the process of cell death or perpetuate changes in its DNA, leading to a carcinogenic process. In this systematic analysis we discussed 144 articles obtained from PubMed, Science Direct, Cochrane Library, Periódico Capes and Scielo published until 2017 aiming to characterize and correlate the pharmacological activities of omeprazole with the mechanisms of protection and induction of cell death in clinical and non-clinical studies. Omeprazole was able to prevent cell death in the experimental models by induction of gastric and</p>
<i>Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation</i>	
	<p>intestinal damage due to the restoration of antioxidant defenses, modulation of the inflammatory process, reduction of apoptotic proteins and elevation of antiapoptotic with reduction of necrotic areas in the gastric mucosa. However, omeprazole also evident to cause apoptotic cell death in xenographic models with the reduction of tumor mass, cell viability both in normal and cancerous lines. Thus, the side effects and toxic effects of omeprazole must be considered.</p>
Suggested Reviewers:	

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

ANEXO II - INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS - QUESTIONÁRIO PESSOAL

1. Nome _____ **Código no projeto** _____
2. Idade _____ anos Peso _____ Kg Altura _____ cm Cintura _____ cm
3. Data de nascimento ____/____/____
4. Sexo () Masculino () Feminino (última menstruação ____/____/____)
5. Cidade onde nasceu e onde vive _____
6. Grupo étnico () branco () pardo () negro () amarelo () indígena
7. País originários de qual(is) país(es) _____
8. Qual a sua situação conjugal?
() casado/companheiro () separado/divorciado () solteiro () viúvo
9. Número de filhos naturais _____
10. Até que série você completou com aprovação?
() 1º grau incompleto () 1º grau completo
() 2º grau incompleto () 2º grau completo
() superior incompleto () superior completo
() pós-graduação () ignorado
11. Qual o seu trabalho atual? _____
12. Há quanto tempo você exerce essa função? _____
13. Qual a sua jornada de trabalho semanal? _____
14. Quantas horas de sono em média por dia? _____
15. No seu trabalho atual, já se expôs a alguma dessas substâncias?
() derivados do petróleo (horas/semana _____)
() tintas/corantes (horas/semana _____)
() solventes (horas/semana _____)
() pesticidas/herbicidas (horas/semana _____)
() mercúrio/vapores de outros metais pesados (horas/semana _____)
() outras substâncias químicas – quais? _____ (horas/semana _____)
16. Qual era o seu emprego anterior / que função exercia? _____
17. No seu emprego anterior, já se expôs a alguma dessas substâncias? (Informe tempo de exposição em horas/semana).
() derivados do petróleo (horas/semana _____)
() tintas/corantes (horas/semana _____)
() solventes (horas/semana _____)
() pesticidas/herbicidas (horas/semana _____)
() mercúrio/vapores de outros metais pesados (horas/semana _____)
() outras substâncias químicas – quais? _____ (horas/semana _____)

18. Você utiliza equipamento de segurança em seu trabalho? Com qual frequência?

sim não sempre quase sempre pouco

19. Você pratica algum exercício físico? sim não

20. Se sim, qual?

musculação corrida pilates futebol/vôlei outro: _____

21. Qual a frequência?

1 vez /semana 2 vezes/semana três vezes/semana 4 vezes/ semana ou mais

22. Você fuma ou já fumou? sim não – Se não, vá para a questão 26

23. Se sim, quantos cigarros fuma por dia e há quanto tempo? _____ (número de cigarros)
_____ () meses / () anos

24. Fuma também cigarro de palha cachimbo outros _____

Quantas vezes ao dia? _____

25. Se parou, durante quanto tempo você fumou? _____ () meses / () anos

26. Quantos cigarros fumava por dia? _____ (número de cigarros)

27. Medicamentos utilizados rotineiramente (indicar a frequência em vezes/dia)

Omeprazol _____

Se sim, qual marca? Dose? Quanto tempo de uso? Efeitos colaterais (se sim, qual ?)?

