



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA
NÚCLEO DE PESQUISAS EM PLANTAS MEDICINAIS**

RUAN PABLO NUNES ARAÚJO

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO FITOL EM MODELOS
DE ÚLCERAS GÁSTRICAS EM RATOS.**

TERESINA/2018

RUAN PABLO NUNES ARAÚJO

**INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DO FITOL EM MODELOS
DE ÚLCERAS GÁSTRICAS EM RATOS.**

Dissertação apresentado à Coordenação
do Programa de Pós-Graduação em
Farmacologia do Núcleo de Pesquisas em
Plantas Medicinais do Centro de Ciências
da Saúde da Universidade Federal do
Piauí, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em
Farmacologia

Orientadora: Profa. Dra. ROSIMEIRE FERREIRA DOS SANTOS

TERESINA/2018

Dedico,
A Deus, por ser o detentor da vida,
por me guiar nessa longa trajetória,
por me dar forças nos momentos de aflições,
e aos meus familiares pelo o apoio incessante.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, quero agradecer a Deus, detentor da vida e da sabedoria, por ter me dado à oportunidade de finalizar este trabalho, pela força diária para enfrentar as situações difíceis, por me ajudar sempre, por nunca me abandonar nos momentos difíceis e acima de tudo por ter me dado o direito de viver.

À Universidade Federal do Piauí, por disponibilizar um mestrado de excelente qualidade.

À professora Dra. Rosimeire Ferreira dos Santos, pelas orientações e ensinamentos transmitidos durante essa etapa importante, ensinamentos que levarei para vida, muitíssimo obrigado.

Aos meus familiares, especialmente aos meus pais Francisca Lucimar e Antonio Miguel, pelo amor, carinho, por me ensinarem que o caminho dos estudos é sempre o caminho mais correto que uma pessoa pode percorrer.

À minha irmã Tricia Ruana pelos momentos de descontração que me ajudava a esquecer um pouco das intercorrências do mestrado, mas que sou grato por ter passado por elas.

À minha namorada Camila Aguiar, que mesmo não entendendo nada do que eu estava fazendo, sempre me apoiou e me deu força para a conclusão do mestrado.

Aos amigos do mestrado, pelos momentos vividos e pelos conhecimentos compartilhados em sala de aula, pessoas de caráter e humildade enorme.

A todos os nossos professores do mestrado, pelo carinho e os conhecimentos transmitidos.

A todos os funcionários do NPPM, o grande Josy, por sua alegria que nos contagia.

Aos amigos do grupo da farmacologia, são pessoas que vou levar para vida.

Obrigado a todas as pessoas que contribuíram para meu sucesso e crescimento como pessoa, sou o resultado da confiança e da força de cada um de vocês. OBRIGADO!!!

RESUMO

A úlcera gástrica é uma das doenças mais prevalentes em adultos no mundo, possui caráter benigno, e é definida como um distúrbio na integridade da mucosa gástrica que causa um dano superficial e se estende da camada muscular da mucosa até a submucosa, ou mais profundamente, devido a um processo inflamatório por sangramento e perfurações, levando a uma alta morbimortalidade. A terapia para tratamento de úlcera é composta por vários fármacos, porém os efeitos colaterais são fatores que fazem necessário os estudos com produtos naturais devido à alta demanda de fármacos para o tratamento de doenças do trato gastrointestinal e os seus efeitos adversos. O fitol, (3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol) é um diterpeno que pertence ao grupo dos álcoois acíclicos insaturados. Não há relatos sobre a atividade gastroprotetora do fitol na literatura, porém outros estudos demonstraram atividades antimicrobiana e anti-inflamatória. O objetivo desse estudo foi investigar a atividade gastroprotetora do fitol em modelos de lesões gástricas em ratos e seus possíveis mecanismos de ação. Para isso, foram utilizados ratos Wistar machos (180-250 g), e foi avaliado o percentual de inibição da área de lesões induzidas em relação ao controle (veículo). Todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo protocolo CEUA (498/18). Os dados são representados como média \pm E.P.M. * $p < 0,05$ vs. grupo veículo (ANOVA one way e teste de Tukey). No modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto, o fitol, administrado por via oral 1h antes da aplicação do agente ulcerogênico, apresentou efeito gastroprotetor significativo nas doses de 12,5 (0,69 \pm 0,31%) 25 (1,93 \pm 0,78%) e 50 mg/kg (0,98 \pm 0,47%) ao reduzir a área de lesão 96%, 90% e 95% (* $p < 0,05$), respectivamente, em relação ao veículo (19,18 \pm 1,05%). Nas lesões induzidas por isquemia e reperfusão, o fitol nas doses 12,5 e 25 mg/kg, v.o., também diminuiu significativamente (* $p < 0,05$) as áreas das lesões (1,51 \pm 0,82 mm²) em 89,3% e (7,65 \pm 2,0 mm²) em 45,89%, respectivamente, quando comparado com o grupo veículo (14,14 \pm 3,6 mm²). No modelo de lesões induzidas por ibuprofeno, a dose de 12,5 mg/kg promoveu redução da área de lesão em 54,95% quando comparado ao veículo. Este estudo demonstra o efeito gastroprotetor e/ou cicatrizante do fitol e sugere que o mesmo pode estar associado à sua ação antioxidante. Na avaliação da atividade antioxidante o tratamento com fitol restaurou a mucosa gástrica, reduzindo os níveis da MPO (74%) e MDA (59%), aumentou a quantidade de grupamento sulfidrila não proteico (88%) e restaurou a atividade da CAT e SOD comparado ao grupo veículo. Nas lesões induzidas por ácido acético, os ratos foram submetidos a processos cirúrgicos para indução da úlcera. No primeiro dia após a indução da úlcera iniciou-se o tratamento com fitol nas doses de 12,5; 25; 50 e 100 mg/kg durante 7 dias, diminuindo significativamente a área da lesão ulcerativa (43,17 \pm 7,28 mm³) 84%; (49,42 \pm 7,50 mm³) 81%; (45,32 \pm 13,74 mm³) 83%; (86,75 \pm 10,50 mm³) 68%, respectivamente, em comparação ao grupo veículo (272,20 \pm 18,41 mm³), demonstrando possível efeito cicatrizante, devido a restauração do tecido.

Palavras-chave: Atividade gastroprotetora. Terpenóides. Fitol. Úlcera gástrica. Cicatrização.

ABSTRACT

Gastric ulcer is one of the most prevalent diseases in adults in the world, is benign in nature, and is defined as a disturbance in the integrity of the gastric mucosa that causes superficial damage and extends from the muscular layer of the mucosa to submucosa, or more deeply, due to an inflammatory process by bleeding and perforations, leading to a high morbidity and mortality. Ulcer therapy is composed of several drugs, but the side effects are factors that make it necessary to study with natural products due to the high demand of drugs for the treatment of diseases of the gastrointestinal tract and their adverse effects. Phytol, (3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-en-1-ol) is a diterpene belonging to the group of unsaturated acyclic alcohols. There are no reports on phytol gastroprotective activity in the literature, but other studies have demonstrated antimycobacterial and anti-inflammatory activities. The objective of this study was to investigate the phytoprotection activity of phytol in gastric lesion models in rats and their possible mechanisms of action. For this, male Wistar rats (180-250 g) were used, and the percentage of inhibition of the lesion area induced in relation to the control (vehicle) was evaluated. All experimental protocols were approved by the CEUA protocol (498/18). Data are represented as mean \pm S.P.M. * $p < 0.05$ vs. vehicle group (ANOVA one way and Tukey test). In the model of gastric lesions induced by absolute ethanol, phytol, administered orally 1 h prior to the application of the ulcerogenic agent, had a significant gastroprotective effect at doses of 12.5 ($0.69 \pm 0.31\%$) 25 ($1.93 \pm 0.78\%$) and 50 mg / kg ($0.98 \pm 0.47\%$) by reducing the area of injury 96%, 90% and 95% (* $p < 0.05$), respectively, in relation to the vehicle ($19.18 \pm 1.05\%$). In the lesions induced by ischemia and reperfusion, phytol at doses 12.5 and 25 mg / kg, vo, also significantly decreased (* $p < 0.05$) the lesion areas (1.51 ± 0.82 mm²) in 89, 3% and (7.65 ± 2.0 mm²) in 45.89%, respectively, when compared to the vehicle group (14.14 ± 3.6 mm²). In the model of lesions induced by ibuprofen, the dose of 12.5 mg / kg promoted reduction of the lesion area by 54.95% when compared to the vehicle. This study demonstrates the gastroprotective and / or cicatrizant effect of phytol and suggests that it may be associated with its antioxidant action. In the evaluation of the antioxidant activity the phytol treatment restored the gastric mucosa, reducing the levels of MPO (74%) and MDA (59%), increased the amount of non-protein sulfhydryl grouping (88%) and restored CAT and SOD activity compared to the vehicle group. In the lesions induced by acetic acid, the rats were submitted to surgical procedures for induction of ulcer. On the first day after the ulcer induction the treatment with phytol was started at doses of 12.5; 25; 50 and 100 mg / kg for 7 days, significantly reducing the area of the ulcerative lesion (43.17 ± 7.28 mm³) 84%; (49.42 ± 7.50 mm³) 81%; (45.32 ± 13.74 mm³) 83%; (86.75 ± 10.50 mm³), 68%, respectively, compared to the vehicle group (272.20 ± 18.41 mm³), demonstrating a possible healing effect due to tissue restoration.

Keywords: Gastroprotective activity. Terpenoids. Fitol. Gastric ulcer. Healing.

LISTAS DE FIGURAS

FIGURA 1-	Anatomia do estômago e estrutural da mucosa gástrica	11
FIGURA 2-	Os tipos de glândulas gástricas e as células predominantes	12
FIGURA 3-	Células relacionadas à função gástrica	15
FIGURA 4-	Produção de HCl pela células das glândulas gástrica	17
FIGURA 5-	Ilustração esquemática da secreção de ácido gástrico pela célula parietal gástrica	18
FIGURA 6-	Fatores agressores e protetores da mucosa gástrica	21
FIGURA 7-	Sistema antioxidante	27
FIGURA 8-	Úlcera gástrica	27
FIGURA 9-	Mecanismos de defesa e agentes agressores da mucosa gástrica	28
FIGURA 10-	Estrutura química da unidade de isopreno e fitol	29
FIGURA 11-	Estrutura química do fitol	30
FIGURA 12-	Efeito do Fitol nas doses de 3,1; 6,2; 12,5; 25 e 50 mg/kg e da carbenoxolona (100 mg/kg) no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em ratos	50
FIGURA 13-	Efeito do fitol nas lesões gástricas induzidas por isquemia e reperfusão	51
FIGURA 14-	Efeito do fitol nas doses de 12,5; 25 e 6,25 mg/kg e da cimetidina (100 mg/kg) no modelo de lesões gástricas induzidas por ibuprofeno.	52
FIGURA 15	Participação dos níveis de grupamentos sulfidrilicos no efeito	

	gastroprotetor do fitol no modelo de úlcera induzida por etanol.	53
FIGURA 16	Efeito do fitol sobre a atividade da catalase na mucosa de estômagos lesionados por etanol absoluto.	54
FIGURA 17	Efeito do fitol sobre a atividade tecidual da enzima superóxido dismutase (SOD) em modelo de úlcera induzida por etanol absoluto	55
FIGURA 18	Efeito do fitol sobre os níveis teciduais de Malondialdeído (MDA) em modelo de úlceras induzidas por etanol absoluto.	56
FIGURA 19	Efeito do fitol sobre a atividade de (MPO) em mucosa de estômagos lesionados por etanol absoluto, em ratos.	57
FIGURA 20	Efeito do fitol sobre lesões gástricas induzidas por ácido acético (80%) em ratos.	59

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACh	Acetilcolina
ATP	Trifosfato de adenosina
AMPc	Monofosfato cíclico de Adenosina
AINES	Anti-inflamatórios não esteroidais
AC	Anidrase carbônica
CEEA	Comissão de Ética em Experimentação Animal
CO ₂	Dióxido de carbono (CO ₂)
CAT	Catalase
cGMP	Monofosfato cíclico de guanosina (cGMP)
E.P.M.	Erro Padrão da Média
EROS	Espécies Reativas de Oxigênio
GI	Gaстрintestinal
GSH	Glutathiona redutase
HCl	Ácido clorídrico
IP3	Trifosfato de inositol
MPO	Mieloperoxidase
MDA	Malondialdeído
NO	Óxido Nítrico
NAC	N-acetilcisteína
PKA	Proteína quinase A
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
SOD	Superóxido dismutase
TGI	Trato Gastrointestinal
IBP	Inibidores da bomba de prótons

Sumário

1.0 INTRODUÇÃO	13
1.1 PROBLEMATIZAÇÃO	13
1.4 SECREÇÃO ÁCIDO GÁSTRICA	19
1.5 FATORES PROTETORES DA MUCOSA GÁSTRICA	23
1.5.1 FLUXO SANGUÍNEO	24
1.5.2 MUCO E BICARBONATO	25
1.5.3 PROSTAGLANDINAS	25
1.5.4 ÓXIDO NÍTRICO	26
1.6 ÚLCERA GÁSTRICA	30
1.7 FÁRMACOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DA ÚLCERA	34
1.7.1 ANTIÁCIDOS	34
1.7.4 INIBIDORES DE BOMBA DE PRÓTONS (IBPS)	35
1.7.5 ANÁLOGOS DE PROSTAGLANDINAS	36
1.7.6 TRATAMENTO DA INFECÇÃO POR <i>Helicobacter pylori</i>	37
1.8 PRODUTOS NATURAIS COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA	38
1.9 TERPENÓIDES	39
1.9.1 FITOL	41
2.0 OBJETIVO	44
2.1 OBJETIVO GERAL	44
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
3.0 OBTENÇÃO DO FITOL	46
3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS	46
3.2 DROGAS E REAGENTES	46
4.0 ENSAIOS FARMACOLÓGICOS COM FITOL	47
4.1 LESÕES GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ETANOL ABSOLUTO EM RATOS	47
4.2 LESÕES GÁSTRICA INDUZIDA POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO EM RATOS	47
4.3 LESÕES GÁSTRICAS INDUZIDAS POR IBUPROFENO	47
4.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	48
4.5.1 ATIVIDADE DA CATALASE	48
4.5.2 ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE	Error! Bookmark not defined.
4.5.3 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE MALONDIALDEÍDO	Error! Bookmark not defined.
4.5.4 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA GLUTATIONA TOTAL (GSH)	48
4.5.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO FITOL SOBRE NÍVEIS DA SUPERÓXIDO REDUTASE (SOD)	50

4.6. LESÕES GÁSTRICA INDUZIDA POR ÁCIDO ACÉTICO EM RATOS.....	51
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	51
5.0 RESULTADOS	53
5.1 EFEITO DO FITOL SOBRE ÚLCERAS INDUZIDAS POR ETANOL ABSOLUTO EM RATOS.....	53
5.2. EFEITO DO FITOL SOBRE LESÕES GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO.....	54
5.3. EFEITO DO FITOL SOBRE LESÕES GÁSTRICAS INDUZIDAS POR IBUPROFENO.....	55
5.5. PARTICIPAÇÃO DA GLUTATIONA (GSH) NO EFEITO GASTROPROTETOR DO FITOL NO MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO....	56
5.5.1 EFEITO DO FITOL SOBRE OS NÍVEIS TECIDUAIS DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) EM MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO	57
5.5.2 PARTICIPAÇÃO DA ENZIMA CATALASE NO EFEITO GASTROPROTETOR DO FITOL EM MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO	58
5.5.3 EFEITO DO FITOL SOBRE OS NÍVEIS TECIDUAIS DE MALONDIALDEÍDO (MDA) EM MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO.....	59
5.5.4 EFEITO DO FITOL NA REDUÇÃO DA ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE (MPO) EM NO MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO. ..	60
5.6. EFEITO DO FITOL SOBRE ÚLCERAS GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO	61
6.0 DISCUSSÃO	64
7.0 CONCLUSÕES	74
8.0 PERSPECTIVAS.....	76
9.0 REFERÊNCIA	78

Introdução

1.0 INTRODUÇÃO

1.1 PROBLEMATIZAÇÃO

Atualmente, as condições patológicas do trato gastrintestinal (TGI) como gastrite, refluxo gastroesofágico, úlcera péptica, síndrome do intestino irritado e colite têm causado elevado impacto nas questões que envolvem a saúde pública. Isso é ocasionado principalmente pelas mudanças no modo de vida da população, como condições de estresse emocional, dieta inadequada, além do aumento do consumo de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e outros medicamentos, cujos efeitos adversos incluem sinais e sintomas gastrintestinais, tais como dispepsia, dor abdominal, náusea, sangramentos gastrintestinais, vômitos, diarreia e ulcerações (LAINE et al., 2008; WALLACE e FERRAZ, 2010; FERREIRA et al., 2016).

Além desses sintomas comuns as doenças intestinais como a úlcera péptica é um destaque, pois ela afeta entre 8 a 10% da população dos países industrializados. No continente americano milhões de adultos têm úlcera ativa em alguma fase da vida e somente nos Estados Unidos possui a maioria dos casos de úlcera, sendo que 500.000 novos casos e 4 milhões de recorrências, demonstrando 8 a 14% na população em geral. Maioria destas úlceras é tratada com eficácia, embora outras evoluam a ponto de gerar uma complicação, podendo, inclusive, levar ao óbito (PINHEIRO, 2009; BERNADO, 2017).

É preciso ressaltar a prevalência de úlcera péptica estimada no Brasil, em estudos realizados por Oliveira et al, (2015) foi de 0,1 – 0,2 % em 2008, contudo, vale dizer que há subnotificações dos casos. Esse distúrbio causa elevadas perdas econômicas e gastos com saúde devido à baixa produtividade do trabalhador, atividades limitadas, visitas médicas e hospitalizações (FERREIRA, 2005).

Diante deste agravante, surge a necessidade de novas alternativas que garantam segurança e eficácia. Dentre as opções, as plantas e seus metabolitos são promissores na busca por novas terapias que possam ser utilizadas no tratamento das doenças que acometem o trato gastrintestinal (SANTIN et al., 2010; DE ALMEIDA, 2013).

Portanto, o mecanismo de ação e o potencial terapêutico de uma grande variedade de plantas estão sendo investigados e fornecerão informações úteis para

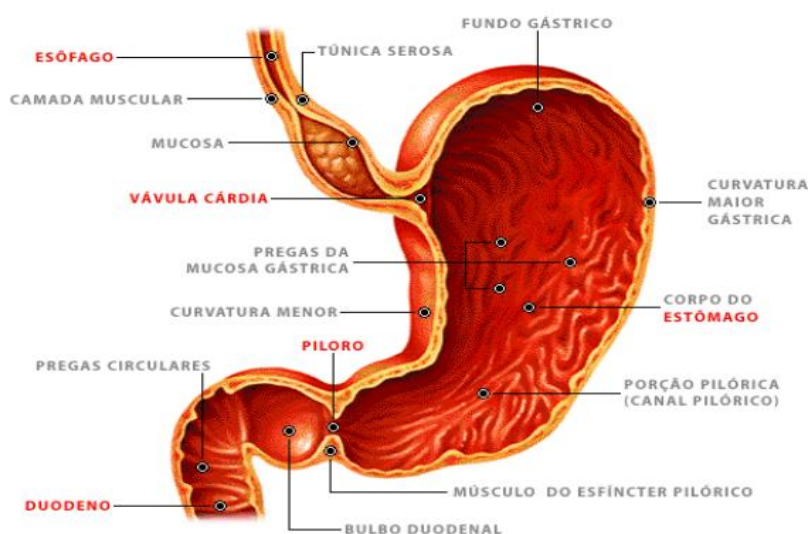
o desenvolvimento de novas farmacoterapias. Contudo, os estudos ainda são escassos e o Brasil, mesmo sendo detentor de uma biodiversidade rica, desconhece o valor econômico de seus recursos botânicos, sendo necessário cada vez mais estudos farmacológicos e fitoquímicos (DE ALMEIDA, 2013).

1.2 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO ESTÔMAGO

O trato gastrointestinal (TGI) é constituído por um tubo digestivo e suas glândulas secretoras anexas, sendo estruturalmente caracterizado como um tubo muscular derivado do mesoderma com um epitélio especializado se estendendo desde a faringe posterior até o ânus (MARCONDES, 2012). Este é capaz de exercer diversas atribuições no organismo, como o transporte de nutrientes, água e eletrólitos do meio externo para o meio interno do corpo e na defesa contra diversos patógenos (BOEING, 2015; BRAGA, 2016).

Possui o estômago como o principal órgão do TGI, que tem como característica ser muscular oco, grande, em forma de feijão, o qual na sua forma anatômica divide-se em três porções: fundo, corpo e antro pilórico. É limitado por dois sistemas de esfíncteres: o esfíncter esofágico inferior, localizado na parte superior ou proximal do estômago; e o esfíncter pilórico, situado na parte inferior ou distal do estômago (SILVA, 2010) (Figura 1).

Figura 1 - Anatomia do estômago e estrutural da mucosa gástrica

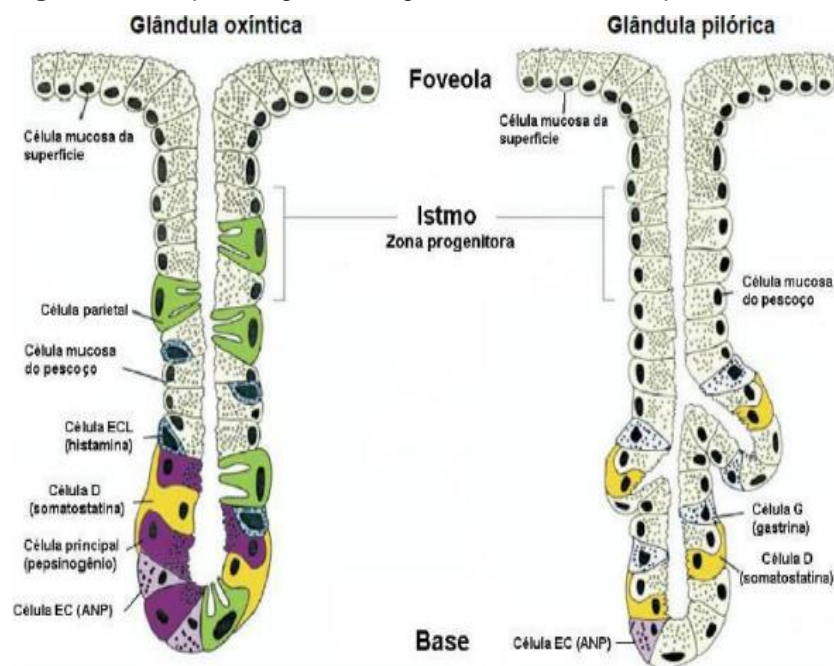


A principal substância das secreções do estômago é o ácido clorídrico (HCl), secretado pelas células parietais (oxínticas), sob controle da gastrina (um hormônio secretado pelas células G, histamina (um mediador local, secretado pelas células enterocromafin) e acetilcolina (o neurotransmissor parassimpático vagal); além disso o estômago secreta pepsina, enzima proteolítica, que é secretada na forma inativa, como pepsinogênio. O pepsinogênio é liberado dos grânulos de zimogênio nas células principais, estimulado pela atividade vagal, secretina e colecistoquinina (GOMES, 2006).

Estas secreções juntamente com o epitélio colunar de revestimento do estômago auxiliam o processo digestivo, secretando muco e bicarbonato e formando invaginações que são denominadas fossetas, e a abertura delas no lúmen gástrico correspondem às gástricas, que dão origem às glândulas gástricas, classificadas em oxínticas, cárdicas e pilóricas (OLIVEIRA, 2011). A composição das fossetas da mucosa do estômago é formada por um gel com característica elástica, viscosa e aderente que conserva o pH próximo ao neutro (TOSTIVINT et al., 2008; OLIVEIRA, 2011; CORDEIRO, 2012; SOMENSI, 2015) (FIGURA 2).

Do ponto de vista secretor, o estômago é dividido em: cárdica, localizada logo abaixo do esfíncter esofágico inferior, contendo apenas glândulas secretoras de muco; região oxíntica, situada no corpo do estômago, equivalendo a 80% da sua área total, dispondo de grande número de células parietais, responsáveis pela secreção do ácido clorídrico (HCl) e do fator intrínseco, e células principais que secretam o pepsinogênio; e região antro-pilórica, contendo glândulas com células G e células D, que secretam gastrina e somatostatina, respectivamente (FALCÃO, 2014) (Figura 2).