hormônios _____

vitaminas e/ou suplementos _____

comprimidos para hipertensão _____

antibióticos _____

insulina _____

tranquilizantes _____

relaxantes musculares _____

outros – quais? _____

28. Está fazendo algum tratamento de saúde? (por ex: coluna, gripe, alergia, dores, etc...) sim não

Qual? _____ Tempo do tratamento _____

29. Fez alguma radiografia no último ano? sim não – Quanto tempo? _____

30. Com que frequência você consome bebidas alcoólicas?

nunca – vá para a questão 40 uma vez por mês ou menos 2 a 4 vezes ao mês

2 a 3 vezes por semana 4 ou mais vezes por semana

31. Quais bebidas você consome?

somente cerveja somente vinho somente destilados cerveja e vinho cerveja e destilados vinho e destilados cerveja, vinho e destilados

32. Nas ocasiões em que bebe, quantos doses (), copos () ou garrafas () você costuma tomar?

1 ou 2 3 ou 4 5 ou 6 7 a 9 10 ou mais

uma vez por semana todos os dias ou quase todos

33. Alguma vez na vida algum parente, amigo, médico ou outro profissional da saúde já se preocupou com você por causa da bebida ou lhe disse para parar de beber?

Dissertação de Mestrado | Ag-Anne Pereira Melo de Menezes

() não () sim, mas não no último ano () sim, durante o último ano

34. Quantas e quais refeições você faz por dia? _____

35. Ingere frutas e verduras? / Se sim, indique a frequência (em dias/semana)

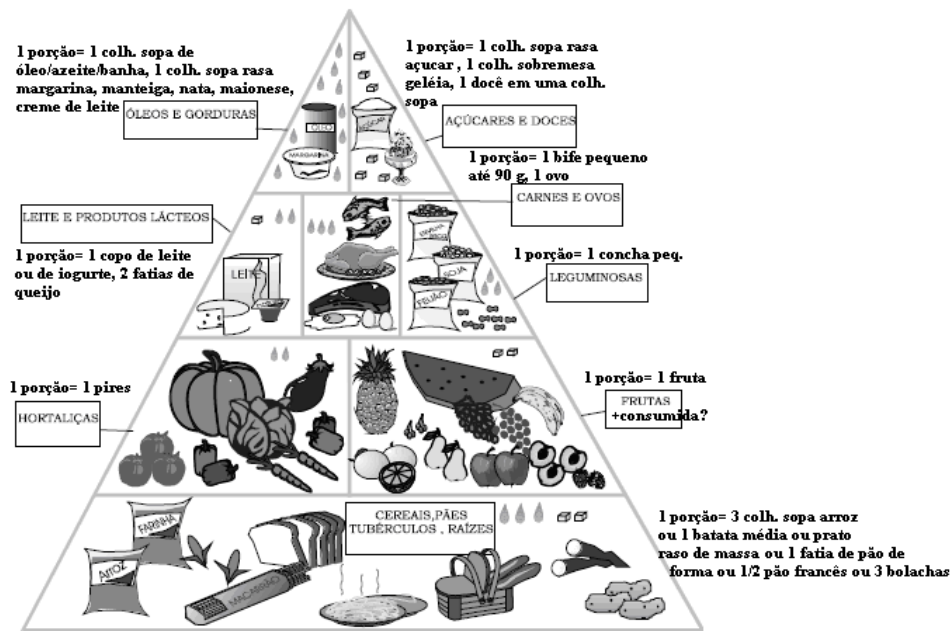
() sim () não / () 1 a 2 () 3 a 4 () 5 a 6 () todos os dias

36. Ingere carnes? () sim () não / Se sim, com que frequência você come:

	Dias por semana			
	1 a 2	3 a 4	5 a 6	Todos os dias
Carne bovina	()	()	()	()
Peixe	()	()	()	()
Galinha	()	()	()	()
Porco	()	()	()	()
Outras	()	()	()	()

37. Qual a sua preferência de carnes? () mal passada () bem passada () frita / () gorda () magra.

38. Quais as porções ingeridas em relação aos seguintes alimentos durante as suas 3 principais refeições diárias.



Café _____

Almoço _____

Jantar _____

39. Você já teve/tem alguma dessas doenças?

() câncer – Qual? _____ Idade _____

AIDS anemias doenças cardíacas – Idade _____ esclerose múltipla – Idade _____
diabetes – Idade _____ outras – quais e que idade apresentou? _____

40. Alguém da sua família já teve/tem alguma dessas doenças? (indicar o grau de parentesco ao lado) _____

doenças cardíacas _____ esclerose múltipla _____ diabetes _____ Em que idade?
_____ outras – quais? _____

41. Casos de câncer na família não sim

42. Quais os tipos de câncer? (indicar o grau de parentesco ao lado)

pele _____ mama _____ leucemia _____

esôfago _____

outros _____

43. Tem conhecimento de algum defeito de nascimento ou doença hereditária que afetem seus pais, irmãos, irmãs ou cônjuges?

não sim – qual? _____

44. Você e seu cônjuge já tiveram dificuldades em conceber (mais de doze meses) ou já foram diagnosticados como estéreis? não sim

45. Histórico de aborto espontâneo?

não sim – quantas vezes? _____

46. Histórico de bebê com anomalias?

não sim – qual? _____

Assinatura do entrevistado _____

Data e assinatura do pesquisador responsável _____

ANEXO III - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

IDENTIFICAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA		
Título do Projeto: MONITORAMENTO TOXICOGENÉTICO DOS EFEITOS DO OMEPRAZOL EM SANGUE PERIFÉRICO E EM EPITÉLIOS BUCAL E ESTOMACAL DE PACIENTES COM PATOLOGIAS GÁSTRICAS		
Área do Conhecimento Ciências Biológicas Nº de participantes 300		
Curso Programa de Graduação em Medicina Unidade Centro Universitário UNINOVAFAPI		
Projeto Multicêntrico Sim () Não (X) Nacional (X) Internacional () Cooperação Estrangeira Sim () Não (x)		
Patrocinador da pesquisa Pesquisador responsável		
Instituição onde será realizado Laboratórios da Universidade Federal do Piauí e Hospital Getúlio Vargas		
Nomes dos pesquisadores e colaboradores: Ag-Anne Pereira Melo de Menezes, Cláudia Paz Sampaio, Debora Sara Neves Lima, Igor Leonardo Vieira Caetano, Jessica Lima Silva, Lara Arrais Chaves Cronemberger, Milena Braga Soares da Silva, Paula Fernanda Melgaço Costa, Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante, Márcia Fernanda Correia Jardim Paz, Carlos Dimas de Carvalho Sousa, Jozelda Lemos Duarte.		
IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA		
Nome	Data do Nascimento	Sexo
Nacionalidade	Estado Civil	Profissão
RG	Telefone	E-mail
Endereço		
IDENTIFICAÇÃO DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL		
Nome Márcia Fernanda Correia Jardim Paz Telefone (86) 99411-0532		
Profissão Biomédica Registro do Conselho N°5547		
E-mail marciafernanda@uol.com.br		
Endereço Rua Monsenhor Melo, 300 São Cristóvão Teresina-PI 64053-220		

Prezado participante,

Você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa “MONITORAMENTO TOXICOGENÉTICO DOS EFEITOS DO OMEPRAZOL EM SANGUE PERIFÉRICO E EM EPITÉLIOS BUCAL E ESTOMACAL DE PACIENTES COM PATOLOGIAS GÁSTRICAS”, desenvolvida por Milena Braga Soares da Silva e Lara Arrais Chaves Cronemberger, discentes do curso de Medicina do Centro Universitário Uninovafapi, sob orientação da Professora Jozelda Lemos Duarte. A pesquisa será realizada em pacientes que tenham entre 18 a 70 anos de idade, diagnosticados através de endoscopia pelo médico gastroenterologista com úlcera, gastrite ou câncer gástrico e que não necessitem de cirurgia, radioterapia e quimioterapia.

Nesse documento, você será esclarecido sobre os objetivos da pesquisa, métodos a serem usados, benefícios previstos, potenciais riscos e/ou desconforto que esta pesquisa poderá ocasionar, além de *Dissertação de Mestrado | Ag-Anne Pereira Melo de Menezes*

informações éticas necessárias para a sua decisão em participar da pesquisa. O objetivo central do estudo é avaliar os possíveis danos gerados ao seu material genético (DNA) e as alterações de risco para o câncer, pelo uso prolongado e/ou intermitente do Omeprazol. Para isso, faremos o monitoramento dos efeitos tóxicos ao material genético em terapias de gastrites, úlceras e câncer gástrico, pela frequência de biomarcadores citogenéticos indicativos de genotoxicidade, mutagenicidade e danos apoptóticos em células do estômago, da cavidade oral e do sangue.