Figura 2 - Os tipos de glândulas gástricas e as células predominantes.



Fonte: Falcão, 2008

As glândulas oxínticas são as mais abundantes, ocupando o corpo e o fundo do estômago, e constituí o sítio da secreção de HCl. Essas glândulas são constituídas primeiramente pelas células mucosas do colo e o epitélio gástrico que secretam basicamente muco; secundamente pelas células parietais que segregam o ácido clorídrico (HCl) e também o fator intrínseco (necessário para a absorção de vitamina B12), preferencialmente localizadas no corpo glandular. E em terceiro lugar, encontram-se as células principais, 20 vezes mais frequentes que as anteriores, localizadas principalmente no fundo glandulares e tem como função secretar pepsinogênio (CALABUIG; RELLOSO; CUBERO, 2009; PINTO, 2013).

Já as glândulas cárdicas localizam-se na terminação do esôfago, sendo responsáveis pela secreção do muco e pepsinogênio. Compõem-se por alguns tipos celulares tais como mucócitos, endocrinócitos, células parietais e poucas ou nenhuma células zimogênicas (SCHUBERT, 2010).

E por fim, as glândulas pilóricas que ocupam em torno de 15% do estômago. Essas glândulas são similares às cárdicas, tanto na forma quanto na constituição celular, no entanto, as glândulas pilóricas são curtas e desembocam em fossetas longas e apresentam muitos endocrinócitos produtores do hormônio gastrina, células enterocromafins, produtoras de serotonina, de células D, de somatostatina e de enteroglucagon (SCHUBERT, 2010; PINTO, 2013).

Quanto à motilidade, o estômago pode ser dividido em uma porção inicial, a qual recebe alimentos oriundos do esôfago, e a porção final que serve para misturar e fazer a propulsão do conteúdo pelo lúmen (FERREIRA et al., 2016).

Dentre os vários fatores responsáveis pela regulação da motilidade gastrointestinal estão a acetilcolina e a serotonina (DE PAULA, 2009). A serotonina presente nos nervos entéricos é sintetizada no sistema nervoso entérico pelos neurônios serotoninérgicos que constituem cerca de 2% de todos os neurônios mesentéricos (SIKANDER et al., 2009), em nervos aferentes podem estimular o peristaltismo e a secreção ácida gástrica contribuindo para a formação de lesão gástrica (DE PAULA, 2009)

A atividade da musculatura gástrica é modulada por influências miogênicas, neurais e hormonais. Contrações miogênicas espontâneas são fundamentais para a motilidade gástrica, ocorrendo mesmo na ausência de qualquer outra influência e com a participação das células intersticiais na propagação do estímulo elétrico pelas células musculares lisas (ROSTAS et al., 2011).

A regulação neuronal pode ser originada primariamente no plexo mioentérico gástrico, o qual também contribui para a estimulação extrínseca parassimpática (vagal) e simpática (SILVA, 2014). Além disso, diferentes hormônios também exercem significativo papel na regulação da motilidade gástrica de forma estimulatória (gastrina, histamina e acetilcolina) ou inibitória (colecistocinina, glucagon, peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1), peptídeo YY, secretina e somatostatina) (ROSTAS et al., 2011). O controle rigoroso da motilidade gástrica garante um adequado esvaziamento gástrico, em taxa e composição adequada, permitindo assim uma ótima absorção intestinal (SILVA, 2014).

A gastrina é o principal regulador fisiológico da secreção ácida gástrica é também um hormônio peptídico produzido e secretado pelas células G, localizadas no antro gástrico, durante a alimentação, cuja secreção é regulada por mecanismos de “feedback” envolvendo a secreção gástrica (ROBERTSON et al., 2009; DE PAULA, 2009; CHAKRAVORTY et al., 2009).

A gastrina, além de estimular diretamente as células parietais, também estimulam as células enterocromafins (ECL) a liberar histamina, estimula os receptores de colecistocinina e gastrina (CCK2) presentes nas células parietais e nos receptores para gastrina das células ECL (DE PAULA, 2009), estimula a secreção ácida gástrica e a proliferação de células da mucosa gástrica.

As células G são moduladas pela somatostatina que provocam diminuição da secreção de gastrina (KIDD et al., 2007). Os receptores de gastrina estão presentes nas células parietais, são ativados pela gastrina juntamente com a histamina e acetilcolina que também possuem receptores nas células parietais. Essas ligações aos receptores específicos de cada substância ativam a secreção gástrica (CHAKRAVORTY et al., 2009) (Figura 3).

A histamina é uma das responsáveis pela modulação de células epiteliais, do músculo liso e da função do sistema imunológico. No estômago a histamina é liberada pelas células ECL, localizadas nas glândulas oxínticas, e ativam os receptores H2 das células parietais como parte do processo de regulação da secreção ácida gástrica (ANCHA et al., 2007; KIDD et al., 2007). Alguns moduladores neurais interferem na liberação de histamina pelas células ECL (KIDD et al., 2007).

A somatostatina, um inibidor da secreção gástrica, tem sua liberação estimulada por ativação colinérgica, é um peptídeo regulatório, produzido e liberado pelas células D, que modula as células G provocando diminuição da secreção de gastrina estimuladora das células ECL. Também é um potente inibidor da secreção de histamina, consequentemente inibe a secreção de ácido gástrico e pepsina (JAHOVIC et al., 2007; SCHONBRUNN, 2008; TOSTIVINT et al., 2008).

Figura 3: Células relacionadas à função gástrica

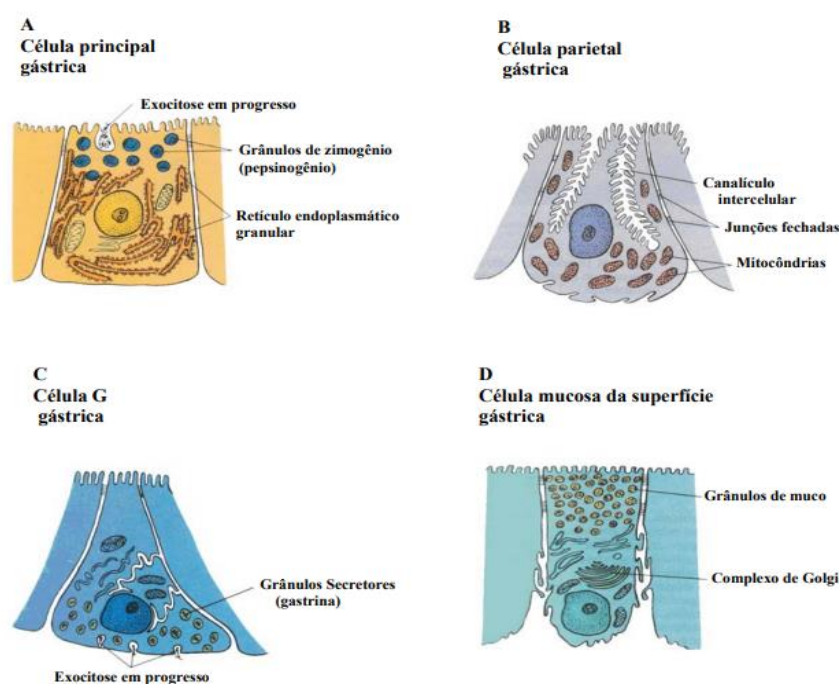


Figura 3. Células do epitélio gástrico: Estão representadas as células encontradas nas glândulas da mucosa gástrica: célula péptica (A) responsável pela secreção de pepsina e fator intrínseco, célula parietal (B) responsável pela secreção de HCl, célula G (C) responsável pela síntese e secreção de gastrina e célula mucosa cervical (D) responsável pela síntese e secreção de muco e bicarbonato. Fonte : Retirada de Schauf, 1993. Guanabara Koogan

1.4 SECREÇÃO ÁCIDO GÁSTRICA

O estômago secreta 2,5 L de suco gástrico todos os dias. Este ambiente ácido auxilia no processo de digestão facilitando a quebra de proteínas e potencializando a absorção de ferro, cálcio e vitaminas, além de também possuir importante papel dentro do mecanismo de defesa da mucosa, atuando contra agentes infecciosos na região (CORDEIRO, 2012; CARVALHO, 2017).

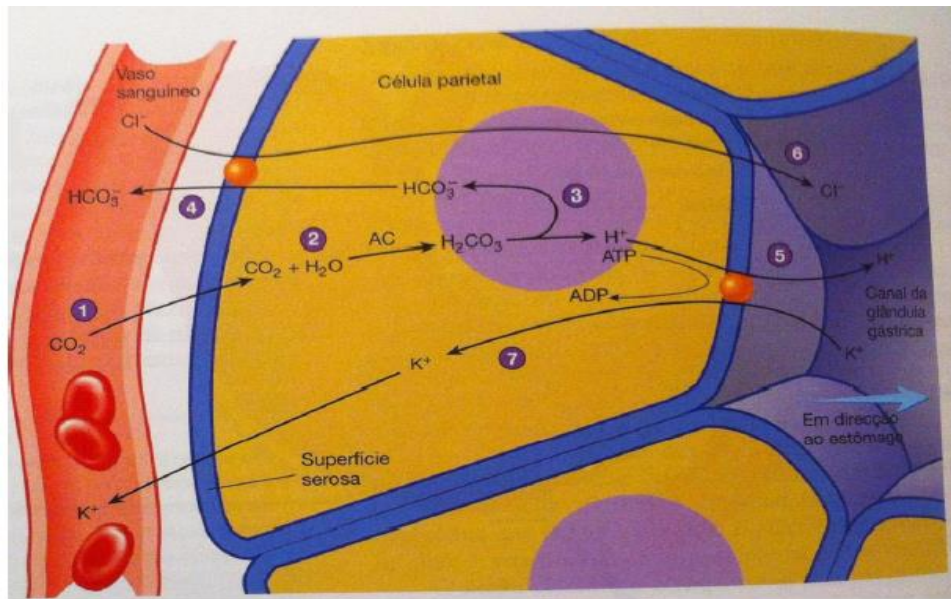
A secreção do HCl gástrico ocorre nas células parietais através da ativação da H^+/K^+ -ATPase - bomba de prótons, processo realizado pelas células oxínticas. É uma ação contínua e complexa controlada por múltiplos fatores centrais (neurais) e periféricos (endócrino e parácrino). (MARCONDES, 2012).

O controle da secreção ácida pelas células parietais apresenta papel relevante na formação da úlcera péptica, sendo considerado um alvo específico para a ação de fármacos (CORDEIRO, 2012; YUAN et al., 2006).

Os principais estimulantes parácrinos, hormonais e neuronais da secreção ácida são, respectivamente: histamina, liberada das células enterocromains; gastrina, liberada das células G e acetilcolina (ACh), liberada dos neurônios pós-ganglionares entéricos. A principal substância inibidora da secreção de HCl é a somatostatina, liberada das células D oxínticas e pilóricas (mecanismo parácrino) (SILVA, 2010).

A produção deste ácido começa (Figura 4) com a difusão do dióxido de carbono (CO_2) para a célula (1). Este reage com a água (H_2O) numa reação catalisada pela enzima anidrase carbónica (AC) (2) havendo a formação de ácido carbónico (H_2CO_3). O ácido carbónico dissocia-se em íon bicarbonato (HCO_3^-) e hidrogénio (H^+) (3). O íon bicarbonato volta à corrente sanguínea onde uma molécula de troca iónica plasmática troca HCO_3^- pelo íon cloro (Cl^-) através de um mecanismo de contra-transporte (4). O íon H^+ vai para os canais das glândulas gástricas através do mecanismo de transporte ativo (5), os íons Cl^- difundem-se com os íons H^+ (6) e alguns íons de potássio (K^+) são levados para as células por troca com íon H^+ por contra-transporte (7) (CARVALHO, 2013)

Figura 4: Produção de HCl pela células das glândulas gástricas

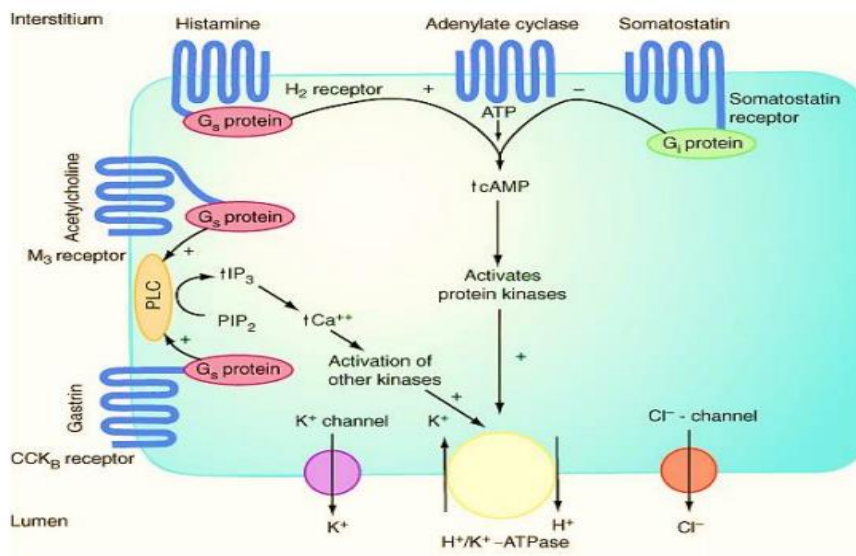


Fonte: ALMEIDA, 2013.

Essa estimulação da secreção gástrica é realizada por 3 fases: fase cefálica, que inicia-se pela visão, cheiro, paladar, mastigação e deglutição do alimento, sendo mediada pela atividade vagal; fase gástrica, que envolve estímulo mecânico de receptores pela digestão gástrica, mediado por impulsos vagais e pela liberação da gastrina; fase intestinal, que se inicia após a chegada do alimento contendo proteínas digeridas, no qual irá ativar reflexos parassimpáticos que têm um efeito estimulatório direto nas glândulas gástricas (FERREIRA, 2005; SCHNEIDER, 2014; ESTRELA, 2016).

O processo fisiológico é controlado por segundos mensageiros cujas vias são ativadas como resultado da ligação de gastrina, acetilcolina e histamina à receptores específicos sobre a superfície basolateral das células parietais (DE PAULA, 2009). Dessa forma, as concentrações celulares aumentadas de Ca^{2+} por gastrina/ACh, e de AMPc, por histamina, convergem para a última etapa da secreção ácida mediada pela H^+/K^+ -ATPase (MADALOSSO, 2011; CORDEIRO, 2012; ALMEIDA, 2013) (FIGURA 5).

Figura 5 – Ilustração esquemática da secreção de ácido gástrico pela célula parietal gástrica.



Estes estímulos dos nervos aferentes vagais cefálicos e gástricos são de forma direta a célula por meio da ativação dos receptores colinérgicos muscarínicos para acetilcolina (ACh) e a gastrina, provavelmente, ativa um receptor específico na célula parietal. E tanto a gastrina quanto a acetilcolina induzem a liberação de histamina a qual atuará em receptor histamínico (SCHUBERT; PEURA, 2008).

Logo, a sinalização da secreção ácida por neurotransmissores como ACh, que é lançada pelos neurônios pós-ganglionares entéricos. A gastrina é liberada por células G do antro gástrico e a histamina é sintetizada pelas células tipo enterocromafins. Tais neurotransmissores atuam por meio da ativação dos seus receptores específicos M3, CCK2 e H2, respectivamente (FALCÃO, 2014; YAO; FORTE, 2002). A H⁺/K⁺-ATPase é ativada por duas vias de sinalização da célula parietal: a via dependente de adenosina monofosfato e a via dependente de íons cálcio (SOUSA, 2016).

A ativação dos receptores M3 (acetilcolina) e CCK-2 (gastrina) presentes na célula parietal estimula a secreção, por mecanismo intracelular que aumenta o cálcio citosólico livre na célula parietal. Esses receptores estão acoplados a fosfolipases que catalisam a quebra de fosfolípidos de membrana em trifosfato de inositol (IP3) e diacilglicerol (DAG). O IP3 estimula a liberação de cálcio dos estoques intracelulares que, por sua vez, ativa a proteína quinase C (PKC), levando à

fosforilação de proteínas responsáveis pela ativação da bomba de prótons, H⁺K⁺ATPase (RIBEIRO, 2013; BERTÉ, 2013).

A histamina (receptor H₂ acoplado a proteína G) exerce sua ação estimulando a conversão do trifosfato de adenosina intracelular em adenosina monofosfato cíclico (AMPc) que ativa a proteína quinase A (PKA), que também fosforila proteínas envolvidas na ativação da bomba de próton. A secreção ácida estimulada pela histamina, também pode ocorrer de forma indireta através da sua ligação a receptores H₃, que inibem a secreção de somatostatina (KAZUMORI; ISHIHARA; RUMI, 2004; BOEING, 2015) (Figura 5).

Dessa forma os principais mecanismos responsáveis pela secreção de ácido gástrico estão relacionados á ativação dos receptores muscarínicos M₃ nas células parietais pela ACh que é liberada pela estimulação parassimpática, ela estimula a secreção de pepsinogênio pelas células pépticas, de ácido clorídrico pelas células parietais, e de muco pelas células da mucosa; em comparação a histamina e gastrina, estimulam fortemente a secreção de ácido pelas células parietais, mas tem pouco efeito sobre as demais células (CARVALHO, 2017; MARCONDES 2012).

A histamina liberada pelas células ECL induz as células parietais a secretarem ácido clorídrico ao ativar receptores H₂. A gastrina liberada pelas células G estimula as células parietais diretamente através da ligação aos receptores CCKB presentes na membrana da célula ou indiretamente estimulando a liberação de histamina das ECL (FALCÃO, 2014; MARTINS, 2017).

Quando não estimulada, a atividade da H⁺/K⁺ATPase é mantida predominantemente dentro de túbulo ou vesículas citoplasmáticas. Sob estimulação, estas vesículas se fundem com a membrana plasmática apical, resultando em extensiva secreção. Ao cessar a secreção, H⁺/K⁺ATPase é recolhida da membrana apical e restabelecida ao seu compartimento túbulo-vesicular. Não se sabe ao certo o mecanismo exato desta regulação, mas os dados sugerem que microfilamentos de actina, GTPases e também proteínas de ancoragem/fusão sejam os responsáveis por este processo (SCHUBERT; PEURA, 2008).

A inibição da secreção gástrica é mediada principalmente por ações da somatostatina, fatores de crescimento epidérmico e prostraglandinas E₂ e I₂. A somatostatina inibe a secreção de histamina pelas células do tipo ECL e a secreção de gastrina pelas células G. O receptor de somatostatina tipo 2 (SSTR-2) é o principal subtipo que exerce efeitos de mediação da somatostatina na secreção

gástrica. As prostaglandinas (PGs) inibem a secreção de ácido por ação direta nas células parietais por inibir a secreção induzida pela histamina, sendo um principal componente protetor (SCHUBERT, 2015).

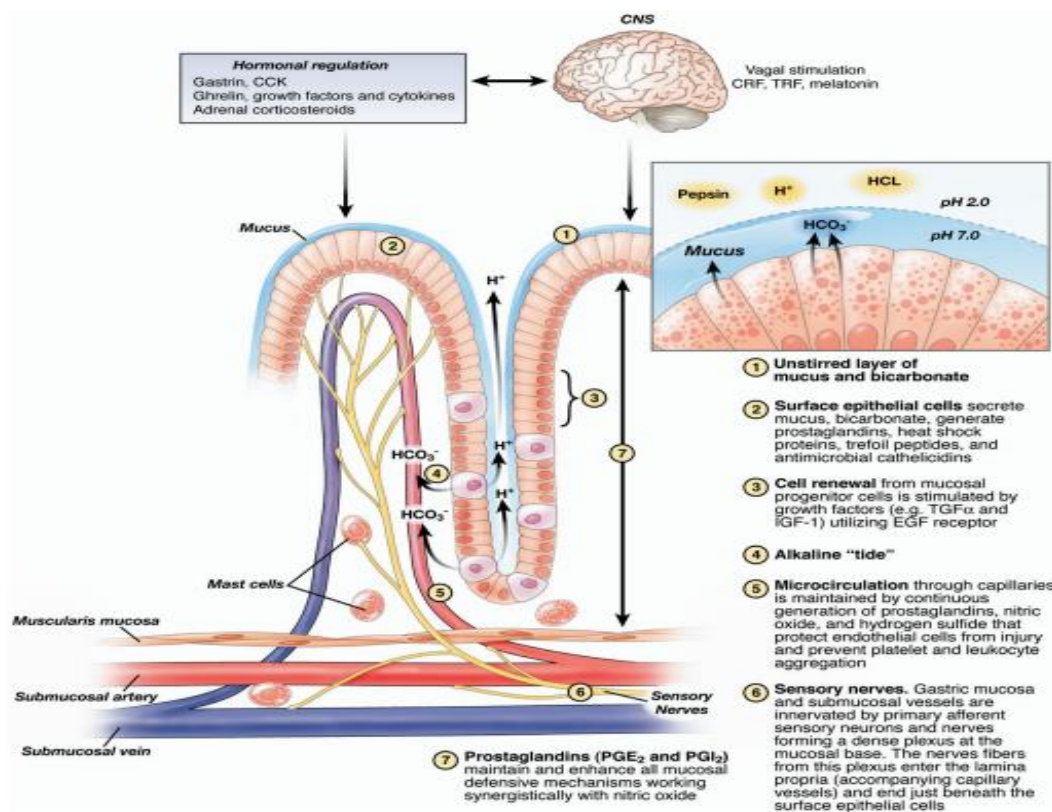
1.5 FATORES PROTETORES DA MUCOSA GÁSTRICA

A mucosa gástrica está constantemente exposta a numerosos fatores agressivos exógenos e endógenos. Porém, sob circunstâncias normais a mucosa gastroduodenal está protegida por seus próprios mecanismos de defesa (HUANG et al., 2016). A perda da integridade da mucosa estomacal pela ação dos agentes agressores tem início a partir de distúrbios secretórios, como o aumento da acidez do suco gástrico (H^+), do ácido biliar e da pepsina. Também fatores externos podem ser considerados agressores, como a utilização exagerada de AINES, o fumo, álcool e a colonização da *Helicobacter pylori* (SCHNEIDER, 2014).

Diante dessa problemática, é visto que o estômago possui proteção contra injúrias motivadas por vários agentes irritantes e nocivos devido à ativação de vários mecanismos de defesa. Esta resistência permite à mucosa continuar íntegra mesmo quando sujeita às substâncias com larga variação de temperatura, potencial hidrogeniônio (pH) e osmolaridade (ADEFISAYO, 2017).

A defesa ou proteção da camada mucosa compreendem fatores pré-epiteliais, uma barreira epitelial, envolvendo a produção de muco e bicarbonato, PGs, grupamentos SH, fluxo sanguíneo constante, NO e sulfeto de hidrogênio (H_2S) cuja função principal é evitar o contato do ácido clorídrico com as células do epitélio (MARTINS, 2017).

Figura 6: Fatores agressores e protetores da mucosa gástrica.



Fonte: MARTINS, 2017

Dentre esses fatores protetores estão: o componente pré-epitelial (muco, bicarbonato e barreira fosfolipídica) que é a principal defesa e o componente epitelial que é uma camada contínua de células epiteliais superficiais, conectadas por junções firmes de fosfolipídios que constituem a segunda linha de defesa da mucosa com geração de bicarbonato. Outros mecanismos de defesa incluem a contínua renovação celular (acompanhada de fatores de crescimento e PGE₂), a manutenção do fluxo sanguíneo através dos microvasos na mucosa, a geração de óxido nítrico e inervação sensorial (TARNAWSKI et al, 2008; PERICO, 2014) (Figura 6).

1.5.1 FLUXO SANGUÍNEO

O fluxo sanguíneo é regulado por diversos mediadores inflamatórios, tais como o óxido nítrico, bradicinina e prostaglandinas e pelo sistema nervoso. A difusão de ácidos ou toxinas é resultante do aumento do fluxo sanguíneo da mucosa mediada pelos neurônios sensoriais aferentes que são fundamentais para limitar os danos e facilitar a reparação tecidual. Além disso, ele neutraliza e dilui a toxina ou o

ácido para evitar que tais substâncias se aglomerem na mucosa em concentrações citotóxicas (CORDEIRO, 2012).

Portanto, a microcirculação da mucosa gástrica promove a proteção gástrica por fornecer, quantidades significativas de bicarbonato (HCO_3^-), substâncias nutritivas e por remover CO_2 , H^+ , bem como permitir a difusão de agentes tóxicos do lúmen gástrico (SOUSA, 2013; MARTINS, 2015).

1.5.2 MUCO E BICARBONATO

O muco é produzido pelas células epiteliais e pelas células das glândulas gástricas, sendo secretado na grande parte do trato gastrointestinal desde o estômago até o cólon. Junto com o (HCO_3^-) é considerado a primeira linha de defesa da mucosa gástrica, pois mantém a superfície da mucosa com um pH de 6-7, em meio ácido (pH 1-2). E essa camada de muco/ HCO_3^- e fosfolipídios surfactantes confere uma eficiente proteção para a mucosa gástrica e duodenal (ATUMA et al., 2001; MARTINS, 2015).

O muco é composto de aproximadamente 95% de água e 5% de glicoproteínas, denominadas mucinas. Devido à sua aderência e estabilidade, é capaz de reter o bicarbonato secretado, mantendo um microambiente neutro (pH ~ 7,0), que previne a penetração de pepsina e a digestão proteolítica. Estimulam a produção dos hormônios gastrintestinais gastrina e secretina, a prostaglandina E2 (PGE2) e agentes colinérgicos (CARRASCO, 2014).

E o bicarbonato cria um gradiente de pH entre o lúmen e o epitélio gástrico, mantendo pH neutro na superfície das células epiteliais, além de inibir o contato da pepsina com o epitélio do estômago em virtude da presença de fosfolipídios hidrofóbicos. Um relevante agente nesta etapa são as prostaglandinas (PGs) que são produzidas pelo ácido araquidônico e que desempenham uma série de eventos para contribuir com a proteção da mucosa gástrica e estimulam a secreção de HCO_3^- (TAKEUCHI et al., 2006; ARAUJO; OLIVEIRA, 2012).

1.5.3 PROSTAGLANDINAS

As prostaglandinas (PGs) mantêm a integridade da mucosa gástrica pela inibição da secreção ácida, estimulação da secreção de muco e bicarbonato, inibição da ativação de mastócitos, diminuição da aderência leucocitária ao endotélio

vascular, inibição do apoptose, aumento ou manutenção do fluxo sanguíneo da mucosa, prevenindo a isquemia (CARRASCO, 2014).

Esses mediadores são produtos originados do ácido araquidônico, quimicamente são parte de um grupo chamado eicosanoides e liberado de fosfolipídeos de membrana de células lesadas, por ação catalítica da fosfolipase A2. Levam à regulação de várias funções fisiológicas, tais como: modulação da reação inflamatória, agregação plaquetária, angiogênese e fluxo sanguíneo da mucosa gastrointestinal sendo encontrada em pelo menos duas isoformas distintas denominadas COX-1 e COX-2 (LAINE et al., 2008; MARTINS, 2015).

As principais PG envolvidas na gastroproteção são as (PGE2) e I2 (PGI2), as quais podem ativar os receptores EP3 das células epiteliais, causando a diminuição da secreção de ácido e aumento da secreção de muco, respectivamente. A gastroproteção mediada pelas PG, do mesmo modo, abrange a ativação dos canais de K_{ATP} os quais estão envolvidos em diversos outros processos fisiológicos do sistema gastrointestinal, tais como a regulação do fluxo sanguíneo, secreção de ácido e contratilidade do estômago (PASSENTI et al., 2012; SCHNEIDER, 2014).

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) inibem, de forma não seletiva, as enzimas COX, portanto inibe também a síntese de PG. O seu uso crônico está relacionado ao desenvolvimento de gastrite e úlcera gástrica, fato que revela a influência das PG para a manutenção da integridade da mucosa gástrica (DIAS, 2014).

1.5.4 ÓXIDO NÍTRICO

O óxido nítrico (NO) é de grande importância na perfusão e regulação vascular por permitir a vasodilatação pela sinalização da célula muscular lisa via monofosfato cíclico de guanosina (GMPc) e, destaca-se como um importante mediador nos mecanismos de defesa gástrica, devido a sua capacidade de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica e a produção de muco e de inibir a aderência de neutrófilos às células endoteliais (WALLACE; MA, 2001; CARRASCO, 2014).

Além de ser produzido pelo endotélio vascular, células epiteliais e nervos sensoriais, através da atividade da enzima sintase de Óxido Nítrico neuronal (nNOS), endotelial (eNOS) e induzida (iNOS), responsável pela grande produção de NO, presente em macrófagos, neutrófilos e células endoteliais. Este mediador gasoso ativa a enzima guanilato ciclase, levando a formação de GMP cíclico, que

ativa proteínas quinase G, e dispara uma cascata de fosforilação para promover vasodilatação, também estimula a síntese de prostaglandinas, levando ao aumento de muco e bicarbonato, e participa do processo de cicatrização de úlceras gástricas. Porém, em altas concentrações, o NO está associado com uma resposta inflamatória na mucosa gástrica, bem como alterações na barreira de muco protetora (SOUSA, 2013; KWIECIEN et al., 2014).

1.5.5 GRUPAMENTOS SULFIDRÍLICOS

Os grupamentos sulfidrílicos também participam do mecanismo de gastroproteção evidenciado pelos agentes alquilantes, como *N-etilmaleimide* (NEM) que reverte qualquer forma de proteção da mucosa gástrica (SAZBO, 2014).

Eles iram agir como antioxidantes endógenos e produtores de muco, no qual se ligam aos radicais livres formados durante o processo inflamatório da úlcera gástrica, protegendo a mucosa gástrica dos efeitos deletérios dos radicais livres (RIBEIRO, 2013). Exemplo desses compostos sulfidrílicos é a glutathiona reduzida (GSH), encontrada em altas concentrações no estômago, sequestram radicais livres. Depleção de GSH aumenta a peroxidação lipídica, outro fator responsável por injúrias na mucosa gástrica. Desta maneira, a manutenção de um nível crítico de compostos sulfidrílicos não proteicos, além do óxido nítrico, é necessária para a ação protetora contra radicais livres (GONÇALVES, 2017).

1.5.6 SISTEMA ANTIOXIDANTE

Sabe-se que os aspectos anatômicos são importantíssimos para a gastroproteção, no entanto os mecanismos bioquímicos são fundamentais para a proteção e manutenção da homeostase celular gástrica. O metabolismo celular normal envolve a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) como peróxido de hidrogênio, radical hidroxila e radical superóxido, durante os vários processos fisiológicos no organismo, cita-se, por exemplo, a cadeia transportadora de elétrons (fosforilação mitocondrial), o metabolismo de xenobióticos e a resposta inflamatória (CRAVEIRO, 2017; OLIVEIRA, 2018).

No entanto, a produção excessiva de ROS pode prejudicar o funcionamento celular, além de promover inflamação e morte de células, através das vias de

transdução do sinal; visto que, afetam as enzimas redox-sensíveis e fatores de transcrição, facilitando a ação de proteases, estimulando a expressão de mediadores inflamatórios e moléculas de adesão (SOUSA, 2016).

Devido a esses efeitos deletérios, as células desenvolveram um sistema antioxidante que são moléculas que sequestram radicais livres; quelam metais importantes no sistema redox para eliminação desses radicais livres, demonstrado eficácia na citoproteção e cura das lesões gástrica, como composto pela superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT), mieloperoxidase (MPO), malondialdeído (MDA) e glutathione (GSH) (ONASANWO et al., 2009; FARIA et al., 2012; ARAUJO, 2017).

A Superóxido Dismutase são metaloenzimas que catalisam a reação de dismutação que transformam ânions superóxido em peróxido de hidrogênio, desempenhando um importante. A redução da atividade de SOD está relacionada com a úlcera gástrica, confirmando os efeitos prejudiciais de espécies reativas de oxigênio e a importância do sistema antioxidante (BHATTACHARYYA et al., 2014; OLIVEIRA, 2018).

A catalase (CAT) é uma enzima antioxidante celular, possui função de degradar e catalisar o H_2O_2 , gerando como produtos finais oxigênio molecular e água. O que contribui desta maneira com a neutralização e desintoxicação desta molécula gerada pela β -oxidação de ácidos graxos dentro dos processos metabólicos e imunológicos, o que exige uma atividade aumentada da CAT (KIRKMAN E GAETANI et al., 2007)

A mieloperoxidase (MPO) se diferencia quanto à estrutura, bioquímica, imunológica, genética e espectrofotometricamente das outras peroxidases dos polimorfonucleares (SCHEIDER e ISSEKUTZ, 1996). É uma enzima contida nos grânulos azurófilos de neutrófilos, sendo responsável por funções microbidas e por danos no tecido inflamado junto aos radicais livres. Geram ácido hipocloroso a partir do peróxido de hidrogênio e do íon cloreto, como parte da atividade respiratória dos neutrófilos ativados (MATHESON et al., 1981), por isso são considerado como agente oxidativo. A dosagem da atividade da MPO tem sido utilizada como marcador de infiltração de processos inflamatórios agudos em vários tecidos (CROSS et al., 2003). Como já foi reportado, os neutrófilos cumprem uma função central dentro a fisiopatologia das lesões induzidas pelos AINEs no trato gastrointestinal (WALLACE E GRANGER, 1992; REUTER et al., 1997).

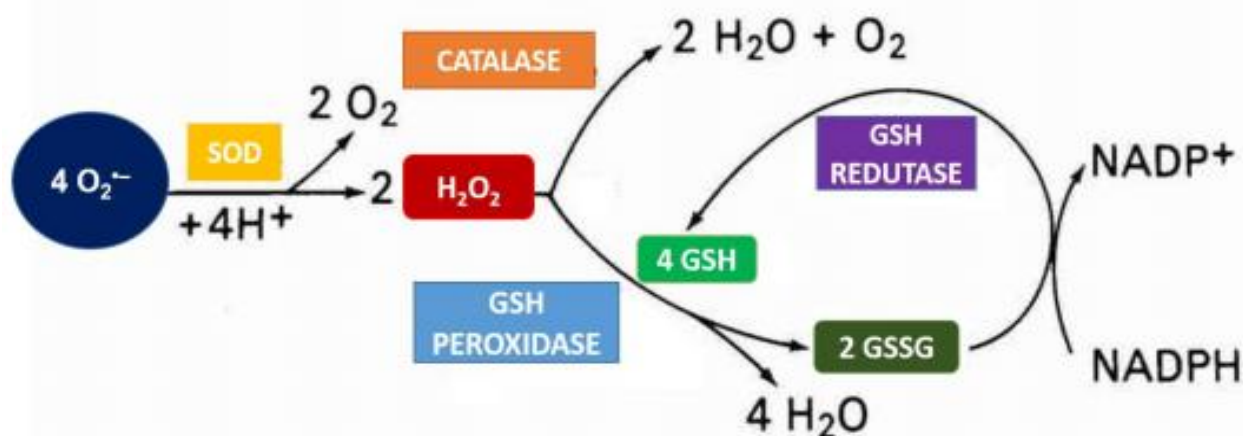
O malondialdeído (MDA) faz parte do produto final da ação dos radicais livres sobre a peroxidação lipídica das membranas celulares, por isso se considera como o principal biomarcador de estresse oxidativo, é mutagênico, sendo um marcador estável da peroxidação de lípidos da membrana. Podendo ser quantificado, este é suficientemente estável para se difundir do seu sítio de formação (ex. membranas) para outro sítio (ex. núcleo), podendo causar danos (DALLE-DONNE et al., 2006; SILVA, 2017; ONYANGO E BABA, 2010).

Outro processo antioxidante importante é feita pela Glutathione peroxidase (GPx), que converte a glutathione em glutathione oxidada (GSSG), e nesse processo reduz H_2O_2 a H_2O e lipídios hidroperóxidos ($ROOH\bullet$) em álcoois estáveis, apresentando importante papel na proteção das células contra os efeitos do peróxido de hidrogênio. Já a Glutathione reductase reduz a glutathione oxidada para GSH (MCCAY et al., 1976; BOMPART et al., 1990; BHATTACHARYYA et al., 2014). O GSH atua como um cofator da GPx, otimizando a redução de H_2O_2 a H_2O . Além disto, este tripeptídeo reage de modo não enzimático com o radical hidroxila, N_2O_3 , e com o peroxinitrito, tendo assim uma atividade antioxidante própria (GRIFFITH, 1999). O seu núcleo do resíduo cisteilglicina tem a capacidade de reagir com um elétron não pareado de um radical livre, formando um radical $GS\bullet$ que é dimerizado em GSSG, que é então reduzido pela glutathione reductase novamente em GSH (KRETZSCHMAR, 1996; JÚNIOR et al., 1998). A glutathione detoxifica hidroperóxidos a partir da seguinte reação:



Desta forma, vê-se a importância deste sistema antioxidante endógeno, e que uma redução dos níveis destes componentes antioxidantes leva ao aumento do estresse oxidativo e lesão celular, causando injúrias como gastrite e úlcera gástrica.

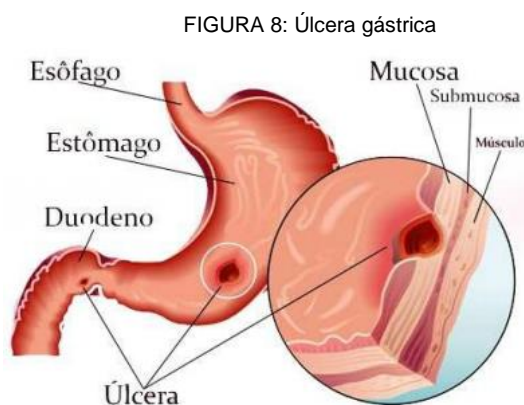
Figura 7: Sistema antioxidante : participação de importantes enzimas de defesa antioxidante do organismo



Fonte: CARVALHO, 2017.

1.6 ÚLCERA GÁSTRICA

A úlcera péptica é caracterizada por uma ou mais feridas na parede do estômago ou duodeno (primeira parte do seu intestino delgado) (figura 8). Quando as úlceras pépticas são encontradas no estômago, elas são chamadas de úlceras gástricas. As lesões localizadas no duodeno são chamadas de úlceras duodenais, sendo que as duas formas de úlcera podem ocorrer separadas ou juntas. Muitas pessoas têm úlcera péptica, não temos estatísticas precisas no Brasil, mas nos Estados Unidos cerca de 20 milhões de pessoas apresentarão uma úlcera durante sua vida. As úlceras duodenais ocorrem mais frequentemente entre os 30 e os 50 anos de idade, e são duas vezes mais comuns em homens, enquanto as úlceras gástricas (no estômago) são mais frequentes após os 60 anos e em mulheres (FBG, 2015).

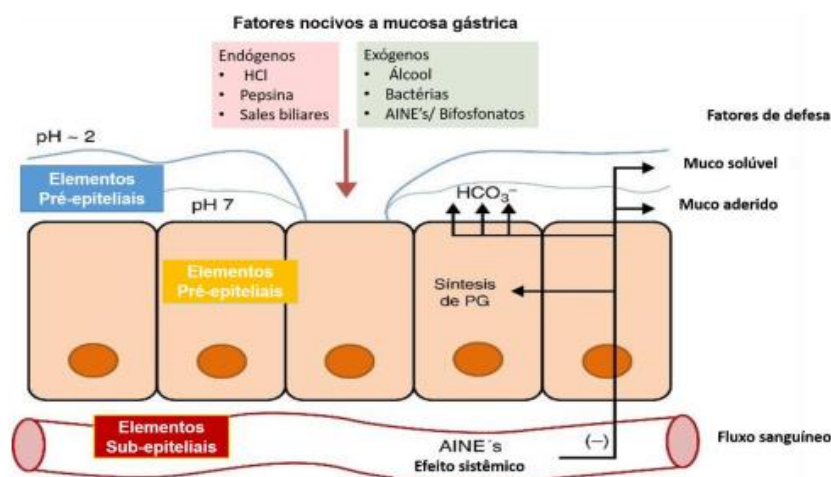


Fonte: adaptado de FBG, 2015.

É uma lesão representada pela perda de tecido que ultrapassa os limites da camada muscular da mucosa e ocorre nas porções expostas à secreção ácida. Essas lesões são causadas por uma desordem entre os fatores protetores (muco, bicarbonato, fluxo sanguíneo adequado, NO, prostaglandinas) e lesivos (pepsina, ácido clorídrico, H_2O_2 , OH, O_2^- , dentre outros ou exógenos (etanol, antiinflamatórios não esteroidais (AINEs)), e agentes biológicos (*Helicobacter pylori*) (FERRAZOLI, 2008; POTRICH, 2009) (FIGURA 8)).

As úlceras gástricas podem ser classificadas como ulceração aguda ou crônica, sendo o primeiro caso caracterizado como inflamação ativa, com infiltrado neutrofílico e hemorragia na superfície da mucosa. Já os casos de úlceras crônicas apresentam uma mucosa com vários graus de injúria e agregados linfóides na região (CARVALHO, 2017).

Figura 9: Mecanismos de defesa e agentes agressores da mucosa gástrica



Fonte: CARVALHO, 2017

A maior incidência geralmente ocorre em pessoas que fumam, usam AINEs ou consomem álcool. Além disso, a úlcera está entre as doenças que mais acometem o homem, tornando um problema de saúde pública, pois tem um impacto econômico significativo (Bl et al., 2014). O desenvolvimento da doença e das mortes a ela relacionadas coincide com o processo de urbanização e existem evidências de que o estresse possa ser um dos fatores envolvidos (ALMEIDA, 2014).

A úlcera gástrica pode se apresentar de forma assintomática, hemorrágica ou perfurante e tem chance de manifestar quando está interligada a infecções virais e

bacterianas, insuficiência renal crônica, sarcoidose, doenças mieloproliferativas ,além disso, existem casos de doenças críticas associadas à úlcera gástrica, como a trombose, embolia e cirurgias que podem levar a um quadro de hipoperfusão da artéria esplênica causando necrose de coagulação no tecido gástrico (TANIMOTO, 2010).

O processo fisiopatológico dessas lesões envolve processos isquêmicos, com liberação de radicais livres, e aparecimento de um infiltrado inflamatório com predominância de neutrófilos, acarretando na mucosa característica histopatológica e alterações estruturais e funcionais que resultam em lesões, e quando esses danos acometem camadas profundas podem afetar o endotélio vascular, o que rebaixa o fluxo sanguíneo e diminui o aporte de oxigênio e nutrientes, acometendo piora da lesão (MELO, 2013).

Estas lesões podem ser crônicas e solitárias ou podem envolvem gastrites e dispepsia. A gastrite é caracterizada como a inflamação do revestimento do estômago, podendo ser aguda ou crônica. Já a dispepsia são sintomas do trato digestório, geralmente associado a causas orgânicas, mas em geral é caracterizada pelo aumento da secreção ácida (LEMOS, 2010; NASCIMENTO, 2016).

O sintoma predominante da úlcera gástrica é a dor epigástrica, a qual pode ser acompanhada por outros sintomas dispépticos (distensão abdominal, eructações, azia, náuseas e refluxo) falta de apetite e perda de peso. Por muito tempo a úlcera foi controlada de maneira cirúrgica, o que resultava em altas taxas de morbidade e mortalidade. O que resultou o desenvolvimento de fármacos ao longo dos anos indicando uma mudança gradual no foco de tratamento da úlcera péptica (NASCIMENTO, 2016; FERREIRA, 2013).

Dentre as principais causas no desenvolvimento de úlceras pépticas gástricas, mas principalmente duodenais, é a *Helicobacter pylori*, esta bactéria, gram negativa e microaerofílica, que coloniza o estômago humano e que foi encontrada pela primeira vez, em 1982, em Perth na Austrália, numa amostra de biópsia gástrica de doentes com gastrite, tornou se um grande objeto de estudo (CARVALHO, 2013).

A *Helicobacter pylori* está habituada a cavidade gástricas que revela ser um ambiente extremamente hostil para a maioria dos microrganismos devido sua acidez, peristalse, a (in)disponibilidade de nutrientes, a resposta imune inata e adaptativa do hospedeiro a competição com outras bactérias (DE ALMEIDA, 2014).

A sua interação com o hospedeiro tem um impacto no padrão e na severidade da gastrite, devido à liberação de enzimas produzidas ou liberadas pela bactéria (CARVALHO, 2013).

As doenças gastrintestinais relacionadas ao consumo de álcool tem papel importante na prática clínica. As úlceras induzidas por etanol são predominantes na porção glandular do estômago. Causa aumento da peroxidação lipídica, baixam os níveis de SOD, CAT, GSH e os fatores gastroprotetores, além de esgotar o muco na superfície gástrica, interfere na microcirculação e inibe a síntese das prostaglandinas, resultando em dano da mucosa gástrica (ROZZA et al., 2012).

Outro fator de risco importante ao aparecimento de úlceras gástricas é o uso de AINEs, pois proporcionam alívio sintomático da dor e edema em doenças articulares crônicas (OLIVEIRA, 2011). Os AINEs bloqueiam reversivelmente as isoenzimas, ciclooxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2). A (COX-1) é uma enzima expressa na maioria dos tecidos, incluindo nas plaquetas e esta envolvida na homeostasia dos tecidos, é responsável pela produção de prostaglandinas (PG) relacionadas com a citoproteção gástrica e com sua inibição essa defesa será prejudicada (FRANCO, 2014).

A importância das PG na linha de defesa da mucosa gástrica é evidenciada por trabalhos com fármacos de inibição da produção das mesmas, como os AINEs, o tratamento crônico com esse tipo de medicamento relaciona-se de forma direta com o surgimento de ulcerações gástricas (CALOU, 2014; MENDES et al, 2012).

A relevância clínica das úlceras pépticas levou ao desenvolvimento de drogas capazes de aliviar os sintomas e até mesmo possibilitar a cura. Os antagonistas de receptores H₂, como a cimetidina e inibidores da bomba de prótons, como omeprazol, estão associados aos aumentos da taxa de cura de úlceras gástricas, porém seu uso prolongado causa uma série de efeitos colaterais (FERRAZOLI, 2008; TANIMOTO, 2010).

O uso prolongado dos inibidores da bomba de prótons pode acarretar à diminuição na absorção da vitamina B₁₂, importante para o desenvolvimento hormonal e formação dos glóbulos vermelhos. Clinicamente os efeitos causados pelo déficit da vitamina B₁₂ podem se manifestar como demência, problemas neurológicos, anemia e outras complicações (MIRANDA, 2015).

Em consequência disso o estudo de plantas medicinais que tem ação sobre o estômago tem elevada importância na sociedade atual, tendo em vista a grande

necessidade de substâncias que demonstram poucos efeitos colaterais e maior eficácia. Além disso, pesquisas afirmam que cerca de 3/4 da população mundial não possuem acesso às terapias alopáticas, dependendo de plantas medicinais para o tratamento das patologias estomacais como gastrite e úlcera (CESÁRIO et al., 2015).

Diante do exposto, uma alternativa para o tratamento com fármacos seria a utilização de derivados de produtos vegetais por apresentarem baixo custo, fácil acesso da população mais carente e efeitos colaterais diminuídos. Diversas substâncias de origem vegetal, entre elas, flavonoides, alcaloides e triterpenos têm apresentado atividade antiúlcera (BORRELLI; IZZO, 2000; SILVEIRO et al., 2008).

1.7 FÁRMACOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DA ÚLCERA

A cada ano, a úlcera péptica acomete 4 milhões de indivíduos pelo mundo. As complicações ocorrem em 10 a 20% dos casos, com perfuração do estômago em 2 a 14% dos pacientes, sendo que o risco de morte pode chegar a 40%. Deste modo, a úlcera péptica representa um problema social e clínico de importância econômica global (BEZERRA et al., 2016).

A terapia da úlcera péptica alia a redução da secreção de ácido gástrico usando bem como a neutralização do ácido secretado com antiácidos (hidróxido de magnésio, hidróxido de alumínio e bicarbonato de sódio) e protetores da mucosa, como o sucralfato, antagonistas dos receptores H₂ (cimetidina, ranitidina, nizatidina e famotidina) ou inibidores de bomba de prótons,. Embora os antiácidos tenham sido utilizados ao longo do tempo e tenham provado serem relativamente eficazes, o uso dos mesmos é inconveniente devido à necessidade de várias doses diárias e também pela associação a efeitos colaterais indesejados (FERREIRA et al., 2016). A maioria desses fármacos são utilizados com o propósito de promoverem a cicatrização da lesão. E de um modo geral, essas terapias estão ligadas a diminuição da secreção ácida.

1.7.1 ANTIÁCIDOS

Atua no tratamento de maneira mais simples, aumentando a defesa da mucosa. Estes neutralizam diretamente o ácido através do aumento do pH, causando à inibição da atividade de enzimas pépticas, neutralizando o ácido já

secretado e também atuando como agente de barreira, ou seja, evita o contato direto do ácido na mucosa lesada, favorecendo a cicatrização da úlcera. Eles são usados para aliviar a azia e o desconforto abdominal, e podem ser utilizados de forma isolada (MION, 2015).

Temos como exemplo o hidróxido de alumínio, hidróxido de magnésio, magaldrato - hidróxido de alumínio (sistêmicos) e magnésio, que estão em associação de antiácidos ou associados a outros fármacos, no qual a utilização em longo prazo e esta associação pode debilitar os ossos ao esgotar o fósforo e o cálcio do organismo, causar problemas renais e aumentar o risco de infarto. Apesar de serem efetivos e de baixo custo podem reduzir a biodisponibilidade oral de um grande número de fármacos e de minerais presentes em suplementos alimentares (KUMMER; COELHO, 2002; BRUNTON et al., 2007; MADALOSSO, 2011).

1.7.2 ANTAGONISTAS DOS RECEPTORES DE HISTAMINA - H₂

Os antagonistas do receptor de histamina H₂ inibem competitivamente os receptores H₂, presentes nas células parietais. Esta classe de fármacos tem a capacidade de inibição da secreção de ácido gástrico estimulada pela gastrina, acetilcolina e histamina. Os antagonistas do receptor agem de maneira reversível e quando utilizados para o tratamento da úlcera gástrica apresentam uma faixa de cura pequena devido uma cicatrização incompleta (LIMA, 2012).

Xavier et al. (2011), afirmam que a cimetidina foi o primeiro antagonista obtida através da modificação da molécula da metiamida. E a partir dela foram desenvolvidos outros antagonistas de H₂, como a ranitidina, a nizatidina e a famotidina.

Os efeitos adversos associados a este tipo de fármacos são contudo possíveis: diarreia, tonturas, dores musculares, alopecia, erupções cutâneas transitórias e hipergastrinemia podem ocorrer durante o tratamento (BRITO e SÁ, 2007).

1.7.4 INIBIDORES DE BOMBA DE PRÓTONS (IBPS)

Um dos tratamentos para a ulcera é o uso de fármacos capazes de inibir o mecanismo da bomba de prótons. Esses fármacos têm como via de administração a

oral, mas degrada-se rapidamente em pH baixo. É um dos principais fármacos utilizados é o omeprazol, apresenta um tempo de meia vida curto (1 hora), a administração de uma única dose diária afeta a secreção de ácido durante dois a três dias, pois se acumula nos canálculos e inibe a bomba de prótons irreversivelmente (SOMENSI, 2015).

Os Inibidores da bomba de prótons inibem a secreção ácida basal e a estimulada por alimentos e mediadores neuronais. Estes inibidores de bomba são pró-fármacos que necessitam de serem ativados em ambiente ácido. Quando ativados por um processo catalisado por prótons resulta na formação de uma sulfenamida tiofílica (SANTIN, 2010).

Esta forma ativada reage por meio de ligação forte covalente com o grupo sulfidril de cisteínas do domínio extracelular da H⁺, K⁺- ATPase, resultando em uma inativação irreversível da bomba, elevando o pH gástrico para valores maiores que 3 ou cerca de 4 por mais tempo em um período de 24 horas, quando comparados com os antagonistas dos receptores H₂ (MARCONDES, 2012).

Os inibidores de bomba de prótons (IBPs), são geralmente bem tolerados pelos pacientes. Dor de cabeça, dor abdominal, náusea e diarreia são os efeitos colaterais mais comuns. Efeitos secundários pouco frequentes incluem erupção cutânea, coceira e constipação. Devido a um potencial de inibição de secreção ácida, há dúvidas na segurança do seu uso em longo prazo. O ácido gástrico, por um mecanismo de "feedback", inibe a secreção endócrina da gastrina pelas células G localizadas nas glândulas antrais (pilóricas). Se a acidez gástrica é nitidamente reduzida, as células G secretam quantidades aumentadas de gastrina, levando à hipergastrinemia. Outra desvantagem é que o uso de IBPs poderia induzir má absorção de cálcio pelos ossos e, dessa forma, levar à osteoporose e aumentar o risco da Saúde (Santa Maria), ocorrência de fraturas, principalmente no quadril (BRAGA et al., 2011).

1.7.5 ANÁLOGOS DE PROSTAGLANDINAS (PG)

Derivadas da cascata do ácido araquidônico, as PG possuem papel crucial na linha de defesa da mucosa gástrica. Os fosfolipídios de membrana sofrem processo de hidrólise por meio da ação da fosfolipase A₂, fornecendo assim ácido

araquidônico no citoplasma celular a partir do qual as isoformas das ciclooxygenases (COX) sintetizam as PG (GUDIS; SAKAMOTO, 2005)

Portanto, isoforma COX-1 relaciona-se com a síntese dos subtipos prostaglandina E2 (PGE2) e prostaciclina I2 (PGI2) que são produzidas na região do estômago e atuam na manutenção da integridade da mucosa como inibidores da secreção ácida gástrica, aumento da secreção de muco – bicarbonato, regulação do fluxo sanguíneo, aumento de componentes sulfídricos e auxílio da restituição epitelial (MINOZZO, 2015).

A defesa da mucosa gástrica é promovida por alguns efeitos que são: aumento do fluxo sanguíneo no estômago e estimulação de secreção de muco e bicarbonato que causa cicatrização das úlceras ou atua na prevenção de lesões gástricas que podem ocorrer com o uso crônico de AINEs (CARVALHO, 2013). O efeito adverso mais predominante é a diarreia, com ou sem cólicas. Um exemplo desses análogos é o misoprostol, que é contraindicado na gravidez, pois tem um aumento acentuado na contração de músculos lisos, principalmente no útero, induzindo o aborto (FERREIRA, 2002).

1.7.6 TRATAMENTO DA INFECÇÃO POR *Helicobacter pylori*

No tratamento da *Helicobacter pylori* além de reduzir a ação do ácido no tratamento das úlceras pépticas é essencial erradicar a bactéria. Os principais tratamentos indicados para a erradicação da bactéria e para a recuperação da mucosa gástrica podem ser divididos em: terapia tripla – com a utilização de um inibidor da bomba de próton, um antibiótico e um antiprotozoário; Terapia quádrupla – com a utilização de um inibidor da bomba de prótons, um antiprotozoário, um antibiótico e um antiácido (FONSECA, 2014; GONÇALVES, 2017; CARVALHO, 2013).

Visto que o tratamento da úlcera gástrica usando uma terapia convencional enfrenta um grande revés, pois muitos medicamentos utilizados no tratamento dessa patologia não são altamente efetivos e apresentam diversos efeitos colaterais, além de possuir na maioria das vezes um alto custo para os pacientes (GANEV, 2010), tem-se buscado alternativas, como o estudo com plantas medicinais que são

usadas na medicina popular para tratar distúrbios gastrintestinais e têm mostrado resultados promissores no tratamento dessas patologias (ADEFISAYO et al, 2017).

1.8 PRODUTOS NATURAIS COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA

A história das plantas medicinais é tão antiga quanto à própria existência do homem. Não é possível encontrar um ponto inicial de quando as plantas começaram a ser utilizadas para fins medicinais. No entanto, o que se sabe é que o conhecimento de seus potenciais terapêuticos surgiu de modo empírico na busca da sobrevivência por meio do tratamento de eventuais ferimentos e doenças (CALIXTO, 2000; SILVA, 2017).

Mesmo diante das inovações tecnológicas e do alto desenvolvimento da medicina moderna, a utilização dos produtos naturais tem grande relevância no tratamento de patologias, além de ser bastante utilizado como uma terapia caseira por uma grande parte da população seja como uma alternativa terapêutica ou complementar (ALMEIDA, 2013).

O Brasil é detentor da maior diversidade genética do mundo, com cerca de 55 mil espécies catalogadas (de um total estimado entre 350 a 550 mil), e conta com ampla tradição do uso das plantas medicinais vinculada ao conhecimento popular transmitido entre gerações. Apesar de que não se tenha muito investimento para pesquisas com plantas medicinais, calcula-se que pelo menos metade das plantas contenham substâncias chamadas de princípios ativos, os quais têm propriedades curativas e preventivas para muitas doenças (FERREIRA, 2013; MIRANDA, 2015; SILVA, 2017).

Contudo, as pesquisas para descoberta de protótipos de fármacos e também de fitoterápicos, desencadeiam além do avanço da pesquisa, o desenvolvimento tecnológico do país (IWAMOTO, 2014).

Acredita-se que os produtos naturais foram testados e homologados através do seu uso prolongado, considerando-as eficazes e seguros, com efeitos colaterais na maioria dos casos diminuídos. Neste contexto, são de extrema importância o estudo e a validação do uso de produtos naturais que apresentem indicações populares (POTRICH et al., 2014).

Tendo em vista a alta demanda de fármacos para o tratamento de doenças do trato gastrintestinal, o estudo na busca de novas substâncias se faz necessário. Deste modo, a confirmação ou negação da presença de atividade farmacológica em

plantas consideradas pela população como úteis, por exemplo, para o tratamento de distúrbios gástricos e de motilidade do trato gastrintestinal, muito contribuiria para uma aplicação mais racional, segura e econômica, especialmente para as populações de baixa renda (OLIVEIRA, 2011; SOUSA, 2013).

E um composto que vem sendo bastante estudado, são os óleos essenciais, que é metabólitos secundários produzidos por plantas, compostos principalmente por terpenos e terpenóides e sua atividade pode ser atribuída à ação individual de cada componente, embora possa haver sinergismo entre os elementos que os compõem. Esses compostos obtidos apresentam atividade antiulcerogênica com estruturas químicas diversas e com distintos mecanismos de ação (BAKKALI et al., 2008; OLIVEIRA, 2011).

Também é importante ressaltar que na indústria farmacêutica não há produtos com 100% de eficácia, sem efeitos colaterais e de baixo custo e neste contexto os produtos naturais se inserem como fontes terapêuticas alternativas de constituintes potencialmente ativos, o que pode ser uma grande estratégia para a descoberta de novos fármacos (CARLIXTO, 2000).

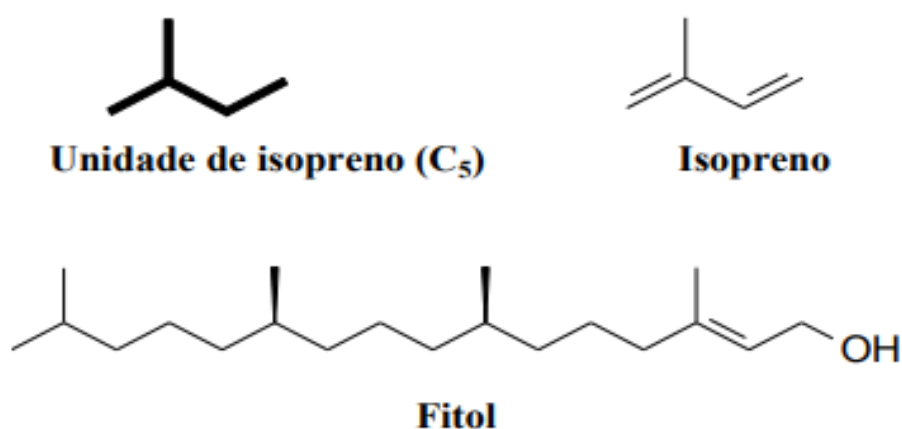
Como referido anteriormente às terapias medicamentosas convencionais apresentam uma série de desvantagens que podem comprometer a qualidade de vida. Com isso, os terpenóides constituem uma importante fonte de pesquisa para o desenvolvimento de novas terapias medicamentosas.

1.9 TERPENÓIDES

Os terpenóides e os fenilpropanóides constituem os principais componentes dos óleos essenciais, além disso, esses óleos são compostos por cerca de 20-60 componentes em diferentes concentrações, contudo apenas dois ou três componentes principais se apresentam em concentrações elevadas (20-70%) e os outros em concentrações vestigiais (ANDRÉ et al., 2018).

Nos óleos essenciais os compostos terpenoides mais encontrados são os monoterpenos (C₁₀) e sesquiterpenos (C₁₅), que cada vez são mais estudados devido às diversas propriedades biológicas apresentadas por estes compostos (COSTA, 2012). Com isso, representam a família mais extensa e estruturalmente diferente dentre os produtos naturais, derivados de unidades de isopreno (C₅), formados da junção cabeça-cauda, como o fitol, que consiste em quatro unidades de isopreno (FATURÍ et al., 2010) (Figura 9).

Figura 10: Estrutura química da unidade de isopreno e fitol



Outro composto que tem bastantes relevâncias, é o diterpenos que podem estar presentes quando os óleos essenciais são extraídos com solventes orgânicos (BAKKALI et al., 2008; DE SOUSA et al., 2011).

Há relatado que os diterpenóides apresentam várias propriedades farmacológicas, dentre as quais podemos citar no sistema nervoso central (SNC) como agentes antioxidantes e moduladores de muitos sistemas neurotransmissores (MACLENNAN et al., 2002), alucinógenos (SHEFFLER; ROTH, 2003), antidepressivos (NESTEROVA et al., 2011).

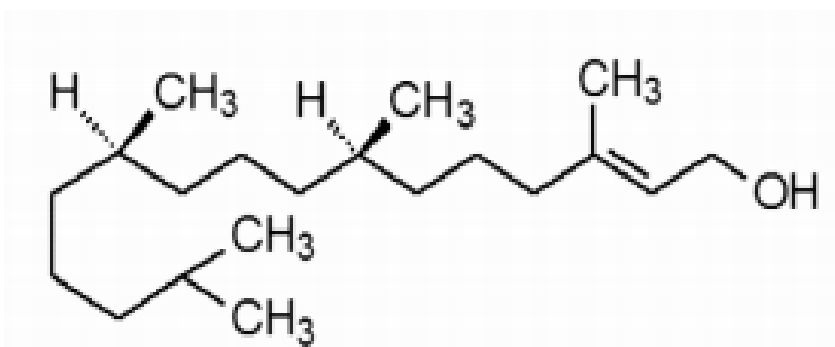
Além dessas ações farmacológicas existir diterpenos com ação gastroprotetora como os clerodanos (trans-desidrocrotonina de *Croton cajucara* e aparisthman de *Aparisthmium cordatum*), os labdanos (solidagenone de *Solidago chilensis*, 15-acetoxylabd-8 (17)-en-19-ol), bem como 15,19-diacetoxylabd-8 (17)-en de *Araucaria araucana*), abietano (ferruginol de *Prumnopitys ena*), e Jatrophone de *Jatropha isabelli*, o que pode acarretar em um papel importante na descoberta de fármacos, bem como, no fornecimento de estruturas para o desenvolvimento de moléculas sintéticas (IZQUIERDO et al., 2007; PERTINO et al., 2007; SEPÚLVEDA et al., 2005; VUORELA et al., 2004.)

Portanto, terapias alternativas devem ser exploradas na busca de novos compostos gastroprotetores. Entre estas, os produtos naturais constituem uma importante fonte de pesquisa visando à descoberta de novas substâncias com essa atividade protetora (PASSOS et al., 2009; HAN et al., 2009; COSTA, 2012).

1.9.1 FITOL

O fitol, (3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol), é um diterpeno de fórmula molecular $C_{20}H_{40}O$, pertence ao grupo dos álcoois acíclicos insaturados de cadeia ramificada longa (COSTA et al., 2012) (Figura 10).

Figura 11: Estrutura química do fitol (3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol),



Fonte: VEGA, 2013.

O fitol é integrante da molécula da clorofila-a, bem como se encontra presente em menor proporção nas clorofilas b, c e d e bacterioclorofila a. Outras possíveis fontes incluem fosfolipídios bacterianos, derivados de glicerol e na vitamina K. Além disso, pode ser encontrado no ambiente marinho, em óleos vegetais e produtos lácteos derivados de ruminantes (RONTANIA; VOLKMAN, 2003; SANTOS, 2011; COSTA, 2012; VEGA, 2013).

Este diterpeno é usado na indústria como componente de cosméticos, xampus, sabonetes, detergentes, entre outros. Do ponto de vista terapêutico, o fitol e seus análogos demonstraram atividade antimicrobacteriana (RAJAB et al., 1998) e antituberculose (SAIKIA et al., 2010), anti-inflamatório, neuroprotetores e muitas outras atividades biológicas (ISLAM et al., 2015). Outros estudos demonstram que este constituinte é capaz de induzir a expressão de genes-alvo envolvidos em anormalidades lipídicas em várias doenças comuns, incluindo a obesidade, o diabetes e as dislipidemias (COSTA et al., 2012; ISLAM et al., 2015).

O uso do fitol em nível mundial é aproximadamente de 0,1 a 1,0 toneladas por ano. Vários estudos de toxicidade foram realizados para assegurar o uso desse composto. No que se refere à toxicidade aguda, foi determinada a dose letal 50%

(DL50), por via oral em ratos, cujo resultado foi óbitos com doses maiores que 5,0 g/kg (McGINTY; LETIZIA; API, 2010; COSTA, 2012)

O fitol é precursor do ácido fitânico, após sua ingestão, pode ser liberado da clorofila pela ação da clorofilase, ou durante a digestão dos vegetais, por bactérias presentes no intestino, sendo assim absorvido em animais ruminantes. Já em seres humanos sua metabolização ocorre principalmente no fígado, e as maiores fontes desse ácido são a carne de ruminantes, gordura animal, laticínios e pescados (VAN DEN BRINK; WANDERS, 2006).

O fitol e o ácido fitânico podem desempenhar várias funções terapêuticas. Existem relatos na literatura que o fitol e ácido fitânico bloqueiam os efeitos teratogênicos de retinol, sendo úteis na prevenção da teratogenicidade induzida por ingestão excessiva de vitamina A, além de apresentar atividade anti-inflamatória e antibacteriana (LEITE, 2010). Entretanto, não há relato do fitol, com efeito, gastroprotetor.

No estudo realizado por Leite (2010), o fitol apresenta atividade anti-inflamatória devido à sua alta eficiência contra artrite, agindo como protetor da cartilagem articular, mostrando ser promissor para o tratamento de artrite reumática e possivelmente para outros tipos de inflamações crônicas.

Sabendo-se do potencial farmacológico do fitol citados acima, da importância do uso medicinal de produtos vegetais pela população e tendo em vista que não há relatos sobre a atividade antiúlcera do fitol na literatura, é importante o estudo com essa substância para avaliar sua possível atividade gastroprotetora. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo estudar a atividade gastroprotetora do fitol, em modelos agudos e crônico de lesões gástricas em ratos, investigando seus possíveis mecanismos de ação.

Objetivos

2.0 OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

- Investigar a atividade gastroprotetora do fitol em modelos de indução de lesões gástricas em ratos e seus possíveis mecanismos de ação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar a atividade antiulcerogênica do fitol em modelo agudo de úlcera gástrica induzida por etanol, isquemia e reperfusão e evidenciar o efeito protetor do fitol em úlcera induzida por AINES
- Investigar a ação cicatrizante do fitol em modelo crônico de úlcera induzida por ácido acético;
- Analisar a capacidade antioxidante do fitol;

Material e Métodos

3.0 OBTENÇÃO DO FITOL

O fitol foi cedido pelo professor Dr. Damião Pergentino de Sousa, do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba, onde o mesmo adquiriu da Sigma Aldrich, EUA.

3.1 Animais experimentais

Ratos Wistar machos (180-250 g) foram mantidos sob condições controladas ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, ciclo de claro/escuro de 12 h), com ração e água *ad libitum*. Para avaliar o efeito gastroprotetor do fitol, os animais foram divididos aleatoriamente em grupos (n=6 /grupo).

Previamente a cada experimento farmacológico, os ratos foram mantidos em jejum por 18h e 24h e, em seguida, aclimados ao ambiente de teste por 1 h. No modelo de lesões gástricas induzidas por ácido acético, os animais foram anestesiados com associação de cetamina e cloreto de xilazina (50 e 50 mg/kg, i.p., respectivamente).

Os procedimentos referentes à eutanásia foram realizados por sobredose de anestésico geral (tiopental sódico 150 mg/kg e lidocaína 10 mg/mL intraperitoneal). Todos os protocolos experimentais usados nesse estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Piauí (Protocolo CEUA - UFPI n° 498/18 – ANEXO).

3.2 DROGAS E REAGENTES

Brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB - Sigma Aldrich, EUA), peróxido de hidrogênio (Sigma Aldrich, EUA), ondansetrona (Dinâmica, Brasil), o-dianisidina (Sigma Aldrich, EUA), xilazina (Anasedan®), cetamina (Dopalem®), hidróxido de sódio (Vetec Química, Brasil), Triton X-100 (Sigma, EUA), cloridrato de hidroxilamina (Sigma, EUA), riboflavina (Sigma, USA), reagente de Griess (Sigma, USA), ácido tiobarbitúrico (TBA) (Sigma, USA), fosfato de potássio (Merck, Germany), ácido tricloracético (Merck, Germany), 5,5 ditídio-bis-(ácido-2-nitrobenzóico) (DTNB) (Merck, Germany), carbenoxolona (Sigma Aldrich, EUA), N-acetilcisteína (Sigma Aldrich, EUA), ibuprofeno.

4.0 ENSAIOS FARMACOLÓGICOS COM FITOL

4.1 LESÕES GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ETANOL ABSOLUTO EM RATOS

As lesões gástricas agudas foram induzidas em ratos por via oral por etanol absoluto 1mL/ animal. Veículo (NaCl 0,9%, 10 mL/kg), fitol (3,12; 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/kg), carbenoxolona (100 mg/kg), V.O (n=6/grupo). Foram administrados oralmente 1 h antes da aplicação do agente ulcerogénico (ROBERT et al., 1979). Os ratos foram eutanasiados, 30 minutos após a administração de etanol, os estômagos removidos e abertos ao longo da curvatura maior. O contorno das lesões e do corpo do estômago foi traçado em película transparente por meio de um marcador de ponta de feltro, como descrito por Iwata et al. (1997). As áreas totais das lesões foram medidas usando um programa de planimetria computadorizada (ImageJ-NIH®) e expressos em termos de percentagem de área de lesão (BHARGAVA; GUPTA; TANGRI, 1973). Após a mensuração da área de lesão, foram preparados homogenatos com fragmentos dos estômagos para o estudo da atividade antioxidante.

4.2 LESÕES GÁSTRICA INDUZIDA POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO EM RATOS

Ratos wistar (n =6 animais/grupo) foram tratados por via oral com o veículo, N-acetilcisteína (NAC 200 mg/kg) ou fitol (6,25; 12,5 e 25 mg/kg). Depois de 15 minutos os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina e cloridrato de xilazina (50 mg/kg e 5,0 mg/kg, i.m., respectivamente). Os animais foram submetidos a 30 minutos de isquemia induzida pela oclusão da artéria celíaca por um “clamp” microvascular e seguido por uma reperfusão de 1 hora. A seguir, os animais foram eutanasiados, seus estômagos foram removidos, abertos ao longo da curvatura maior e a área de lesões gástricas foi medido por planimetria como descrito anteriormente (4.1).

4.3 LESÕES GÁSTRICAS INDUZIDAS POR IBUPROFENO

Ratos wistar (n = 6/grupo) receberam por via oral veículo, cimetidina (100 mg/kg) ou fitol (6,25; 12,5; e 25 mg/kg). Após 1 h, todos os grupos foram tratados

com ibuprofeno (400 mg/kg, v. o.) (SZABO et al. 1985). Os animais foram eutanasiados 6 h após a administração de ibuprofeno, os estômagos foram retirados, abertos ao longo da curvatura maior e a área de lesões gástricas foi medido por planimetria através do software ImageJ (BHARGAVA; GUPTA; TANGRI, 1973).

4.4. Participação das Prostaglandinas no Efeito Gastroprotetor do fitol na Lesão Gástrica Induzida por Etanol:

Os ratos foram colocados em jejum por 18 h com livre acesso à água e divididos em dois momentos: o primeiro foi tratado com veículo (Tween 80 a 2% em solução salina 0,9%, 0,1mL/10 g) ou fitol 12,5 mg/kg por via oral ou misoprostol (50 µg/kg, v.o.), em segundo momento novos grupos foram tratados (v.o.) com ibuprofeno (100 mg/kg) 1 h antes da administração da salina (0,9 %); 12,5 mg/kg ou misoprostol (50 µg/kg). Após 1 h dos tratamentos, todos os animais receberam etanol absoluto (0,2 mL) para a indução das lesões, 30 min depois, os animais foram eutanasiados e seus estômagos removidos e a área de lesão gástrica glandular foi determinada por planimetria (mm²) (BHARGAVA; GUPTA; TANGRI, 1973).

4.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Para a realização dos protocolos de determinação da atividade antioxidante foi utilizada a menor dose com a melhor resposta do fitol administrada oralmente. Foram averiguados os seguintes parâmetros: atividade da catalase; atividade da mieloperoxidase; análise do malondialdeído, SOD e análise do GSH. Nos fragmentos dos estomago removidos dos ratos nos modelos de lesão gástrica por etanol.

4.5.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DO GRUPAMENTOSULFIDRILICO NÃO PROTEICO (GSH-NP)

A concentração do GSH-NP no homogenato foi medida conforme o método de Sedlak e Lindsay (1968). As amostras foram homogeneizadas em 2 ml de tampão Tris-HCl 50mM (20mM EDTA e 0,2mM de sacarose a pH 7,5). Deste homogenato, foram colhidos 500µl para logo adicionar-se 1500 µl de buffer Tris-HCl 200 mM (0,2 mM EDTA a pH 7,5), 100 µl de 5,5-ditiobis (2-ácido nitrobenzoico)

(DTNB) e 790 μ l de metanol, vortezizado e incubado por 30 minutos a 37°C para ser lido espectrofotometricamente a 412 nm.

4.5.2 ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE

A extensão do acúmulo de neutrófilos na mucosa gástrica de ratos foi medida por avaliação de atividade de MPO como descrito anteriormente (BRADLEY et al, 1982). Resumidamente, 50-100 mg de tecido foi homogeneizado em 1 mL de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 6,0) com brometo de hexadecil trimetil amônio a 0,5% para cada 50 mg de tecido. Em seguida, os homogenatos foram centrifugados a 40000rpm durante 7 minutos a 4° C. A atividade de MPO no sedimento ressuspenso foi testada através da medição da alteração da absorvância a 450 nm, utilizando dicloridrato de o-dianisidina e peróxido de hidrogênio a 1%. Os resultados relatados como unidades (U) de MPO/mg de tecido. Uma unidade de atividade de MPO é definida como a conversão de 1 μ mol de H₂O₂ à água em 1 min a 22 °C.

4.5.3 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE MALONDIALDEÍDIO

O nível de malondialdeído (MDA) em homogenatos a partir de cada grupo foi determinada utilizando o método de Mihara e Uchiyama (1978), que é baseado na reação com ácido tiobarbitúrico. Fragmentos de mucosa gástrica de ratos, pesando entre 100 e 150 mg, foram homogeneizadas em KCl frio (1,15%) para preparar uma solução de homogenato a 10%. Resumidamente, 250 μ L deste homogenado foi adicionado a 1,5 mL de 1% H₃PO₄ e 0,5 mL de ácido tiobarbitúrico a 0,6% (solução aquosa). Em seguida, a mistura foi agitada e aquecida em banho de água fervente durante 1h. Em seguida, a mistura da reação foi imediatamente resfriada em banho de água gelada, seguido pela adição de 4 mL de n-butanol. Esta mistura foi agitada durante 1 min, e a camada de butanol foi separada por centrifugação a 1200 rpm durante 15 min. A absorvância foi determinada a 532 e 520 nm, calculando-se a diferença de absorvância entre as duas determinações considerada como o valor de ácido tiobarbitúrico. As concentrações de MDA são expressas como nanomoles por grama de tecido (nmol/g).

4.5.4 ATIVIDADE DA CATALASE

Os fragmentos de estômagos de ratos foram pesados e homogeneizados em solução tampão fosfato de potássio (0,05 M, pH 7,4) e centrifugados a 3000 rpm/15 min. Uma solução de peróxido de hidrogênio (0,059 M) foi preparada com a solução tampão e utilizada como substrato para o ensaio. Em uma cubeta de quartzo, 0,1 mL da amostra de sobrenadante foi misturado com 1 ml de tampão/peróxido de hidrogênio e 1,9 ml de água destilada. A atividade da enzima foi medida pelo decaimento do peróxido de hidrogênio no comprimento de onda de 240 nm por espectrofotometria durante 6 minutos, através da leitura da variação de absorbância entre o primeiro e sexto minuto. Os resultados são expressos em millimolares por minuto por 100 mg de tecido (mM/min 100 g de tecido) (BEERS; SIZER, 1952).

4.5.5 AVALIAÇÃO DO EFEITO DO FITOL SOBRE NÍVEIS DA SUPERÓXIDO REDUTASE (SOD)

A concentração da superóxido dismutase (SOD) foi mensurada utilizando um ensaio espectrofotométrico modificado (DAS; SAMANTA; CHAINY, 2000). Neste método, a atividade enzimática é calculada pela quantidade de SOD capaz de inibir a formação de nitrito em 50%. Para isso, 100mg de tecido do estomago foi homogeneizado em 1 mL de tampão fosfato (50 nM, pH 7,4). 100 µL do homogeneizado foram adicionados a 1110 µL de tampão de fosfato, 75 µL de L-metionina (20 mM), 40 µL de Triton X-100 (1% v / v), 75 µL de cloreto de hidroxilamina (10 mM) e 100 µL de EDTA (50 µM). Esta solução foi incubada num banho maria a 37 ° C durante 5 minutos, depois foram adicionados 80 µL de solução de riboflavina (50 µM) e expostos à luz durante 10 minutos.

A partir desta solução, foram retirados 100 µL da amostra e adicionados a 100 µL de reagente de Griess em poços, e após 10 minutos, a absorbância foi lida a 550 nm por espectrofotometria em um leitor de ELISA. Além disso, a quantidade de proteínas totais foi determinada com um kit comercial da Labtest. Os resultados foram expressos como uSOD/ µg de proteína

4.6. LESÕES GÁSTRICA INDUZIDA POR ÁCIDO ACÉTICO EM RATOS

Ratos foram submetidos a processo cirúrgico para indução da úlcera gástrica, utilizando como agente indutor o ácido acético (80%). Após a anestesia, a indução da úlcera foi realizada por meio de um tubo de vidro de 8 mm de diâmetro e 2 cm de altura, em contato com a serosa do estômago para delimitar a área lesada. Foi adicionados 70 µL de ácido acético (80%), o qual permaneceu em contato com a serosa do estômago por 1 minuto. Logo após, o ácido acético foi removido com a ajuda de uma pipeta automática e o local lavado com solução salina. O estômago foi acomodado na cavidade abdominal e a região abdominal suturada (OKABE, 1972). No primeiro dia após a indução da úlcera, iniciou-se o tratamento por via oral com veículo, cimetidina (100 mg/kg) e fitol (6,12; 12,5; 25; 50 e 100 mg/kg) durante 7 dias. Após o tratamento crônico, os animais foram eutanasiados, o estômago retirado, aberto pela curvatura maior, lavado com água destilada para fazer a mensuração da área ulcerada (com auxílio de um paquímetro). A mensuração do volume lesado (mm³) foi realizada através da medida do comprimento x altura x profundidade interna da úlcera (POTRICH et al., 2010).

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores experimentais obtidos estão expressos como média ± erro padrão da média (E.P.M.). A análise estatística foi realizada através da aplicação do teste ANOVA (one-way) seguida do pós teste Tukey para análise de significância entre as médias, e em relação ao controle. Os valores são considerados estatisticamente significativos quando o $p < 0,05$. Foi empregado o programa estatístico GraphPad Prism versão 6.0.

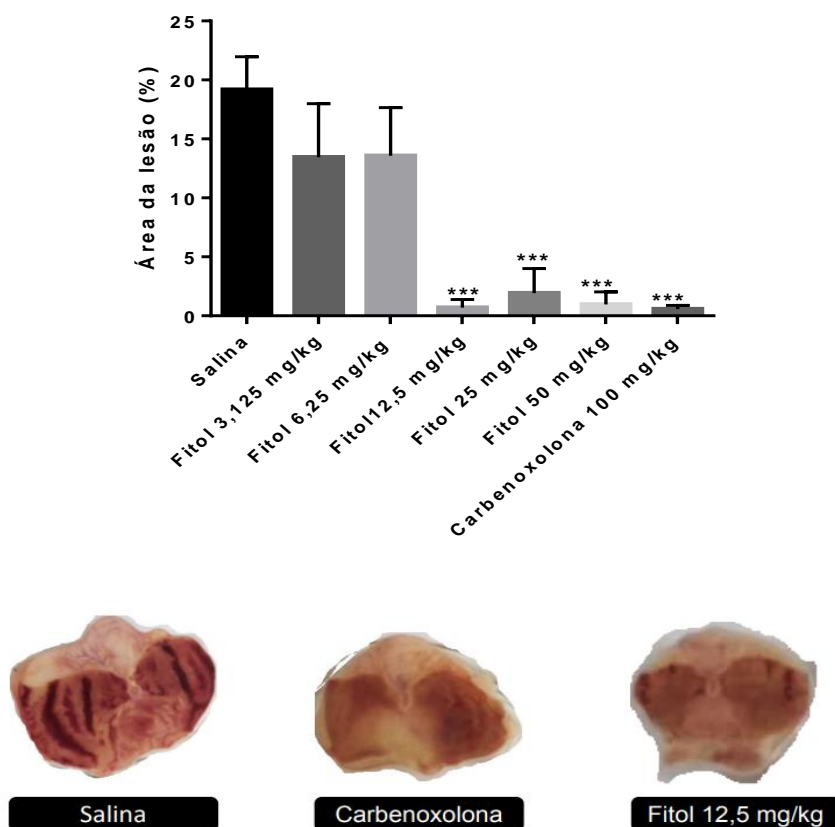
Resultados

5.0 RESULTADOS

5.1 EFEITO DO FITOL SOBRE ÚLCERAS INDUZIDAS POR ETANOL ABSOLUTO EM RATOS

A administração de etanol absoluto aos animais previamente tratados com veículo produziu uma grande área ulcerada, com danos graves à mucosa gástrica na forma de lesões hemorrágicas geralmente paralelas ao longo do eixo do corpo do estômago. A área de lesão, expressa em % em relação à área total do corpo gástrico no grupo controle foi de $19,18\% \pm 1,05\%$. O fitol apresentou efeito gastroprotetor significativo nas doses de 12,5 mg/kg $0,69\% \pm 0,31\%$, 25 mg/kg $1,93\% \pm 0,78\%$ e 50 mg/kg $0,97\% \pm 0,47\%$ obtendo um efeito gastroprotetor de 96%, 90%, 95%, respectivamente. A dose de 3,12 mg/kg $13,44\% \pm 2,03\%$ e 6,25 mg/kg $13,57\% \pm 2,04\%$ não reduziram as lesões gástricas quando comparado ao salina. Os animais que receberam carbenoxolona (100 mg/kg) tiveram a área de lesão reduzida para $0,5\% \pm 0,09\%$ tendo uma porcentagem de proteção de 97%.

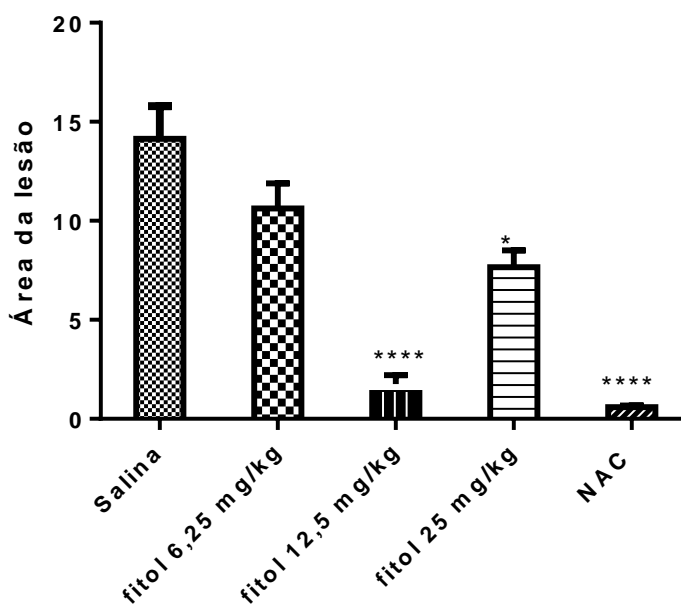
Figura 12 - Efeito do Fitol nas doses de 3,125; 6,25; 12,5; 25 e 50 mg/kg e da carbenoxolona (100 mg/kg) no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol em ratos. Os dados estão expressos como média \pm E.P.M., *** $p < 0,001$, comparados ao grupo salina (ANOVA de uma via, seguido do teste de Tukey).



5.2. EFEITO DO FITOL SOBRE LESÕES GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO.

O fitol inibiu o aparecimento de lesões gástricas no modelo de isquemia induzida por oclusão da artéria celíaca, seguida por reperfusão nas doses de 12,5 mg/kg (v.o) ($1,512 \pm 0,83$; **** $p < 0,001$) em 89,3%, na dose de 25 mg/kg foi capaz de reduzir em 45,89% ($7,65 \pm 2,0$; * $p < 0,05$), quando comparado com o grupo salina ($14,14 \pm 1,7$). Os animais tratados com N-acetilcisteína (NAC, v.o) na dose de 200 mg/kg, apresentaram um índice de lesão significativamente menor que o grupo salina, com a inibição de 95% ($0,596 \pm 0,32$; **** $p < 0,001$).

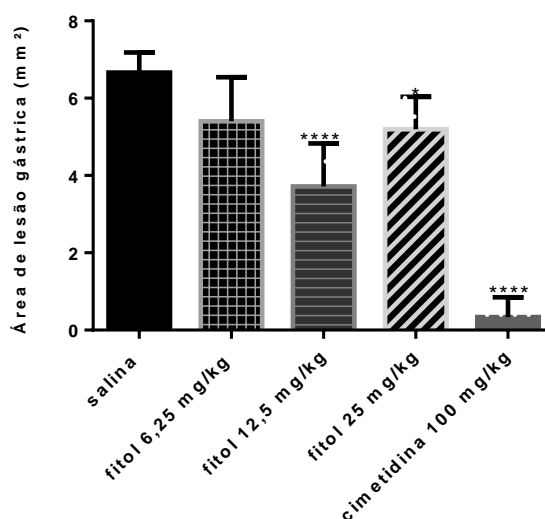
Figura 13: Efeito do fitol (6,25; 12,5 e 25 mg/kg) ou NANC (200 mg/kg) no modelo de lesões gástricas induzidas por isquemia seguida de reperfusão em ratos. Os dados estão expressos como média \pm E.P.M., * $p < 0,05$, **** $p < 0,001$, comparados ao grupo salina (ANOVA, seguido do teste de Tukey).



5.3. EFEITO DO FITOL SOBRE LESÕES GÁSTRICAS INDUZIDAS POR IBUPROFENO

Neste modelo foi observado que o fitol reduziu as lesões provocadas por ibuprofeno (400 mg/kg). A dose de 12,5 mg/kg promoveu redução da área de lesão em comparação ao controle. As doses de 6,25 e 25 mg/kg não promoveu redução das lesões. Animais que receberam cimetidina tiveram a área de lesão reduzida para 95%.

Figura 14: Efeito do fitol nas doses de 12,5; 25 e 6,25 mg/kg e da cimetidina (100 mg/kg) no modelo de lesões gástricas induzidas por ibuprofeno em ratos. Os dados estão expressos como média \pm E.P.M., * $p < 0,05$ comparados ao grupo veículo, **** $p < 0,0001$ vs. Veículo (ANOVA de uma via, seguido do teste de Tukey).

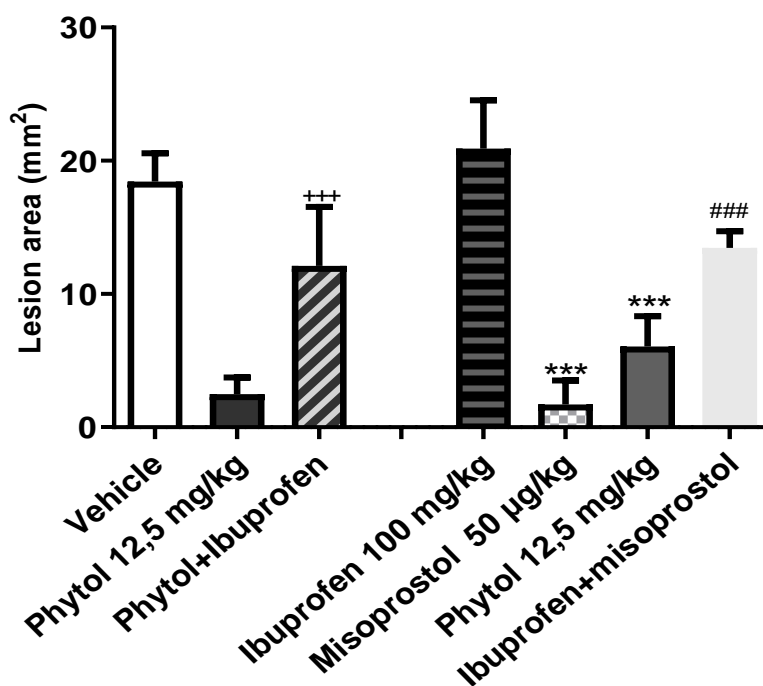


5.4. EFEITO GASTROPROTECTOR DO FITOL NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL: PARTICIPAÇÃO DAS PROSTAGLANDINAS

A administração de etanol absoluto aos animais que foram previamente pretratado com veículo e com ibuprofeno (100 mg/kg, v.o.), um inibidor da síntese de prostaglandinas, produziu grande porcentagem de área ulcerada ($20 \pm 1,72$ %). O pré-tratamento com ibuprofeno seguido de misoprostol e fitol apresentaram uma diminuição significativa na injúria gástrica provocada pelo etanol ($1,728 \pm 0,66$ %; $6,103 \pm 1,67$ %) respectivamente, quando comparado ao controle. Além disso o

misoprostol promoveu uma gastroproteção ($2,104 \pm 1,02$ %) quando comparado ao veículo.

Figura 15: Efeito do fitol na dose de 12,5 mg/kg e do misoprostol (50 µg/kg) após pré-tratamento com Ibuprofeno no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol absoluto em ratos. Os dados estão expressos como média \pm E.P.M.

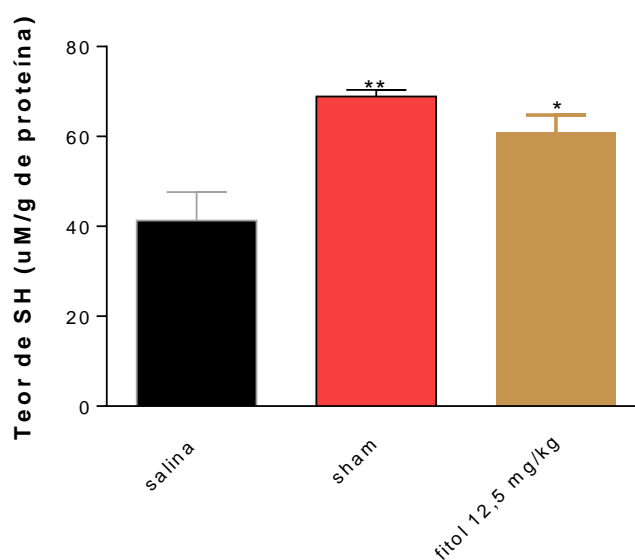


5.5. PARTICIPAÇÃO DO GRUPAMENTO SULFIDRILICO NÃO PROTEICO (GSH) NO EFEITO GASTROPROTETOR DO FITOL NO MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO

A administração de etanol reduziu os níveis de conteúdo gástrico de GSH-NP nos animais pré-tratados com salina ($41,29 \pm 6,47$ uM/g) quando comparado ao grupo sham ($68,88 \pm 7,09$ uM/g). O pré-tratamento com fitol na dose de 12,5 mg/kg alterou os níveis do conteúdo gástrico de GSH-NP quando comparado ao grupo que recebeu apenas salina antes da indução de úlcera por etanol absoluto. O tratamento com fitol, nas doses 12,5 mg/Kg, promoveu um aumento na

concentração de GSH ($60,86 \pm 3,88$ u M/g) no tecido estomacal em comparação com o estômago dos animais que receberam apenas salina.

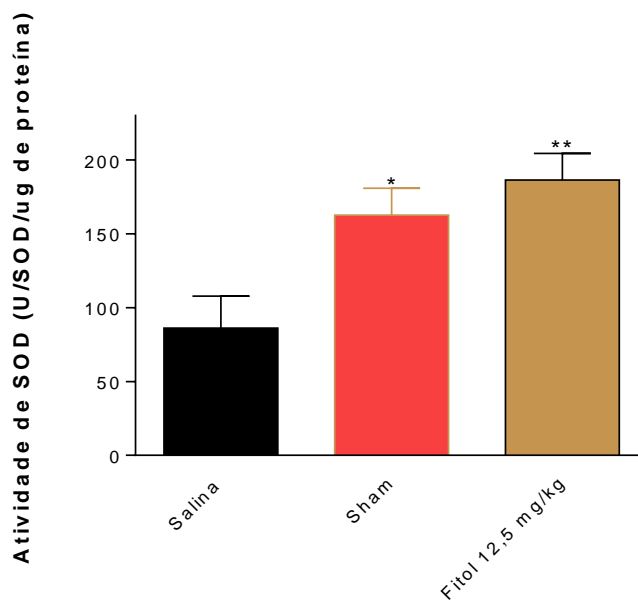
Figura 16 – Efeitos do fitol (12,5 mg/kg) no conteúdo gástrico de GSH. Resultados expressos como média \pm E.P.M (n = 6 animais/grupo). Os dados estão expressos em análise estatísticos ANOVA de uma via seguida por teste de Tukey: **p<0,01; * p<0,05 (em comparação com o grupo salina)



5.5.1 EFEITO DO FITOL SOBRE OS NÍVEIS TECIDUAIS DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) EM MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO

Os animais do grupo veiculo mostraram redução significativa nos níveis teciduais de SOD ($86,15 \pm 23,23$ μ g), quando comparados ao grupo Sham ($162,5 \pm 19,48$ μ g). O pré-tratamento com fitol aumentou significativamente restaurando o conteúdo de SOD tecidual ($186,6 \pm 17,86$ μ g) em relação ao grupo veiculo, mantendo-se em níveis normais em relação ao grupo sham

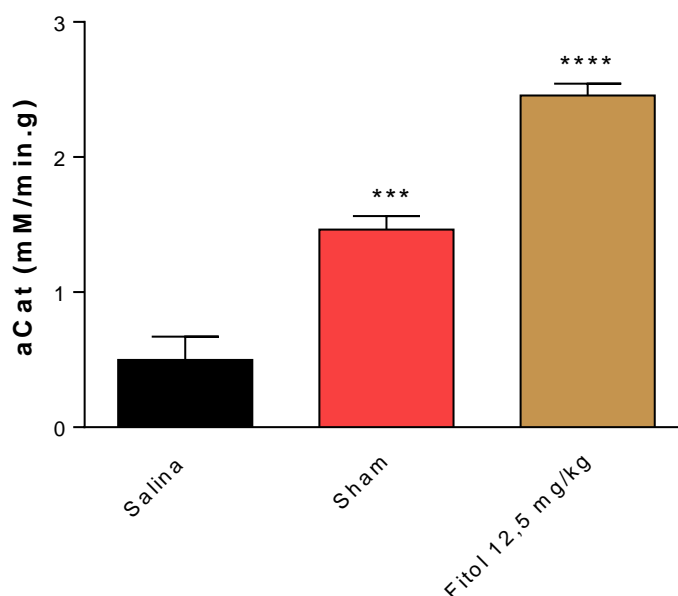
Figura 17. Determinação dos níveis teciduais de Superóxido dismutase (SOD) em lesões de úlceras induzidas por etanol, Veículo (NaCl 0,9% - 0,1 mL/10 g), Fitol (12,5 mg/Kg, v.o.), * $p < 0,05$ vs Sham; ** $p < 0,01$ vs salina ; (One way ANOVA e pós-teste de Tukey).



5.5.2 EFEITO DO FITOL SOBRE ATIVIDADE CATALASE EM MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO

A atividade da catalase no estômago dos ratos foi $1,465 \pm 0,16$ (sham) e após a administração de etanol, foi significativamente reduzida para $0,49 \pm 0,17$ no grupo controle (salina). Após o tratamento prévio com fitol na dose de 12,5 mg/kg a atividade da catalase aumentou significativamente para $2,45 \pm 0,174$, quando comparados ao grupo controle.

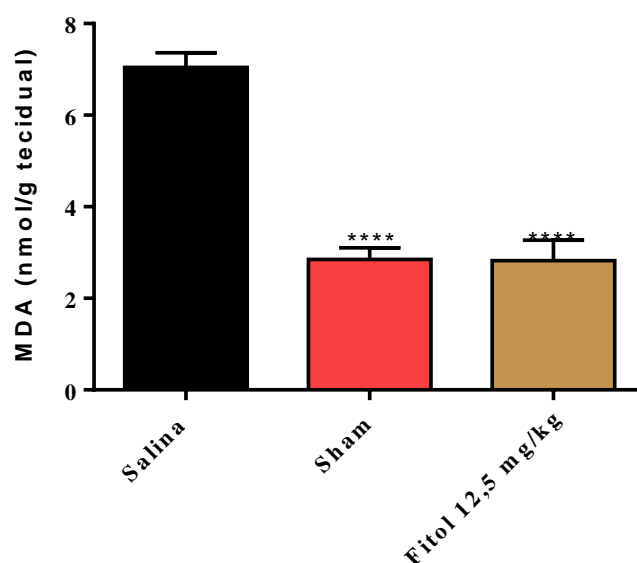
Figura 18. Efeito do fitol sobre a atividade da catalase na mucosa de estômagos lesionados por etanol absoluto, em ratos. Os dados são representados como média \pm E.P.M. *** $p < 0.001$ vs. Sham, **** $p < 0.0001$ (ANOVA one way e teste de Tukey).



5.5.3 EFEITO DO FITOL SOBRE OS NÍVEIS TECIDUAIS DE MALONDIALDEÍDO (MDA) EM MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO

O fitol ($2,82 \pm 0,48$ nmol/g tecidual) foi capaz de reduzir as concentrações de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico comparativamente ao grupo veículo ($7,04 \pm 1,00$ nmol/g tecidual). Não houve diferença significativa entre o grupo sham ($2,84 \pm 0,48$ nmol/g tecidual) e fitol ($2,82 \pm 0,48$ nmol/g tecidual). A peroxidação lipídica dos animais pre-tratado apenas com salina foi maior quando comparado ao grupo sham.

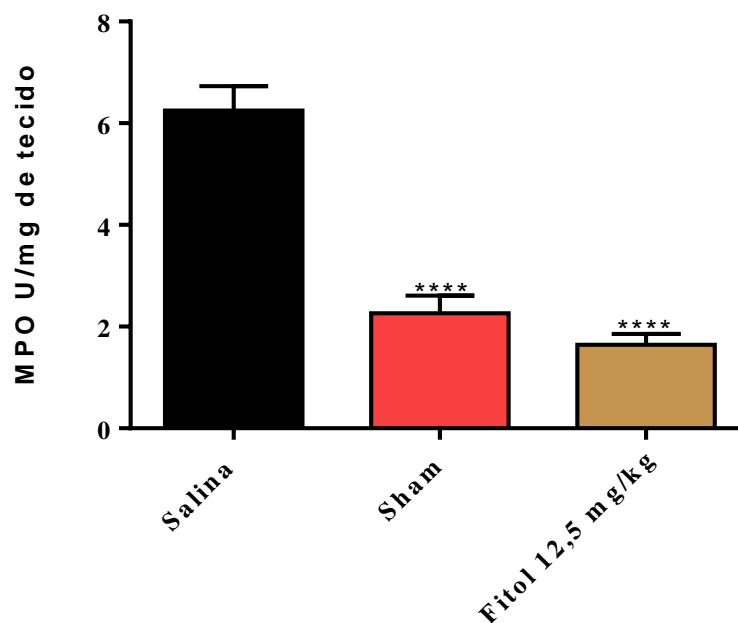
Figura 19 - Efeito do fitol sobre os níveis teciduais de Malondialdeído (MDA) em modelo de úlceras induzidas por etanol absoluto em ratos. Os dados são representados como média \pm E.P.M. **** $p < 0.001$ vs. grupo veiculo (ANOVA one way e teste de Tukey).



5.5.4 EFEITO DO FITOL NA REDUÇÃO DA ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE (MPO) EM NO MODELO DE ÚLCERA INDUZIDA POR ETANOL ABSOLUTO.

O modelo experimental de indução de úlcera por etanol mostrou-se efetivo em induzir inflamação; isso pode ser observado visto que a atividade da MPO nos estômagos dos animais pré-tratados com veículo foi significativamente maior quando comparado ao grupo sham. Nos estômagos pré-tratados com fitol ($1,64 \pm 0,7$ U/mg de tecido; *** $p < 0,01$) na dose de 12,5mg/kg reduziu a atividade da MPO quando comparado ao controle ulcerado ($6,24 \pm 0,52$ U/mg de tecido).

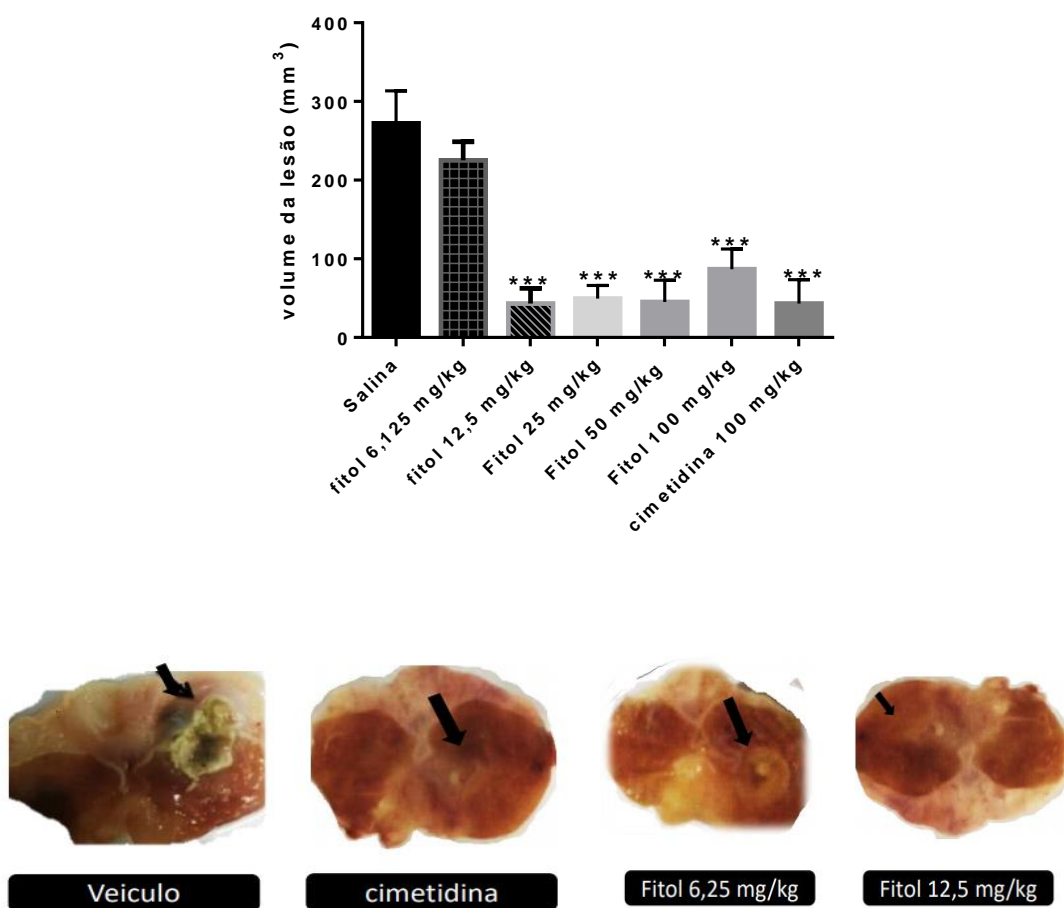
Figura 20 - Efeito do fitol sobre os níveis de MPO em mucosa de estômagos lesionados por etanol absoluto, em ratos. Os dados são representados como média \pm E.P.M. **** $p < 0.001$ vs. grupo salina (ANOVA one way e teste de Tukey).



5.6. EFEITO DO FITOL SOBRE ÚLCERAS GÁSTRICAS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO

No modelo de lesões gástricas induzidas por ácido acético, o tratamento oral por sete dias consecutivos demonstrou que o fitol acelera a cicatrização da úlcera gástrica crônica em ratos. Como pode ser visto nas figuras, fitol na dose de 12,5; 25; 50 e 100 mg/kg diminuiu significativamente a área da lesão ulcerativa ($43,17 \pm 7,28$ mm³); ($49,42 \pm 7,50$ mm³); ($45,32 \pm 13,74$ mm³); ($86,75 \pm 10,50$ mm³), respectivamente, em comparação ao grupo veículo ($272,20 \pm 18,41$), demonstrando possivelmente o efeito cicatrizante. Cimetidina também foi capaz de reduzir de maneira significativa a área de lesão ($43,3 \pm 13,62$ mm³). No tratamento com veículo, fitol ou cimetidina durante os sete dias não ocorreram óbito.

Figura 21: Efeito do fitol sobre lesões gástricas induzidas por ácido acético (80%) em ratos. Os animais foram tratados por via oral com veículo, fitol ou cimetidina (100 mg/kg), durante 7 dias. $p < 0,001^{***}$ quando comparado ao controle. Os dados estão expressos como média + E.P.M. ANOVA one-way seguido do teste de Tukey. Imagens ilustrativas dos estômagos (setas indicaram a área de úlcera. Barra de escala= 5mm



Discussão

6.0 DISCUSSÃO

A úlcera é uma das patologias mais frequentes com consequências severas, uma vez que a inflamação na mucosa gástrica ao longo da vida resulta na destruição do tecido estomacal, que é causada devido a um desequilíbrio entre fatores de risco (*Helicobacter pylori*, AINEs, ácido gástrico) e fatores protetores (mucina, bicarbonato, prostaglandinas) (MAJUMDAR; ATHERTON, 2006; ALMEIDA et al., 2011; OHARA, 2018).

Os experimentos aqui utilizados para a investigação do efeito gastroprotetor do fitol foram selecionados por envolver diferentes agentes e mecanismos de ação. O modelo agudo de indução de lesões gástricas por etanol absoluto promovem lesões na mucosa gástrica de maneira multifatorial. Atua na barreira de muco encontrada na parede gástrica, com isso, o epitélio gástrico torna-se mais sensível ao ataque do ácido produzido pelo estômago. Quando esse agente lesivo alcança o epitélio da mucosa através do rompimento da barreira muco/bicarbonato, provoca a ruptura da parede dos vasos sanguíneos, gerando as hemorragias e os focos hiperêmicos comumente observados nos modelos experimentais (DA SILVA, 2014).

O etanol também induz estresse oxidativo, danos ao DNA e redução dos grupamentos sulfidrílicos não proteicos das células que são fatores importantes na proteção da mucosa gástrica, em decorrência do fato do modelo de úlcera gástrica induzida por etanol absoluto causar lesões severas quando administrado agudamente, em geral este modelo experimental é utilizado para a caracterização inicial de substâncias com propriedade farmacológica gastroprotetora (FERREIRA et al., 2016).

No modelo de úlcera gástrica induzida por etanol, o fitol causou um efeito gastroprotetor possivelmente relacionado ao aumento de fatores citoprotetores, regulando a estimulação dos sistemas antioxidantes, diminuindo a peroxidação lipídica, aumentando a produção de óxido nítrico com restabelecimento do fluxo sanguíneo local, de prostaglandinas constitutivas, muco e bicarbonato, além de melhora na regeneração das células epiteliais gástricas, contribuindo para a integridade da mucosa (SOUSA, 2013).

De forma similar, alguns estudos têm demonstrado que outros diterpenos, como os compostos ativos isolados a partir das raízes de *Jatropha isabelli* Müell Arg, revelam um efeito gastroprotetor (FRÖHLICH et al., 2010), assim como a resposta

observada pelo diterpeno, fitol. Pertino e colaboradores (2007) estudaram o efeito desses compostos seguindo o modelo de indução de lesão gástrica com etanol em ratos, tendo como o fármaco padrão o lansoprazol, um inibidor da bomba de prótons. O composto, jatrolona B, merece destaque, pois não apresentou toxicidade frente a fibroblastos e células AGS e reduziu as lesões ulcerosas em 83% já na menor dose testada, se comparado com o padrão lansoprazol.

Outro estudo com um diterpeno foi realizado por Oliveira (2011), no qual foi utilizada uma substância isolada chamada *Marrubium vulgare* na dose de 25 mg/kg, demonstrou atividade gastroprotetora mais efetiva do que a observada no tratamento com cimetidina, fármaco antagonista do receptor H₂, que inibe seletivamente a secreção ácida estomacal e reduz a produção de pepsina, possuindo efeito gastroprotetor semelhante ao fitol. Troncoso (2004) também realizou estudo da atividade gastroprotetora do diterpeno aromático ferruginol no modelo de úlcera induzida por etanol e demonstrou uma redução da lesão quando comparado com padrão lansoprazol, corroborando ao efeito do fitol.

Outro modelo agudo utilizado para indução da úlcera gástrica é o de isquemia e reperfusão, onde a liberação de EROs é um evento patológico central e o uso de compostos antioxidantes e sequestradores de radicais livres têm se mostrado benéficos em animais expostos a este modelo (SILVA, 2017).

Diante dessa constatação passamos a investigar a capacidade do fitol sobre o efeito produzido pelos EROs na ulcerogênese aguda induzida por isquemia e reperfusão (I/R). A obstrução mecânica dos vasos sanguíneos do intestino pode acarretar na isquemia, que é uma diminuição crítica do suprimento sanguíneo, causando perfusão e oxigenação inadequadas do tecido. As células da mucosa epitelial são as mais suscetíveis à injúria e rapidamente lesadas em virtude de comprometimento do fluxo sanguíneo (ROWE e WHITE, 2002; SOUSA, 2013).

Estas lesões causadas por isquemia progridem com a reperfusão. Se a mesma ocorre enquanto as células são ainda viáveis, ocorre uma cascata de eventos em conjunto, desencadeados pela entrega de oxigênio ao tecido previamente isquêmico. A injúria resultante é chamada injúria de reperfusão e baseia-se na renovação de oxigênio ao tecido, com participação de células endoteliais e receptores aferentes para criar a resposta inflamatória (SMITH, 2002; PALÚ, 2013; SOUSA, 2013).

A hiperemia é a primeira resposta do tecido isquêmico quando o fluxo sanguíneo é reestabelecido. Com este aumento no fluxo sanguíneo, ocorrem danos físicos e bioquímicos no sistema vascular já comprometido pela isquemia, exacerbando o edema da mucosa, hemorragia e necrose (ROWE e WHITE, 2002).

Com a reintrodução de oxigênio ao tecido isquêmico durante a reperfusão, radicais livres derivados do oxigênio são produzidos quando o oxigênio reage com a xantina oxidase e a hipoxantina acumulada, produzindo o ânion superóxido. Em meio aquoso o ânion superóxido é relativamente instável, desdobrando-se a peróxido de hidrogênio e oxigênio. Apesar de não ser altamente tóxico, ele pode gerar outros radicais extremamente tóxicos, como o radical hidroxil, que é um poderoso oxidante (MATOS et al., 2000).

De acordo com os resultados apresentados no protocolo de isquemia ocasionada em ratos por “clampeamento” da artéria celíaca seguida de reperfusão ocorreu uma redução na área gástrica ulcerada em animais tratados com fitol em relação ao controle (veículo). Foi observado resultado semelhante pelo fármaco padrão, N-acetilcisteína (NAC), que funciona como inibidor da formação de EROs. Esse resultado do fitol foi similar ao apresentado por Oliveira (2012), no qual demonstra que o carvacrol diminuiu as lesões gástricas provocadas por isquemia/reperfusão.

Segundo Ribeiro e Yoshidaw (2005), uma série de fatores podem contribuir na gastroproteção evidenciada em lesões de isquemia e reperfusão, sendo eles enzimáticos hidrossolúveis como superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase (SOD, CAT, GPx), lipossolúveis (tocoferóis, carotenóides e quinonas), bloqueadores de leucotrienos. Assim, com base nos resultados, sugere-se que constituintes químicos presentes no fitol exerçam uma proteção da mucosa estomacal podendo envolver atividade antioxidante (PALÚ, 2013; SOUSA, 2013).

Após observar a atividade gastroprotetora do fitol nos modelos agudos de úlceras induzidas por etanol e por isquemia, procurou-se investigar um possível efeito gastroprotetor do fitol em modelos que utilizam os fármacos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), que é um modelo agudo e possui fatores que levam ao desequilíbrio da proteção da mucosa gástrica. Apesar de não produzirem lesões tão intensas quanto ao etanol, mas são a segunda maior causa de úlcera, principalmente em idosos, atrás apenas da infecção por *H. pylori* (HARRIS; MISIEWCZ, 2001; DA SILVA, 2017).

As úlceras gástricas causadas por AINEs envolvem mecanismos de inibição das cicloxigenases 1 e 2, produzindo redução da produção de prostaglandinas. A cicloxigenase-1 (COX-1) tem funções fisiológicas estabelecidas, ou seja, quando ativada, promove a produção de prostaciclina que, liberada no endotélio vascular, tem ação antitrombogênica, enquanto na mucosa gástrica, induz citoproteção (WALLACE, 2000; MURI et al, 2009; OLIVEIRA, 2011).

A COX-2 é induzida pelos processos inflamatórios e produz prostaglandinas que sensibilizam os nociceptores, provocam febre e inflamação por meio da vasodilatação e do aumento da permeabilidade vascular. Porém, em alguns órgãos, a COX-2 também é constitutiva, como nos rins, endotélio vascular, útero e sistema nervoso central (SNC) (CAVALLINI, 2002; SCHALLEMBERGER; PLETSCHE, 2014).

Alguns desses anti-inflamatórios, como o ibuprofeno, são conhecidos como indutores de úlcera gástrica quando utilizados por longos períodos. Desde que as prostaglandinas desempenhem um papel crítico na manutenção do sistema de defesa da mucosa gástrica, a inibição de COX levando a diminuição delas no tecido é considerado o fator mais importante na patogênese deste tipo de lesão (MATSUI et al., 2011). Contudo, a secreção ácida gástrica, infiltração de neutrófilos, alterações na produção de NO e estresse oxidativo são mecanismos que também contribuem para ulceração causada por AINES (MOTAWI et al., 2008; BOEING, 2015).

Suas ações podem ser locais, que tem um caráter ácido que danifica as células epiteliais e também possui uma ação sistêmica. Esses fármacos são capazes de reduzir a secreção de muco e bicarbonato, alterando o pH da mucosa tornando a barreira da mucosa mais susceptível a danos, bem como destroem a camada de fosfolípidios que recobre, facilitando a ação do suco gástrico na mucosa (SILVA, 2012; FILIPINI et al., 2012).

No modelo experimental de úlceras induzidas por fármacos anti-inflamatórios evidencia-se, no presente estudo, a capacidade gastroprotetora do fitol, no qual se pode sugerir um possível envolvimento da ação das prostaglandinas neste efeito. Este estudo é corroborado por Oliveira (2012), no qual o monoterpene carvacrol causou nesse modelo de lesão gástrica um efeito protetor.

Para avaliarmos uma efetiva participação das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do fitol, utilizamos o misoprostol, um análogo das prostaglandinas do tipo E1 (PGE1), bem como ibuprofeno, um inibidor da síntese de PGs. Os resultados

obtidos mostram que o misoprostol inibiu significativamente o aparecimento das lesões gástricas quando comparado com o controle veículo. Esse resultado reflete os dados obtidos na literatura, os quais demonstram que o aparecimento de úlceras induzidas por etanol é inibido pela liberação de prostaglandinas endógenas na superfície da mucosa gástrica (SOUSA, 2013; SILVA, 2017).

O misoprostol inibe a secreção de ácido gástrico, tanto no estado basal quanto em respostas a alimentos, histamina e cafeína, através de uma ação direta sobre a célula parietal. Igualmente, essa substância aumenta o fluxo sanguíneo da mucosa e a secreção de muco e bicarbonato (HAWKEY, 2000). Tanto o efeito gastroprotetor promovido pelo fitol quanto pelo misoprostol, não sofreu alteração pelo pré-tratamento com ibuprofeno (100 mg/kg, v.o.), sugerindo que as PGs possuam um papel importante no mecanismo gastroprotetor dessas substâncias. A partir destes resultados, é possível sugerir que fitol modulem a secreção gástrica ou promovam aumento na liberação de PGs e conseqüentemente, aumento no fluxo sanguíneo gástrico, na produção de muco e bicarbonato (OLIVERA, 2017).

Sabe-se que tanto o modelo de úlcera induzida por etanol, quanto o modelo de isquemia/reperfusão e modelos de AINES, possuem envolvimento na liberação de espécies reativas de oxigênio, que causam danos oxidativos resultando em lesão tecidual. Além disso, a atividade anti-úlcerosa dos terpenoides pode ser atribuída a vários mecanismos, tais como o sequestro de radicais livres, a inibição da secreção de ácido e o fortalecimento da barreira da mucosa gástrica. Baseado nessas premissas buscou-se investigar também a ação do fitol em diferentes sistemas antioxidantes e na produção de muco da mucosa gástrica (SOUZA, 2016).

A glutathiona reduzida (GSH) é o componente mais importante dos grupos sulfidrílicos não proteicos (NPSH), é encontrada na maioria das células de ratos e humanos no citosol, onde é sintetizada, e possui várias funções bioquímicas, como a proteção contra agressões provocadas por radicais livres, metabólitos eletrofílicos e ERO's liberados pelo etanol (CARLIXTO, 2003). Constitui outro importante mecanismo citoprotetor, pois participa diretamente como um potente antioxidante e indiretamente como substrato para várias enzimas antioxidantes, incluindo a glutathiona S-transferase (GST), glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona redutase (GR) (CNUBBEN et al., 2001; BURCI, 2011).

Já tem sido bem estabelecido a importância da GSH para a proteção gástrica contra agentes lesivos (SZABO et al., 1981; CARVALHO, 2017).

Substâncias contendo radicais sulfídricos protegem a mucosa gástrica de forma similar as prostaglandinas. Assim, o aumento nos níveis dos grupos sulfidrilas não proteicos (SH-NP) relacionam-se com a redução da lesão gástrica induzida por etanol, sendo por meio de inativação de ERO's e/ou produtos da peroxidação lipídica, devido a sua oxidação por metabólitos tóxicos do etanol ou por sua ligação ao acetaldeído, sintetizado pela enzima álcool desidrogenase ou, ainda, por uma diminuição na síntese de glutathione (SZABO et al., 1981; SZABO et al., 1992; SILVA, 2017). Desta forma, é possível que o fitol diminua a lesão induzida por etanol, podendo este ser um dos mecanismos pelo qual a mesma exerça seu efeito protetor gástrico, ou seja, através da redução da peroxidação lipídica induzida por etanol na mucosa.

Estudos indicam que a resposta inflamatória é um processo importante na cicatrização, uma vez que prepara o ambiente da úlcera para o processo de reparo. Entretanto, esta fase não deve ser muito intensa e persistente, pois uma resposta tecidual excessiva pode retardar a cicatrização (CAETANO, 2012). Os radicais livres têm um papel de destaque no desenvolvimento da úlcera (HAMAISHI et al., 2006), e os neutrófilos são descritos como umas das maiores fontes geradoras desses radicais livres (TWARDOWSCHY, 2007). São importantes no reparo por serem as primeiras células a responder imediatamente após a formação do coágulo e também a serem recrutadas para a lesão por serem as células inflamatórias de menor tamanho (CAETANO, 2012).

Os neutrófilos liberam enzimas proteolíticas, tais como MPO, para a digestão de restos celulares e contribuem para a morte de bactérias por meio de fagocitose, produção de superóxido ou peróxido de hidrogênio (espécies reativas derivadas do oxigênio – ROS) e óxido nítrico (NO) (MONACO; LAWRENCE, 2003; STRONCEK; BELL; REICHERT, 2009).

A enzima mieloperoxidase é um importante marcador para infiltração de neutrófilos, estando presente no tecido gástrico lesado, e relacionada ao processo inflamatório agudo (DENGIZ et al., 2007; SILVA, 2012). No modelo de etanol, o fitol diminuiu a atividade dessa enzima, mostrando que a ação inflamatória está diminuída, resultando numa atenuação do estresse oxidativo, que é gerado pela liberação de EROs pelos neutrófilo. O trabalho realizado por BOSCARDIN (2012), demonstrou que o terpeno α -pineno diminuiu a atividade da enzima, demonstrando esse efeito antioxidante, corroborando o achado do fitol.

Além de reduzir os níveis de MPO, o etanol afeta as propriedades do tecido gástrico elevando a peroxidação lipídica (ROZZA et al., 2011) sendo o malondialdeído (MDA) o principal indicador de peroxidação lipídica é um aldeído de cadeia curta, sendo um dos compostos medidos pela reação com o ácido tiobarbitúrico (TBARS), produzindo um composto de cor vermelha, medido espectrofotometricamente. A formação de malondialdeído ocorre pela decomposição dos hidroperóxidos lipídicos e sua concentração tem sido utilizada para estimar a intensidade da peroxidação lipídica em sistemas biológicos, em células e tecidos (MAFRA et al., 1999).

Assim, o MDA atua como um marcador de EROs, mediado pelo desenvolvimento das lesões gástricas (KWIECIENS, BRZOZOWSKI e KONTUREK, 2002). O MDA, produto de peroxidação lipídica, é citotóxico e afeta as estruturas das membranas provocando uma perda de fluidez e integridade e, em última instância, uma perda da função celular. (TAKEUCHI et al., 1991). O fitol diminuiu os níveis de MDA, portanto estes dados demonstram que a atividade gastroprotetora deste diterpeno possivelmente esteja relacionada com o aumento da atividade antioxidante.

A catalase é uma heme enzima e tem como sua função antioxidativa dismutar H_2O_2 em H_2O e O_2 . Esta enzima é encontrada principalmente em peroxissomos e em humanos, todos os órgãos apresentam essa enzima (LIMA, 2015). Ela metaboliza o peróxido de hidrogênio de maneira extremamente rápida e pode atuar de duas maneiras, dependendo da concentração do substrato. Em baixas concentrações ($< 1\mu M$), atua como peroxidase ($RH_2 + H_2O_2 \rightarrow R + 2H_2O$) e isto ocorre com uma variedade de doadores de hidrogênio, como etanol, metanol, fenol, nitritos e ácido ascórbico. Em altas concentrações de substrato, a CAT decompõe rapidamente o peróxido de hidrogênio tóxico rapidamente utilizando a reação catalítica, na qual o H_2O_2 atua como acceptor e doador de hidrogênio: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$, promovendo à célula um mecanismo altamente eficiente de remoção do peróxido de hidrogênio (OSHINO et al, 1973; SCANDALIOS, 2005; MAYER, 2007).

A catalase tem um papel protetor importante contra os efeitos tóxicos dos peróxidos gerados nos peroxissomos e os remove com grande eficácia (SIRAKI et al, 2002; MAYER, 2007). A atividade da CAT aumentada nos animais tratados com fitol também sugere elevados níveis de remoção do peróxido de hidrogênio (H_2O_2),

reforçando a hipótese de seu efeito antioxidante. Efeito similar teve o alfa terpineol no qual manteve elevada a atividade da catalase em modelos de lesão por etanol absoluto (FERNANDES et al., 2016).

Com base nestes dados, verificou-se a ação do fitol sobre outra importante enzima: a superóxido dismutase (SOD). As diferentes formas de SOD catalisam a reação de dismutação do radical superóxido, removendo cataliticamente os radicais superóxidos. Em condições normais a SOD age tendo uma ação de defesa celular que degrada o superóxido (O_2^-) em oxigênio e peróxido de hidrogênio (VANNUCCHI et al., 1998; BARBOSA et al., 2010). A degradação do ânion superóxido pela SOD, no processo inflamatório, impede que o mesmo induza a produção de citocinas, agentes quimiotáticos e expressão de moléculas de adesão (LI; ZHOU, 2011).

O fitol aumentou os níveis de SOD em relação ao grupo veículo no modelo de úlcera induzida por etanol. Resultado similar ao apresentado no trabalho de GUEDES (2010), que o efeito do ácido centipédico, um diterpeno, elevou os níveis da enzima SOD no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol.

A ulceração por ácido acético é o modelo mais próximo de úlceras gástricas em humanos, e o dano não se restringe apenas a camada de muco e a submucosa, mas se estende até a camada muscular (BONAMIN et al., 2011; MORAES, 2014). As ulcerações são induzidas por desordem de diversos fatores, dentre eles estão: aderência de muco, óxido nítrico, citocinas, microcirculação, fatores do crescimento além da produção de prostaglandinas derivadas da enzima COX2 (ALLEMAND, 2009).

Esse modelo de indução de úlcera serve para avaliar o processo de cicatrização, no qual é um processo complexo que inclui a reconstrução da mucosa através da formação do tecido de granulação na base da úlcera com a migração e proliferação de células epiteliais e inflamatórias, a síntese e degradação de moléculas da matriz extracelular e componentes de tecido conectivo, além da síntese de fatores de crescimento e citocinas e com isso ocorrendo o reestabelecimento da arquitetura glandular (PAZZINI, 2007; SILVA, 2012).

No entanto, em alguns casos, numerosos neutrófilos e macrófagos persistem abaixo do tecido regenerado, mesmo após a cicatrização da úlcera. Estes macrófagos aumentam a produção e liberação de citocinas, levando a quimiotaxia e acúmulo de neutrófilos que por sua vez, liberam proteases e espécies reativas de

oxigênio lesando o tecido cicatrizado e induzindo a recorrência da úlcera (ARAKAWA et al., 2012; BOEING, 2015).

Os resultados apresentados no presente estudo demonstraram que o tratamento dos animais por sete dias com a cimetidina reduziu significativamente a úlcera gástrica induzida por ácido acético. De maneira semelhante, o tratamento com o fitol também protegeu a mucosa gástrica das lesões causadas pelo ácido acético. Pesquisas feitas anteriormente como a realizada por, Yamaguchi e Garcia (2012), evidenciam ação do óleo-resina de copaíba que é uma solução de ácidos diterpênicos no qual apresentou melhor cicatrização, quando confrontado ao omeprazol. De tal modo pode-se supor que tanto o óleo quanto o fitol inibam algum dos efeitos fisiopatológicos citados anteriormente.

Diante do exposto, como a cicatrização da ulcera envolve diversos mecanismos, como descrito anteriormente, uma das possibilidades no qual o fitol mostrou-se efetivo para promover a cicatrização, pode ser devido a sua ação antioxidante.

Em síntese, o presente estudo demonstrou, frente a lesões gástricas induzidas por etanol absoluto, isquemia/reperfusão e atividade antioxidante, uma gastroproteção promovida pelo fitol, que pode estar relacionada com a manutenção da integridade da mucosa gástrica, que depende da completude da microcirculação, regulando a estimulação dos sistemas antioxidantes, diminuindo a peroxidação lipídica, com reestabelecimento do fluxo sanguíneo local de prostaglandinas constitutivas, além de melhorar na regeneração das células epiteliais gástricas visto no modelo crônico de ácido acético (LA CASA et al., 2000; REPETTO et al., 2003).

Conclusões

7.0 CONCLUSÕES

- O fitol possui efeito antiulcerogênico em modelos de lesões gástricas agudas induzidas por: etanol, isquemia e reperfusão, AINES e em modelo crônico de ácido acético em ratos;
- O fitol possui ação antioxidante na parede gástrica dos ratos envolvendo a participação dos grupos sulfidrilas não-proteicos e potencializando o sistema antioxidante através da diminuição da atividade da mieloperoxidase e dos níveis de MDA, e por aumentar defesas antioxidantes endógenas como a SOD e catalase.

Perspectivas

8.0 PERSPECTIVAS

- Na perspectiva de continuar o presente estudo da atividade gastroprotetora do fitol, é relevante a continuação dos possíveis mecanismos de ação envolvidos nesta ação, através dos seguintes modelos experimentais:
- Análise da participação do óxido nítrico, dos canais de potássio sensíveis ao ATP, na produção de muco, no qual este está entre os prováveis mecanismos envolvidos no efeito gastroprotetor;
- Avaliação dos níveis séricos de somatostatina, gastrina, PGE2, TNF α , IL-8,
- Investigação do envolvimento da bomba H⁺/K⁺-ATPase;
- Análise do tecido gástrico através de cortes histológicos, verificando se o fitol também é capaz de reduzir as lesões nas microestruturas das células gástricas.

Referências

9.0 REFERÊNCIA

ADEFISAYO, M.A., *et al.* Gastro-protective effect of methanol extract of *Vernonia amygdalina* (del.) leaf on aspirin-induced gastric ulcer in Wistar rats. **Toxicology Reports**, v.4, p.625–633, 2017.

ALLEMAND, ALEXANDRA. **Efeito cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *salvia officinalis* L. em úlceras gástricas induzidas por ácido acético em ratos.** Dissertação de pós-graduação em Farmacologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009.

ALMEIDA, ELISÂNGELASA TURNINO DE SOUZA. Pharmacological mechanisms underlying the anti-ulcer activity of methanol extract and canthin-6-one of *Simaba ferruginea* A. St-hil.in animal models. **Journal of ethnopharmacology**, v.134, n. 3, p. 630-636, 2011.

ALMEIDA, NUNO MIGUEL PERES DE. **Resistência Primária e Secundária de *Helicobacter Pylori* aos agentes antimicrobianos:** a realidade atual na região Centro de Portugal. Tese de Doutorado em Ciências Da Saúde. Universidade de Coimbra. v.I, Coimbra, 2014.

ALTINKAYNAK, K; SÜLEYMAN, H; AKÇAY, F. Effect of nimesulide, rofecoxib and celecoxib on gastric tissue glutathione level in rats with indomethacin-induced gastric ulcerations. **Pol. J. Pharmacol**, v. 55, p. 645–648, 2003.

ARAKAWA, T., *et al.* Quality of ulcer healing in gastrointestinal tract: Its pathophysiology and clinical relevance. **World J Gastroenterol**, v.18, n.35, p. 4811-4822, 2012.

ARANZALES, J.R.M. **Efeitos do óleo de milho e do sucralfato em equinos portadores de úlceras gástricas.** Tese do programa Medicina e Cirurgias Veterinárias. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2012.

ARAUJO, D. A; OLIVEIRA, V. **Avaliação da gastroproteção do óleo essencial do *Protium Heptaphyllum* march (burseraceae) bem como os possíveis mecanismos de ação envolvidos em modelos de úlcera gástrica em ratos.** Dissertação de pós-graduação em Farmacologia. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. Campinas, 2012.

ARAÚJO, EDILANE RODRIGUES DANTAS. ***Kalanchoe brasiliensis* Cambess e *Kalanchoepinnata* (Lamarck) Persoon: caracterização química, avaliação gastroprotetiva e anti-inflamatória tópica.** Dissertação de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2017.

ARAÚJO, LORENA DE SOUZA. **Avaliação da atividade anti-inflamatória e antioxidante da Olmesartana em modelo experimental de mucosite oral.** Dissertação de pós-graduação em Saúde Coletiva. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2017.

ARAUJO, JUCEMARY SIMPLÍCIO. **Desenvolvimento vegetal, produção e composição química do óleo essencial de *Cordiaverbenacea* DC. (*Boraginaceae*) em função do fornecimento de N, P, K e Be da aplicação de ácido Jasmônico.** Dissertação de pós-graduação em Biologia Vegetal. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Campinas, 2007.

ATUMA, C., et al. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v.280: p.922–929, 2001

BARREIROS, A.L.B. S; DAVID, J.M; DAVID, J.P. Estresse oxidativo : relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim.Nova**, v. 29, n. 1, p.113-123, 2006.

BAKKALI, F., et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p. 446–475, 2008.

BERTÉ, P.E. **Avaliação da atividade gastroprotetora de *Rubus imperialis* Cham. Schl. (*Rosaceae*) em modelos experimentais *in vivo*.** Dissertação do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, 2013.

BEZERRA, A.N.S; DE OLIVEIRA, R.B; MOURÃO, R.H.V. *Psittacanthus plagiophyllus* Eichl. (*Loranthaceae*): Perfil fitoquímico, efeito gastroprotetor e toxicidade aguda. **Revista Fitos**, v. 10, n. 2, p. 95-219, 2016.

BEERS, Roland F.; SIZER, Irwin W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **J Biol chem**, v. 195, n. 1, p. 133-140, 1952.

BHARGOVA, . et al. Biochemical study of the anti-inflammatory activity of α and β -Amyrin acetate. **Biochemical pharmacology**, v. 20, n. 2, p. 401-405, 1971.

BI, W.P., et al. Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: A review. **World J Gastroenterol**, v.20, n.45, p.17020-17028, 2014.

BOEING, THAISE. **Avaliação da atividade gastroprotetora e cicatrizante gástrica do extrato etanólico das folhas de *Vernonia condensata* Baker.** Dissertação do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade do Vale do Itajaí. Itajaí, 2015.

BONAMIN, F., et al. Can a *Strychnos* species be used as antiulcer agent? Ulcer healing action from alkaloid fraction of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (*Loganiaceae*). **Journal of Ethnopharmacology**, v.138, p.47– 52, 2011.

BORRELLI, F; IZZO, A.A. The Plant Kingdom as a Source of Anti-ulcer Remedies. **Phytotherapy research**, v.14, p. 581–591, 2000.

BOSCARDIN, PATRÍCIA MATHIAS DÖLL. **Avaliação anti-inflamatória e citotóxica do óleo essencial de *eucalyptusbenthami* Maiden et Cambage**. Tese de doutorado em programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal Do Paraná. Curitiba, 2012.

BRAGA, L.E.O. **Avaliação da atividade antiulcerogênica e da ação sobre a motilidade gastrointestinal do óleo essencial de *Mentha aquatica***. Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba. Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba, 2016.

BRADLEY, P. P.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood**, v. 60, n. 3, p. 618-22,

BRINK, D. M. van den; WANDERS, R. J. A. Phytanic acid: production from phytol, its breakdown and role in human disease. **Cell. Mol. Life Sci.**, v. 63, p.1752–1765, 2006.

BRITO, L.C.M; SÁ, P.A. TRATAMENTO DE ÚLCERAS GÁSTRICAS EM EQUINOS. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v.2, n. 1, 2015.

BRUNTON, L.L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman- As bases farmacológicas da terapêutica**. 11 ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 2006.

BURCI, LÍGIA MOURA. **Avaliação do Potencial Gastroprotetor e Cicatrizante da Fração Diclorometano e da Piplartina obtidos dos frutos *Piper tuberculatum* Jacq. em Ratas**. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2011.

CAETANO, Guilherme Ferreira. **Biomembrana de quitosana-alginato na cicatrização de úlceras cutâneas em ratos**. Dissertação de pós-graduação em biotecnologia. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. São Paulo, 2012.

CALDAS, G.F.R. **Efeito gastroprotetor e segurança de uso do óleo essencial das folhas de *hyptismartiusii* benth. (Lamiaceae) e do monoterpeno 1,8-cineol**. Tese do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2013.

CALIXTO, Caroline Paludo. **Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso bruto das folhas da *Arctium lappa* L. (Bardana)**. Monografia – TCC (Graduação em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2003.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of medical and biological research**, v.33, p.179-189, 2000.

CALOU, Iana Bantim Felício. **Efeito dos terpenos ácido centipédico e lactona do ácido hawtriwaico em modelos de dermatite de contato induzida por tpa e oxazolona em camundongos.** Dissertação de Pós-Graduação em Farmacologia. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2008.

CALOU, I.B.F; LIMA, L.A.R; FERREIRA, J.A.N; CERQUEIRA, G.S. A ATIVIDADE GASTROPROTETORA DA *Maytenusilicifolia* e *Maytenusaquifolium*. **Revista saúde e ciênciaOnline**, v. 3, n. 2, p. 33-42, 2014.

CARRASCO, VIVIANE. **Eficácia do extrato da folha do bálsamo *Sedum dendroideum* na prevenção e no tratamento da úlcera gástrica induzida em animais.** Dissertação da Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, 2014.

CARVALHO, M.M.C.M. **Úlcera péptica: Etiopatogenia, diagnóstico, aspectos clínicos e tratamento.** Monografia da Faculdade Ciências Da Saúde. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2013.

CARVALHO, Nathalia Santos. **Efeito protetor da sinvastatina na lesão gástrica induzida por alendronato em ratos.** Dissertação de pós-graduação em Farmacologia. Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2017.

CAVALLINI, M.E. **Estudo experimental comparativo entre as lesões agudas da mucosa gástrica de ratos, induzidas pela indometacina e celecoxib e a citoproteção com o uso de omeprazol e misoprostol.** Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2002.

CESÁRIO, F.R.A., et al. Efeitos do óleo essencial do *Croton argyrophyloides* nas lesões gástricas induzidas por etanol e indometacina em camundongos. **Caderno de Cultura e Ciência**, Ano IX, v.13, n.2, 2015.

CORDEIRO, K.W. **Atividade da casca da *Croton urucurana* na prevenção e cura de úlcera gástrica induzida em ratos.** Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados. Faculdade de Ciências da Saúde. Dourados, 2012.

CORDEIRO, K.W, et al. Antiulcerogenic effect of *Croton urucurana* Baillon bark. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 331–337, 2012.

COSTA, Gabriela Marques Batista Arcanjo. **Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos e de óleo essencial de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*).** Monografia de conclusão de curso de Farmácia. Universidade de Brasília. Brasília-DF, 2016.

COSTA, Jéssica Pereira, et al. Avaliação da toxicidade aguda e das alterações histopatológicas em camundongos tratados com fitol. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.33(3), p.421-428, 2012.

COSTA, J. P.; FERREIRA, P. B.; SOUSA, D. P. de; JORDAN, J.; FREITAS, R.M. Anticonvulsant effect of phytol in a pilocarpine model in mice. **Neuroscience Letters**, v.523, n.2, p.115-118, 2012.

COSTA, J.P. **Estudo dos efeitos neurofarmacológicos e toxicológicos do fitol visando o planejamento de novos psicofármacos**. Dissertação de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2012.

COSTA, M. B. M., et al. Lesões gástricas em equinos hospitalizados: achado acidental. **Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.**, Curitiba, v. 11, n. 2, p.151-159, 2013.

CNUBBEN, Nicole HP et al. A interação de processos relacionados à glutathione na defesa antioxidante. **Toxicologia Ambiental e Farmacologia**, v. 10, n. 4, p. 141-152, 2001.

CHAKRAVORTY, M., et al. *IL1B* promoter polymorphism regulates the expression of gastric acid stimulating hormone gastrin. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 41, p.1502–1510, 2009.

CRAVEIRO, INÊS VIANA AMARAL. **Estudo preliminar da eficácia das sementes de *Trigonella Foenum-Graecum* L. (Feno Grego) no tratamento da suge (Síndrome De Úlceras Gástrica Equina)**. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Universidade De Lisboa. Lisboa, 2017.

CROSS, A. R., SEGAL, A.W. The NADPH oxidase of professional phagocytes: prototype of the NOX electron transport chain systems. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1657, p. 1–22, 2004

CUSTÓRDIO, C.S. et al. EFEITO GASTROPROTETOR DE FITOTERÁPICOS À BASE DE *Plectranthus barbatus* (MALVA-SANTA). **Revista GEINTEC**, v. 5, n. 2, p.2051-2057, 2015.

DALLE-DONNE, I., et al. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. **Clinical Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 601–623, 2006.

DAS, Kajari; SAMANTA, Luna; CHAINY, G. B. N. A modified spectrophotometric assay of superoxide dismutase using nitrite formation by superoxide radicals. 2000.

DE ALMEIDA, C.L.F. **Atividade gastroprotetora de *Spondias purpurea* L. (ANACARDIACEAE) em modelos animais**. Dissertação do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal da Paraíba. Campina Grande, 2013.

DE JESUS, N.Z.T. **Avaliação da atividade antiulcerogênica do extrato etanólico bruto e da fase hexânica de *Hyptissuaveolens* (L.) Poit (LAMIACEAE) em modelos animais**. Tese do programa de pós-graduação em produtos naturais e sintéticos bioativos. Universidade federal da Paraíba. João Pessoa, 2012

DEL RIO, DANIELE; STEWART, A J; PELLEGRINI, N.A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 15, p. 316-328, 2005

DENGIZ, G.O., et al. Gastroprotective and Antioxidant Effects of Amiodarone on Indomethacin-induced Gastric Ulcers in Rats. **Arch Pharm Res**, v.30,n.11, p. 1426-1434, 2007

DE SOUSA, D.P. Analgesic-like Activity of Essential Oils Constituents. **Molecules**, v. 16, p. 2233-2252, 2011.

DIAS, JHONATTA ALEXANDRE BRITO. **Avaliação das atividades gastroprotetora, anti-inflamatória e antinociceptiva de *Spondias tuberosa* Arr. Cam.(ANACARDIACEAE)**. 2014.

DICKINSON, D.A; FORMAN, H.J. Cellular glutathione and thiols metabolism. **Biochemical Pharmacology**, v.64, p. 1019-1026, 2002.

DONATINI, R. S., et al. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (Myrtaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.19, n.1, p.89-94, 2009.

FALCÃO, R.A. **Avaliação das atividades antinociceptiva, anti-inflamatória e gastroprotetora de *Spondia tuberosa* arruda (ANACARDIACEAE) em modelos experimentais**. . Dissertação do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal da Paraíba. Campina Grande, 2014.

FARIA, F.M., et al. Antioxidant Action of Mangrove Polyphenols against Gastric Damage Induced by Absolute Ethanol and Ischemia-Reperfusion in the Rat. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p.9, 2011.

FATURI, CLAUDIA BRITO, et al. Anxiolytic-like effect of sweet orange aroma in Wistar rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology&Biological Psychiatry**, v.34, p.605–609, 2010.

FERRAZOLI, CATHARINE. **Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato metanólico e frações dos capítulos de *Eriocaulon Ligulatum* vell. (ericaulaceae)**.Dissertação de pós-graduação em Ciências Biológicas. Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP. Botucatu – SP, 2008.

FERREIRA, ANDERSON LUIZ. **Atividade Antiulcerogênica da espécie *Anacardium humile* St. Hil. (Anacardiaceae)**.Dissertação de pós-graduação em Farmacologia. Universidade Estadual De Campinas. Campinas, 2005.

FERREIRA, DANIELE MARIA. **Avaliação da atividade gastroprotetora e cicatrizante gástrica da ramnogalacturonana isolada da *Acmellaoleracea*(L.) R.K. Jansen em ratas**. Dissertação de pós-graduação em Farmacologia. Universidade Federal Do Paraná. Curitiba, 2013.

FERREIRA, M.R.N; NOBREZA, N.D; SOUSA, J.A. Estudo comparativo dos inibidores da bomba de prótons no tratamento de úlceras gástricas induzidas por etanol em *Mus musculus*. **Revista Interdisciplinar**, v. 9, n. 4, p. 12-19, 2016.

FERREIRA, P. M. et al. Ação gastroprotetora do extrato etanólico das folhas de *Solanum lycocarpum* St. Hil.(Lobeira). **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v. 4, n. 2, p. 60-64, 2002.

FERRAZOLI, Catharine. **Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato metanólico e frações dos capítulos de *Eriocaulon ligulatum* Vell.(Eriocaulaceae)**. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado-Área de Concentração Farmacologia) Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho–UNESP Campus Botucatu, 2008.

FILHO, MÁRIO DOS ANJOS NETO. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, Master Editora, vol.5, n.3, p. 05-56, dez/2013–fev/2014.

FILIPINI, CIBELLE BARCELOS. Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol em ratas. **Rev Bras Clin Med. São Paulo**, mar-abr; v.10(2), p.112-115, 2012.

FONSECA, ALDILANE GONÇALVES. **Avaliação toxicológica aguda e subcrônica das folhas de *Kalanchoe brasiliensis* (Crassulacea) em camundongos Swiss**. Dissertação de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal-RN, 2014.

FRÖHLICH, JANAINA KIELING, *et al.* Compostos isolados de *Jatropha gossypifolia* (müll arg.) com atividade gastroprotetora. **Saúde (Santa Maria)**, v.36, n.2, p. 19-28, 2010.

GANEV, ELLEN GERALDO. **Ação antiúlcera do Citral em modelos experimentais *in vivo*: Análise do envolvimento do Óxido Nítrico, Muco aderido e Grupamentos Sulfidrílicos na proteção da mucosa**. Monografia – TCC (Graduação em Física Médica). Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – UNESP.Botucatu – São Paulo,2010.

GLOERICH, J; et al. Metabolism of phytol to phytanic acid in the mouse, and the role of PPAR α in its regulation. **Journal of Lipid Research**, v.48, p.77-85, 2007.

GOMES, RENATA DE CAMARGO. **Avaliação da atividade antiulcerogênica dos extratos metanólico e clorofórmico e da fração butanólica de *Vochysiaticanorum*(vochysiaceae)**. Dissertação de pós-graduação em Ciências Biológicas. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Botucatu - SP: 2006.

GONÇALVES, FLÁVIA SOBREIRA MENDONÇA. **Mecanismos de ação relacionados à atividade antiúlcera de *Kalanchoepinnata* (Lam.) Pers (Crassulaceae)**. Tese de doutorado em programa de pós-graduação em fármacos e medicamentos. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2017.

GUIMARÃES, LUCIANA LOPES, *et al.* Análise fitoquímica de plantas medicinais indicadas popularmente na forma de garrafadas para o tratamento da úlcera gástrica. **Unisanta Health Science**, v.1, p. 88-97, 2017.

GUEDES, MARJORIE MOREIRA. **Investigação farmacológica dos mecanismos de ação gastroenteroprotetores do ácido cantipédico, um diterpeno de *Esglites Viscosa Less.*, em modelos experimentais.** Tese de doutorado em programa de pós-graduação em Ciências medica. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2010.

Gudis K, Sakamoto C. The role of cyclooxygenase in gastric mucosal protection. **Digestive Diseases and Sciences**. 2005; 50:16-23.

HAN, H.; MA, Y.; EUN, J.S.; LI, R.; HONG, J.T.; LEE, M.K.; OH, K.. Anxiolytic-like effects of sanjoinine A isolated from *Zizyphi Spinosi Semen*: Possible involvement of GABAergic transmission. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 92, p. 206-213, 2009.

HAMAISHI, K; KOJIMA, R; ITO, M. Anti-ulcer Effect of Tea Catechin in Rats. **Biol. Pharm. Bul**, v .29, n.11, p.2206-2213, 2006.

Huang C-Y, Lai W-Y, Sun M-F, Lin C-C, Chen B-C, Lin H-J, *et al.* Prescription patterns of traditional Chinese medicine for peptic ulcer disease in Taiwan: A nationwide population-based study. **J Ethnopharmacol**. 2015; 176:311–20.

ISLAM, Md Khirul *et al.* An ethnobotanical study of medicinal plants used by tribal and native people of Madhupur forest area, Bangladesh. **Journal of ethnopharmacology**, v. 151, n. 2, p. 921-930, 2014.

IZQUIERDO R., ASTUDILLO L., RODRÍGUEZ J. Á., THEODULOZ C., PALENZUELA J. Á., SCHMEDA-HIRSCHMANN G., *Planta Med.*, 73, 310—317, 2007.

IWAMOTO, Leilane Hespporte *et al.* **Avaliação da atividade farmacológica de extrato bruto diclorometânico das folhas de *Piper umbellatum* microencapsulado e livre padronizado em 4-nerolidilcatecol.** 2014.

IWATA, Satoshi *et al.* O fator derivado de leucemia de células T adultas (ATL) / tioredoxina humana previne a apoptose de células linfóides induzida pela depleção de L-cistina e glutatona: possível envolvimento da regulação redox mediada por tiol na apoptose causada pelo estado pró-oxidante. **The Journal of Immunology** , v. 158, n. 7, p. 3108-3117, 1997.

KWIECIEN, S.; JASNOS, K.; MAGIEROWSKI, M.; SLIWOWSKI, Z.; PAJDO, R.; BRZOZOWSKI, B.; MACH, T.; WOJCIK, D.; BRZOZOWSKI, T. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress-induced gastric injury. *J Physiol Pharmacol*, v. 65, n. 5, p. 613-622, 2014.

- KIRKMAN, Henry N .; GAETANI, Gian F. Catálise de mamíferos: uma enzima venerável com novos mistérios. **Tendências em ciências bioquímicas** , v. 32, n. 1, p. 44-50, 2007.
- KWIECIEN, S; BRZOWISK, T; KONTUREK, S.J. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa damage. **Physiol. Pharmacol.**, v. 53, p. 39-50, 2002.
- KUMMER, C.L; COELHO, T.C.R.B. Antiinflamatórios Não Esteróides Inibidores da Ciclooxygenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. **Rev Bras Anestesiol**, v.52, n.4, p.498-512, 2002.
- LAINÉ, L; TAKEUCHI, K; TARNAWSKI, A. Gastric Mucosal Defense and Cytoprotection: Bench to Bedside. **Gastroenterology**, v.135, n.1, p.41-60, 2008.
- Lau, J.Y., Sung, J., Hill, C., Henderson, C., Howden, C.W., Metz, D.C., 2011. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. **Digestion**. V. 84, p. 102-113.
- LEITE, A.C.R.M. **Efeitos antiinflamatórios e antinociceptivos do fitol, um ativador de NADPH oxidase, e tadalafil, um inibidor de 5-fosfodiesterase, em modelos experimentais**. 2010. 120f. Tese de Doutorado em Ciências Médicas da Universidade Federal do Ceará, 2010.
- Lemos M, Santin JR, Júnior LC, Niero R, Andrade SF. Gastroprotective activity of hydroalcoholic extract obtained from the leaves of *Brassica oleracea* var. *acephala* DC in different animal models. **J Ethnopharmacol**. 2011; v.138, n.2, p.:503-507.
- LIMA, C. A. H., et al. Natural *trans*-Crotonin: The Antiulcerogenic Effect of Another Diterpene Isolated from the Bark of *Croton cajucara* BENTH. **Biol. Pharm. Bull**, v. 25, n. 4, p. 452-456, 2002.
- LA CASA, C., et al. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, p. 45-53, 2000.
- LI, C.; ZHOU, H. The Role of Manganese Superoxide Dismutase in Inflammation Defense. **Enzyme Research**, vol. 2011, p. 01-06, 2011.
- MACHADO, D.S.P. **Estudo farmacológico dos extratos bruto e hidroalcoólico do gengibre amargo (*Zingiber zerumbet* L. Smith) da região amazônica para o encapsulamento funcional**. Tese do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia. Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.
- MATHESON, NR; WONG, PS; TRAVIS, J. Isolamento e propriedades da mieloperoxidase neutrofílica humana. **Bioquímica** , v. 20, n. 2, p. 325-330, 1981.

MACLENNAN, K.M.; DARLINGTON, C.L.; SMITH, P.F. The CNS effects of *Ginkgo biloba* extracts and ginkgolide B. **Progress in Neurobiology**, v. 67, p. 235-257, 2002.

MAFRA, D; ABDALLA, D.S.P; COZZOLINO, S.M.F. Peroxidação lipídica em pacientes com insuficiência renal crônica. **Rev. Nutr.**, v.12, n.3, p.205-212, 1999.

MARCONDES, HÉLCIO CASSEMIRO. **Avaliação das atividades de *Hortia brasiliana* vandex dc. Como anti-ulcerogênica gástrica, cicatrizante e anti-fúngica.** Dissertação do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro preto, 2012.

MATSUI, H.; MURATA, Y.; KOBAYASHI, F.; SHIBA, R.; MOMO, K.; KONDO, Y.; NAKAHARA, A.; MUTO, H. Diclofenac-induced gastric mucosal fluorescence in rats, **Dig. Dis. Sci.** v. 46, p.338–344, 2001.

MARTINS, D.S. **EFEITO DA *Cecropia pachystachya* NA INFLAMAÇÃO E NO ESTRESSE OXIDATIVO NA ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR NAPROXENO EM CAMUNDONGOS.** UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. FORTALEZA, 2017

MARTINS, J.L.R. **Mecanismos envolvidos na atividade gastroprotetora do extrato hexânico das folhas de *Celtisiguanaea* (jacq.) sargent (cannabaceae) e da fração aquosa do extrato hidroacetônico de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae).** Tese do programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2015.

MAYER, BÁRBARA. **MECANISMOS ENVOLVIDOS NAS AÇÕES ANTIÚLCERA E ANTI-SECRETORA ÁCIDA DOS EXTRATOS DA *Salviaofficinalis*L.**Dissertação do programa de Pós-graduação em Farmacologia Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2007.

McGINTY, D.; LETIZIA, C.S.; API, A.M. Fragrance material review on phytol. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 59-63, 2010

MELO, A.O. **Avaliação da atividade gastroprotetora da fucana livre e nanoencapsulada em lipossomas.** Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente. Universidade Federal de Pernambuco. Vitória de Santo Antão, 2013.

MENDES, R.T., *et al.*Inibição seletiva da ciclo-oxigenase-2: riscos e benefícios. **Rev Bras Reumatol**, v.52, n.5, p.767-782, 2012.

MENEGUETTI, DIONATAS ULISES DE OLIVEIRA., *et al.* **Plantas da Amazônia Brasileira com potencial LEISHMANICIDA in vitro.** 2015.

MINOZZO, BRUNO RODRIGO., *et al.* **AÇÃO GASTROPROTETORA DA FRAÇÃO METANÓLICA DAS CASCAS DE *Euphorbiaumbellata* (PAX) BRUYNS: ENVOLVIMENTO DE CICLOOXIGENASES, ÓXIDO NÍTRICO E SEU PAPEL ANTIOXIDANTE.** Dissertação do programa de pos graduação em ciências farmacêuticas. Universidade de Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa, 2015.

MION, MARIANA MAYER. **Investigação da atividade gastroprotetora de frações polissacarídicas da *Casearia sylvestris* em modelos de úlceras gástricas em ratas.** 2015.

MIRANDA, M.A. ***Solanum cernuum* Vell: estudo fitoquímico, avaliação das atividades gastroprotetora, antimicrobiana, citotóxica e obtenção do extrato seco por spray dryer.** Tese da Faculdade de ciências farmacêuticas de Ribeirão preto. Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2015.

MONACO, J.L; LAWRENCE, W.T. Acute wound healing an overview. **Clin Plastic Surg**, v.30, p. 1–12, 2003.

MADALOSSO, R. C. et al. Campomanesia lineatifolia Ruiz & Pav. as a gastroprotective agent. **Journal of ethnopharmacology**, v. 139, n. 3, p. 772-779, 2012.

MOTAWI, T.K.; ELGAWAD, H.M.A. SHAHIN, N.N. Gastroprotective effect of leptin in indomethacin-induced gastric injury. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 15, p. 405 – 412, 2008.

MURI EMF, SPOSITO MMM, METSAVAHT L. Antiinflamatórios não-esteroidais e sua farmacologia local. **ACTA FISIATR**, vol. 16, n.4, 186 – 190, 2009.

NESTEROVA, YU. V., et al. Antidepressant Activity of Diterpene Alkaloids of *Aconitum baicalense* Turcz. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**, v. 151, n. 4 p. 406-409, 2011.

OHARA, RIE. **Avaliação do efeito cicatrizante da infusão das folhas de *Terminalia catappa*. na lesão gástrica promovida pelo processo de isquemia e reperfusão em ratos.** Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada. Universidade estadual paulista. Botucatu, 2018.

Okabe S and Pfeiffer C. J. The acetic acid ulcer model: a procedure for chronic duodenal or gastric ulcer. **In: *Peptic ulcer***, edited by Pfeiffer CJ. Philadelphia: Lippincott, 13–20, 1971

Onasanwo S. A et al . Analgesic and anti-inflammatory properties of the leaf extracts of *Anacardium occidentale* in the laboratory rodents. **Niger. J. Physiol. Sci.** P.065 – 071, 2012.

OLIVEIRA et al. Estimativa da prevalência e da mortalidade por complicações da úlcera péptica, Brasil, 2008: uma proposta metodológica. **Epidemiologia Serviço em saúde, Brasília**, v.24, n.1, p. 145-154, 2015.

ONYANGO, A.N; BABA, N. New hypotheses on the pathways of formation of malondialdehyde and isofurans. **Free Radical Biology & Medicine**, v.49, p.1594–1600, 2010.

OSHINO, N., et al. The Role of H₂O₂ Generation in Perfused Rat Liver and the Reaction of Catalase Compound I and Hydrogen Donors. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 154, p. 117-131, 1973.

PAULA, MÁRCIO ANDRE. **Caracterização farmacognostica e atividade gastroprotetora do extrato aquoso das olhas de *Celtisiguanaea*(Jacq.) Sargent.** Dissertação do Programa de Pós-Graduação em ciências farmacêuticas. Universidade Federal de Goiás. Goiania, 2009.

PAZZINI, DALVA. **Estudo da indução de ulcera ástrica crônica e aguda: avaliação da atividade antiulcerogenica e antioxidante de *Maytenusilicifolia* (celastrácea).** Dissertação do Programa de Pós Graduação da Universidade do sagrado coração. Bauru, 2007.

PESSOA, D.L.R. **Atividade gastroprotetora da geopropolis de *Melipona fasciculata* Smith (TIÚBA).** Tese do programa de pós-graduação em biotecnologia da rede nordeste de biotecnologia. Universidade Federal do Maranhão. São Luis, 2016.

PERTINO M., SCHMEDA-HIRSCHMANN G., RODRÍGUEZ J. A., THEODULOZ C., J. Ethnopharmacol., 111, 553—559, 2007.

PINTO, L.A. **Aplicação do extrato da semente do mamão (*Caricapapaya* linn) na prevenção e no tratamento da úlcera gástrica induzida em animais.** Dissertação da Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, 2013.

POSSENTI, A., et al. Efeito de fermentado (utilizado como alimento funcional) sobre: a citoproteção gástrica, atividade anti-secretória e a motilidade intestinal em animais. **International Journal of Nutrology**, v.5, n.1, p. 35-41, 2012.

POTRICH, F.B. **Atividade gastroprotetora do extrato bruto hidroalcoólico da *Achilleamillem folium* L. : envolvimento do sistema antioxidante.** Dissertação do programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Departamento de Farmacologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009.

RAJAB, Mohamed S. et al. Antimycobacterial activity of (E)-phytol and derivatives: a preliminary structure-activity study. **Planta medica**, v. 64, n. 01, p. 2-4, 1998.

RIBEIRO, M.E; YOSHIDA, W.B. Lesões intestinais decorrentes de isquemia e reperfusão: Fisiopatologia e modelos experimentais. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 4, n. 2, p. 183-194, 2005.

RIBEIRO, Ana Roseli Silva et al. Efeito gastropotetor do extrato etanólico da entrecasca da *Caesalpinia pyramidalis* Tul. em ratos. 2013.

REPPETO, M.G.; LLESUY, S.F. Antioxidant proprieties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 35, p. 523-534, 2003

RIBEIRO, S.O., et al. Avaliação do efeito da alcachofra (*Cynarascolymus*) na ulcera gastrica. **Anais II SIMPAC**, v. 2, n.1,p. 65-70, 2010.

RONTANI, J.F.; VOLKMAN, J.K. Phytol degradation products as biogeochemical tracers in aquatic environments. **Organic Geochemistry**, v. 34, p. 1-35, 2003.

ROWE, Emma L.; WHITE, Nathaniel A. Reperfusion injury in the equine intestine. **Clinical techniques in equine practice**, v. 1, n. 3, p. 148-162, 2002.

SALAMA, S.M., et al. A Zinc Morpholine Complex Prevents hcl/Ethanol-Induced Gastric Ulcers in a Rat Model. **Scientific Reports**, v. 6, p.1-14, 2016.

SAIKIA, D.; PARIHAR, S.; CHANDA, D.; OJHA, S.; KUMAR, J.K.; CHANOTIYA, C.S.; SHANKER, K.; NEGI, A.S. Antitubercular potential of some semisynthetic analogues of phytol. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, p. 508-512, 2010.

SANDOR, K; HELYES, Z; ELEKES, K; SZOLCSANYI, J. Involvement of capsaicinsensitive afferents and the transient receptor potencial vanilloid 1 receptor in xylene-induced nocifensive behaviour and inflammation in the mouse. **Neurosc. Letters**, v. 405, p. 204-207, 2009.

SANTOS, M.M.P. **Atividade antinociceptivos e antioxidante do fitol em modelos *in vivo* e *in vitro***. Tese do programa de pós-graduação em produtos naturais e sintéticos bioativos. Universidade federal da Paraíba. João Pessoa, 2011.

SANTIN, José Roberto et al. Efeitos antiulcerosos de *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Asteraceae) (Marcela), uma planta de medicina popular, em diferentes modelos experimentais. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 2, p. 334-339, 2010.

SCHNEIDER, Roseleine Emilia Guevedo. Avaliação do Efeito Gastroprotetor da Cutícula Coelina Retirada do Ventrículo de *Gallus Gallus Domesticus* em Ratos. 2014.

SCHUBERT, M.L; PEURA, D.A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v.134, n.7, p.1842–1860, 2008.

SEPÚLVEDA B., ASTUDILLO L., RODRÍGUEZ J. A., YÁÑEZ T., THEODULOZ C., SCHMEDA HIRSCHMANN G., *Pharmacol. Res.*, 52, 429—437, 2005.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Anal Biochem**, v. 25, n. 1, p. 192-205, Oct 1968.

SILVA, L.A. **Atividade antioxidante e antimicrobiana do fracionamento bioguiado do extrato etanólico do caule e atividade leishmanicida e citotóxica do óleo essencial das folhas da espécie *Banisteriopsisoxyclada*(a. juss.) b. gates**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2017.

SILVA, L.M. **MECANISMOS DE AÇÃO ENVOLVIDOS NO EFEITO GASTROPROTETOR DO EXTRATO ETANÓLICO de *Arctiumlappa* L. EM ÚLCERAS GÁSTRICAS CRÔNICAS INDUZIDAS POR ÁCIDO ACÉTICO EM RATOS**. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Universidade Federal do Paraná. Paraná, 2010.

SILVERIO, M.S., et al. Propriedades farmacológicas do extrato etanólico de *Eremanthuserythropappus* (DC.) McLeisch (Asteraceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, n.3, p.430-435, 2008.

SIPPONEN, P; MAAROOS, H.I. Chronic gastrites. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.50, p.657–667, 2015.

SIRAKI, A.G., et al. Endogenous and endobiotic induced reactive oxygen species formation by isolated hepatocytes. **Free Radical Biology & Medicine**, Vol. 32, No. 1, pp. 2–10, 2002

SOUSA, Ana Kely Araújo de et al. Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso das folhas de *Psidium guineense* Swartz. 2016.

SOUSA, GLAUBERT AIRES. **Avaliação da atividade gastroprotetora dos extratos etanólicos da casca do caule e das raízes de *Pilosocereusgounellei* (A. Weber ex K. Schum.) Bly. ExRowl (Cactaceae) em modelos animais**. Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia de Produtos Naturais do Núcleo de Pesquisa em Plantas Mediciniais. Universidade Federal do Piauí. Teresina, 2013.

LINCON BORDIGNON SOMENSI. CICATRIZANTE, AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA E.; DAS, GÁSTRICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO OBTIDO..

SHEFFLER, Douglas J .; ROTH, Bryan L. Salvinorin R: O alucinógeno 'menta mágica' encontra um alvo molecular no receptor opióide kappa. **Tendências em ciências farmacológicas** , v. 24, n. 3, p. 107-109, 2003.

SHIRIN, Haim et al. Efeitos antiproliferativos da S-alilmercaptocisteína em células de câncer de cólon quando testadas isoladamente ou em combinação com sulfeto de sulindaco. **Pesquisa sobre o câncer** , v. 61, n. 2, p. 725-731, 2001.

SCHUBERT, M.L. Gastric secretion. **Current Opinion Gastroenterology**, v.30, n.6, p. 578-582, 2015.

SCANDALIOS, JG Estresse oxidativo: percepção molecular e transdução de sinais desencadeando defesas de genes antioxidantes. **Revista Brasileira de Pesquisa Médica e Biológica** , v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

SCHALLEMBERGER, Janaína Barden; PLETSCHE, Marilei Uecker. Riscos do Uso Indiscriminado de Anti-inflamatórios Não-Esteroidais (AINES). **Salão do Conhecimento**, v. 2, n. 01, 2014

- SOUZA, A.E.S, et al. Pharmacological mechanisms underlying the anti-ulcer activity of methanol extract and canthin-6-one of *Simaba ferruginea* A. St-Hil. in animal models. **J Ethnopharmacol**, v.134, p. 630–636, 2011.
- STRONCEK, J.D; BELL, N; REICHERT, W.M. Instructional PowerPoint presentations for cutaneous wound healing and tissue response to sutures. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, p. 1231-1237, 2008.
- SZABO, S; NAGY, L; PLEBANI, M. Glutathione, protein sulkydryls and cysteine proteases in gastric mucosal injury and protection. **Clinica Chimica**, v.206, p.95-105, 1992.
- SZABO, S; TRIER, J.S; FRANKEL, P.W . Sulfhydryl Compounds May Mediate Gastric Cytoprotection. **Science, New Series**, v. 214, n. 4517, p. 200-202, 1981.
- TANIMOTO, ALEXANDRE. **Avaliação gastroprotetora da epicatequina e verificação de seus mecanismos de ação**. Monografia apresentada ao Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista Julio De Mesquita Filho. Botucatu, 2010.
- Takeuchi K, Matsumoto J, Ueshima K, Okabe S. Role of capsaicin-sensitive primary afferent neurons in alkaline secretory responses to luminal acid in the rat duodenum. **Gastroenterology** 1991; 101: 954-961.
- TAKEUCHI, K; AIHARA, E; SASAKI, Y; NOMURA, Y; ISE, F. Involvement of cyclooxygenase-1, prostaglandin e2 and ep1 receptors in acid-induced hco₃⁻ secretion in stomach. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 57, n. 4, p. 661.676, 2006.
- LAINE, Loren; TAKEUCHI, Koji; TARNAWSKI, Andrzej. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 41-60, 2008.
- TOSTIVINT, H., et al. New insight into the molecular evolution of the somatostatinFamily. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 286, p. 5–17, 2008.
- VAN DEN BRINK, D. M; WANDERS, R. J. A. Phytanic acid: production from phytol, its breakdown and role in human disease. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 63, p. 1752–1765, 2006.
- VANNUCCHI, H., MOREIRA, E. A., DA CUNHA, D. F., JUNQUEIRA-FRANCO, M. V., BERNARDES, M. M., & JORDÃO-JR, A. A. Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante. **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 31, n. 1, p. 31-44, 1998.
- VAN DEN BRINK, D.M., *et al.* Identification of fatty aldehyde dehydrogenase in the breakdown of phytol to phytanic acid. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.82, p.33–37, 2004.
- VEGA, D.M. **Caracterização de fitol e verificação de uma segunda via de biossíntese de filoquinona e tocoferol nos estágios intraeritrocíticos de *plasmodium falciparum***. Dissertação apresentada ao Departamento de

Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2013.

VUORELA P., LEINONEN M., SAIKKU P., TAMMELA P., RAUHA J. P., WENBERG T., VUORELA H., *Curr. Med. Chem.*, 11, 1375—1389, 2004.

VOGT, W. Oxidation of methionyl residues in proteins: tools, targets and reversal. **Free Radical Biology e medicine**, v.18, n.1, p.93-105, 1995.

UCHIYAMA, Mitsuru; MIHARA, Midori. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Analytical biochemistry**, v. 86, n. 1, p. 271-278, 1978.

XAVIER, F. G. et al. Histamina, serotonina e seus antagonistas. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 217 – 224, 2011.

WALLACE, J.L. How do NSAIDs cause ulcer disease?. **BaillieÁre's Clinical Gastroenterology**, v. 14, n. 1, p. 147-159, 2000.

WALLACE, J.L; MA, L. Inflammatory Mediators in Gastrointestinal Defense and Injury. **ExpBiolMed**, v.226, n.11, p.1003–1015, 2001.

YAO, X; FORTE, J.G. Cell biology of acid secretion byThe parietal cell.**Annu. Rev. Physiol**, v.65, p.103-131, 2003.

YUAN, Y., et al. Peptic ulcer disease today. **Gastroenterology &hepatology**, V.3, n.2, 2005