Os métodos utilizados serão: **(1)** a aplicação de um questionário de saúde, que será realizado no momento em que você for realizar a sua consulta de rotina com o médico gastroenterologista, na qual ele irá expor todas as especificações com relação a realização do trabalho e você será convidado a participar da pesquisa. Caso aceite participar, você responderá a esse questionário aplicado pelos pesquisadores que contém informações, tais como: hábitos alimentares, estilo de vida e saúde; **(2)** teste Cometa para avaliação da toxicidade (toxigenicidade) do Omeprazol ao DNA utilizando fragmentos de sangue periférico, colhidos no momento que você realizar exames hematológicos (exame de sangue), que deverá ser solicitado pelo seu médico no momento da consulta. Os pesquisadores coletarão amostras contidas diretamente do tubo de ensaio utilizado para coleta do seu sangue, sem que haja necessidade de realização de outro exame com essa finalidade. Posteriormente essa amostra será utilizada para realização do teste Cometa; **(3)** teste de Micronúcleo para avaliação dos danos e mudanças (mutagenicidade) ao material genético (DNA) através da análise de materiais da sua mucosa bucal (parte interna da bochecha) e estomacal. A mucosa bucal será coletada através da raspagem da parte interna da bochecha com a leve fricção de uma escova, após a explicação de todo o procedimento, podendo você realizar a raspagem. A mucosa estomacal é retirada da própria lâmina confeccionada no exame endoscópico solicitado pelo seu médico gastroenterologista, sem que os pesquisadores realizem exames fora da rotina. As coletas ocorrerão por ocasião da primeira consulta e de uma consulta de retorno. As amostras biológicas (mucosa bucal, sangue e mucosa do estômago) serão conduzidas ao Laboratório da UFPI para preparo de material citológico, a fim de se analisarem parâmetros celulares, ou seja, investigar as células da mucosa oral, sangue e mucosa estomacal e seu padrão celular. Todas as amostras serão armazenadas em setor específico dos laboratórios envolvidos.

Os **benefícios** resultantes com essa pesquisa serão de caráter individual e coletivo para: **(1)** a obtenção de conhecimento científico associados à terapêutica com o uso do omeprazol, com especificidade para a segurança do seu tratamento e de outros pacientes, em relação aos riscos à instabilidade genética; **(2)** orientações e informações relativas aos efeitos adversos do tratamento com o omeprazol, que podem levar a tomada de decisões terapêuticas, pelo seu médico gastroenterologista, em tempo real do seu tratamento e **(3)** sua participação também irá contribuir na elaboração de modelos de monitoramento dos riscos genéticos do omeprazol de importância para outras pessoas que venham a fazer o uso do omeprazol em tratamento de doenças gástricas.

Toda pesquisa implica em **riscos** e/ou incômodos. Nessa pesquisa apotam-se os seguintes riscos e como minimizá-los: **(1)** Para os relativos aos dados informados para questionário de saúde pública, os riscos serão minimizados e/ou excluídos, pois os dados serão sigilosos, confidenciais, sem identificação nominal; **(2)** na tabulação geral e estatística desses dados, os seus dados não serão isolados dos dados de outras pessoas, pois a pesquisa é caráter coletivo. A divulgação desses dados serão apenas às previstas nos objetivos da pesquisa e você terá acesso aos mesmos em qualquer etapa da pesquisa; **(3)** para os riscos relativos a coleta de amostras biológicas o diagnóstico das doenças gástricas será feito pelo exame de endoscopia, sobre a responsabilidade do seu médico, cabendo a ele a tomada de decisões sobre qualquer desconforto durante o exame. As amostras coletadas durante o exame serão encaminhadas aos pesquisadores apenas para análises previstas nos métodos da pesquisa descritos anteriormente. Essas amostras não serão identificadas pelo seu nome, serão sigilosas e de responsabilidade dos pesquisadores; **(4)** para coleta e análises hematológicas e bioquímicas os procedimentos e dados serão de responsabilidade do laboratório que você escolher para fazer os seus exames. previamente solicitados pelo médico, mas os pesquisadores também estarão atentos aos incômodos apresentados durante os exames, tais como dores, sangramentos que serão minimizados por meio de procedimentos e técnicas rotineiramente usados nos laboratórios, aprovados pela vigilância sanitária; **(5)** para os riscos de amostras da mucosa bucal, método não invasivo, podem acontecer pequenos sangramentos e ferimentos, que são prevenidos com a orientação dada pelos pesquisadores para que você faça a coleta. Da mesma forma,

you will also be informed at the time of collection about the non-identification of your samples, as well as the analyses and results. It is emphasized that the analysis will be relative to all the people involved in the study, so your sample will not be examined individually, but you will have access to the results. The methods for collection are internationally standardized.

Your voluntary participation will serve to verify the quality and safety of the drug therapy with omeprazole, which is very important, and you have full autonomy to decide whether or not to participate, as well as to withdraw your participation at any time. You will not be penalized if you decide not to participate in the research or, having agreed, to discontinue it. Confidentiality and the privacy of the information provided by you are guaranteed.

In relation to assistance to the participant, you: **(1)** will be assisted in any emergency and complications and damages resulting from the research, being indemnified for any damage caused by the research; **(2)** can recourse to the responsible for the research and will be clarified about the physical, psychological, moral, intellectual, social, cultural and spiritual risks resulting from the research; **(3)** will have guaranteed confidentiality, privacy, protection of image, ensuring the non-use of the information obtained in the research to the detriment of your interests and convictions; **(4)** will have knowledge that the methods used are standardized and accepted for the objectives provided, with emphasis also for the diagnostic exams (endoscopy, hemogram, biopsy) which will be of full responsibility of the physician.

It should be informed that the responsible for the research (coordinator and participants) have professional capacity adequate to develop their functions in the research. The results will contribute not only for your treatment, but also for the treatment of other people in similar health situations. All the methodologies (methods) experimental described previously have already been applied in other studies of monitoring of drugs, as an example of antineoplastic drugs in patients with breast cancer.

Through this document you are being previously informed(a) that the data obtained from the biological material (saliva, blood and stomach liquid – endoscopy) will be only relative to the methods described previously, not being used for other analyses. And that you, as well, all the participants in the research, at the end of the study, will be informed and will have guaranteed access to the results about the diagnostic and therapeutic methods of importance for health, having the guarantee of confidentiality and privacy, besides the possibility of withdrawal from the research.

You will be clarified(a) by the physician and participants in the research (coordinator and researchers) during your consultation with the gastroenterologist, and you will have the necessary time to define your participation in the research. After your decision, you will still have time to read, understand, agree and/or disagree about your participation in the research through the TCLE, with the declaration of the researcher. If necessary, other analyses with the collected samples, the researchers will forward additively to the project and you will be invited to a new filling of the TCLE, with autonomy to agree and/or disagree with the new analyses.

In case of doubt about the ethical conduct of the study, contact the Ethics Committee in Research of UNINOVAFAPI, at the address: Rua Vitorino Orthiges Fernandes, 6123 – Uruguai, CEP: 64073-505 - Teresina – Piauí, Tel - (086) 2106-0738; e-mail: cep@uninovafapi.edu.br. Contact with the responsible researcher, Jozelda Lemos Duarte, can be made by phone: (86)99988-3841 / e-mail:jozeldaduarte@hotmail.com.

The Ethics Committee in Research is the instance that has the objective of defending the interests of the participants in the research in their integrity and dignity and to contribute to the development of the research within ethical standards. In this way the committee has the role of evaluating and monitoring the progress of the project in a way that the research respects the ethical principles of protection of human rights, dignity, autonomy, non-maleficence, confidentiality and privacy.

Nome e Assinatura do Pesquisador Responsável

RG/CPF: 372.547.583-00

NOME CPF ASSINATURA

Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante 130.036.743-15

Paulo Michel Pinheiro Ferreira 835.051.213-04

Márcia Fernanda Correia Jardim Paz 337.791.123-53

Ag-Anne Pereira Melo de Menezes 058.958.313-11

Ana Maria Oliveira Ferreira da Mata 024.925.263-56

Igor Leonardo Vieira Caetano 067.916.733-11

José Victor de Oliveira Santos 054.532.883-70

Lara Arrais Chaves Cronemberger 039.286.483-57

Mílina Braga Soares da Silva 020.109.623-46

Ricardo Melo de Carvalho 037.709.453-60

Teresina, _____ de _____ de _____.

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

(Assinatura do participante da pesquisa)

Nome legível do participante: RG/CPF: