



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MORFOFUNCIONAIS

ANTONIONE SANTOS BEZERRA PINTO

**EFEITO GASTROPROTETOR DA GOMA GUAR (*Cyamopsis tetragonolobus*) E
GALACTOMANANA DA FAVA DANTA (*Dimorphandra gardneriana*) NA GASTRITE
EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ÁLCOOL**

FORTALEZA

2019

ANTONIONE SANTOS BEZERRA PINTO

EFEITO GASTROPROTETOR DA GOMA GUAR (*Cyamopsis tetragonolobus*) E
GALACTOMANANA DA FAVA DANTA (*Dimorphandra gardneriana*) NA GASTRITE
EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ÁLCOOL

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Morfofuncionais da Faculdade de Medicina do Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito final para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Morfofuncionais.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P726e Pinto, Antonione Santos Bezerra.
Efeito gastroprotetor da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) na gastrite experimental induzida por álcool / Antonione Santos Bezerra Pinto. – 2019.
115 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais, Fortaleza, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares.

1. Gastroproteção. 2. Via NO/KATP. 3. Polissacarídeos. I. Título.

CDD 611

ANTONIONE SANTOS BEZERRA PINTO

EFEITO GASTROPROTETOR DA GOMA GUAR (*Cyamopsis tetragonolobus*) E
GALACTOMANANA DA FAVA DANTA (*Dimorphandra gardneriana*) NA GASTRITE
EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ÁLCOOL

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências Morfofuncionais da Faculdade de Medicina do Departamento de Morfologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito final para obtenção do grau de Doutor em Ciências Morfofuncionais.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares (Orientador)

Universidade Federal do Ceará – UFC

Prof. Dr. André Luiz dos Reis Barbosa

Universidade Federal do Piauí - UFPI

Prof^ª. Dra Antoniella Souza Gomes Duarte

Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof^ª. Dra Pablyana Leila Rodrigues da Cunha

Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Carlos Eduardo da Silva Monteiro

Universidade Federal do Ceará - UFC

À Deus, por sempre estar comigo.

*Para minha família Moara, Heitor e José,
vocês são o melhor presente e o objetivo da
minha vida. O que realizo é sempre por e para
vocês.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por permitir a conclusão deste objetivo.

Ao Professor Dr. Pedro Marcos Gomes Soares, por ter me aceito como orientando e ter me dado mais uma oportunidade.

Ao Professor Dr. Jand-venes e à equipe LAFIDG, por terem me ajudado nos experimentos. Em especial aos colegas Luan Kelves, Kerolayne de Melo, Patrícia e Carlos, sem vocês este trabalho não existiria.

Aos professores Doutores Carlos Monteiro e André Luiz pelas contribuições e correções durante o exame de qualificação do doutorado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Morfofuncionais (PCMF), agradeço pelo conhecimento transmitido.

Aos técnicos do laboratório NEMPI, pelos serviços prestados na confecção das lâminas.

A Universidade Federal do Ceará pela oportunidade em aprender e realizar um curso de excelência.

Ao laboratório LEFFAG por ter aberto as portas para me dar mais uma chance.

A professora Pablyana Leila pela realização dos estudos iniciais dos polissacrídeos estudados no presente trabalho.

Aos meus amigos e colegas da pós-graduação em especial a Patrícia Teles, Fátima Regina, Eduardo Azoubel e Theides Batista.

Ao meu colega André Luca pela brilhante contribuição ao trabalho.

A FUNCAP, pelo apoio financeiro concedido para o desenvolvimento do projeto de Doutorado.

Aos meus Tios Pedro Ricardo e Elcyana Bezerra por sempre me receberem tão bem e de forma calorosa no seu lar. Aos meus primos Yuri e Pedrinho pelos momentos de descontração.

“É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar. É melhor tentar, ainda em vão, que sentar-se fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar que em dias tristes em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver. ” (MARTIN LUTHER KING)

RESUMO

Patologias do trato gastrointestinal, ocasionadas pelo uso abusivo de álcool levam a uma reação inflamatória resultando em lesões como a gastrite e a úlcera péptica. Produtos naturais são usados milenarmente pela medicina popular, sendo os polissacarídeos obtidos através do endosperma de sementes leguminosas, ricas em compostos bioativos e com potencial efeito na saúde alvo de estudos contemporâneos. Extratos da *Cyamopsis tetragonolobus* (GG) e *Dimorphandra gardneriana* (GFD) através de seus compostos ativos apresentou efeitos promissores contra a inflamação. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos dos polissacarídeos da GG e GFD na defesa da mucosa gástrica em modelo experimental de lesão gástrica por etanol 50% em camundongos e avaliar o possível papel da via $H_2S/NO/K_{ATP}$. Camundongos swiss foram pré-tratados por gavagem, com salina e os polissacarídeos da GG e GFD nas doses de 10, 30 ou 90mg/kg, v.o, meia hora antes da administração por gavagem de etanol 50% (0,5ml/25g). Depois de 1h, os camundongos foram eutanasiados e os estômagos abertos para determinação da área da lesão usando planimetria computadorizada. Além disso, fragmentos de tecidos foram removidos para análise microscópica e de parâmetros de estresse oxidativo, hemoglobina, nitrito e muco gástrico. Os outros grupos foram tratados com L-NAME (10mg/kg, i.p), propargilglicina (50mg/kg, i.p), glibenclamida (10mg/kg, i.p) ou salina. Após 30min os camundongos receberam GG e GFD (30mg/kg – melhor dose, v.o) e após 30min o etanol 50% (0,5ml/25g, v.o), com a eutanásia ocorrendo 1h depois. Fragmentos de tecidos foram removidos para análise microscópica e dosagem de GSH, MDA, MPO e nitrito. A GG e GFD apresentaram efeito gastroprotetor contra a lesão induzida por etanol, observado tanto em nível macroscópico como microscópico. Tais efeitos protetores foram evidenciados pela capacidade das mesmas de atuar elevando os níveis de GSH, SOD e secreção de muco gástrico. Além de diminuir os níveis de MDA, MPO, nitrito e hemoglobina de amostras gástricas de animais submetidos à lesão por etanol. Sugere-se que os efeitos gastroprotetores de GG e GFD estejam relacionados com a ativação da via NO/K_{ATP} , uma vez que na presença de antagonistas tal efeito protetor foi prejudicado.

Palavras-chave: Goma Guar. Galactomanana. Gastroproteção. Etanol. Via NO/K_{ATP} .

ABSTRACT

Gastrointestinal pathologies caused by abusive use of alcohol lead to an inflammatory reaction, which in turn results in lesions such as gastritis and peptic ulcer. Natural products have been used for thousands of years by the popular medicine. For instance, one can cite the polysaccharides obtained from the endosperm of leguminous seeds, which are rich in bio-active compounds with potential effects on the health conditions investigated by modern studies. Extracts of *Cyamopsis tetragonolobus* (GG) and *Dimorphandra gardneriana* (GFD), through their active compounds, have promising effects against inflammation. The objective of this work was to assess the effects of polysaccharides from GG and GFD on the gastric mucosal defence by using an experimental animal model of gastric lesion induced by 50% ethanol and to assess the possible role played by H₂S and NO/K_{ATP} pathway. Swiss mice were pre-treated by gavage with saline and polysaccharides GG and GFD at dosages of 10, 30 or 90 mg/kg orally 30 minutes before administration of 50% ethanol (0.5 ml/25g). After 1 hour, the mice were euthanised and their stomach open to measure the lesion area by using computed planimetry. In addition, tissue fragments were removed for microscopic analysis and assessment of parameters of oxidative stress, haemoglobins, nitrite levels and gastric mucus. The other groups of mice were treated with L-NAME (10 mg/kg, i.p.), propargylglycine (50 mg/kg, i.p.), glibenclamide (10 mg/kg, i.p.) or saline. After 30 minutes, the mice were given GG and GFD (30 mg/kg – the best dose, p.o.) and after further 30 minutes they were given 50% ethanol (0.5 ml/25 mg, p.o.). The animals were euthanised after 1 hour and tissue. Fragments removed for microscopic analysis and determination of the dosage of GSH, MDA, MPO and nitrite. GG and GFD have a gastro-protective effect against ethanol-induced lesions, which is observed macroscopically and microscopically. Evidence of these protective effects was based on their capacity to increase the levels of GSH and SOD as well as the secretion of gastric mucus. In addition, GG and GFD were found to decrease the levels of MDA, MPO, nitrite and haemoglobin of the gastric samples from animals submitted to ethanol lesion. It is suggested that gastro-protective effects of GG and GFD are related to the activation of the NO/K_{ATP} pathway as the presence of antagonists inhibits such effects.

Keywords: Guar gum. Galactomannan. Gastro-protection. Ethanol. NO/K_{ATP} pathway.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mecanismos subjacentes ao etanol induzindo a carcinogênese e a inflamação no estômago.....	21
Figura 2 – Formação e efeito gastroprotetor do óxido nítrico.....	24
Figura 3 – Funções celulares e papel metabólico dos canais de K_{ATP}	26
Figura 4 – Canais de potássio sensíveis ao ATP (K_{ATP}) e seus efeitos gastroprotetores	27
Figura 5 – Efeitos do contraste dos inibidores da bomba de prótons na mucosa gástrica normal e nas células cancerosas gástricas	29
Figura 6 – <i>Cyamopsis tetragonolobus</i> (A frutos) e <i>Dimorphandra gardneriana</i> (B árvore e frutos)	34
Figura 7 – Amostras de GFD (A) e GG (B) não purificadas e purificadas. Após purificação ambas as gomas ficam mais claras, notadamente mais visível para GG.....	36
Figura 8 – Organograma do método experimental.....	39
Figura 9 – Obtenção e caracterização dos polissacarídeos da goma guar (<i>Cyamopsis tetragonolobus</i>) e galactomanana da fava danta (<i>Dimorphandra gardneriana</i>)	41
Figura 10 – Extração da GFD.....	42
Figura 11 – Efeito Gastroprotetor da GG e GFD na Lesão Gástrica Induzida por Etanol: escolha da dose	48
Figura 12 – Papel do óxido nítrico no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos	50
Figura 13 – Papel dos canais de potássio ATP-dependentes no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por álcool em camundongos	52
Figura 14 – Avaliação dos níveis de muco gástrico	55
Figura 15 – GFD reduz as lesões gástricas induzidas por etanol	58
Figura 16 – Goma Guar reduz as lesões gástricas induzidas por etanol	59
Figura 17 – Análise histopatológica das lesões gástricas induzidas por etanol e os resultados quantitativos (scores) da análise microscópica para GFD.....	61
Figura 18 – Análise histopatológica das lesões gástricas induzidas por etanol e os resultados quantitativos (scores) da análise microscópica para GG.....	62
Figura 19 – Determinação dos níveis de glutathione presentes na mucosa de camundongos tratados com etanol e/ou Goma Guar, GFD e Omeprazol.....	64
Figura 20 – Efeito da Goma Guar e GFD em níveis de malondialdeído (MDA) em camundongos swiss com lesão gástrica induzida por etanol.....	65

Figura 21 – Influência da Goma Guar e GFD sobre a atividade da enzima superóxido dismutase no modelo de lesão gástrica induzida por etanol	66
Figura 22 – Determinação dos níveis de hemoglobina presentes na mucosa de camundongos tratados com álcool e/ou Goma Guar e GFD	66
Figura 23 – Efeito da GG e GFD no ensaio de atividade de MPO em lesões gástricas induzidas por etanol 50%	68
Figura 24 – Efeito do pré-tratamento com Goma Guar e GFD na gastroproteção por avaliação dos níveis de muco nas lesões gástricas induzidas por etanol 50%	69
Figura 25 – Efeito da Goma Guar e GFD sobre a quantidade de Nitrito no modelo de lesão gástrica induzida por etanol	70
Figura 26 – Avaliação macroscópica na inibição da formação de sulfeto de hidrogênio endógeno	71
Figura 27 – Avaliação macroscópica na inibição da NOS	72
Figura 28 – Avaliação macroscópica na inibição do antagonista dos canais de potássio	73
Figura 29 – Análise histopatológica das lesões gástricas induzidas por etanol em animais tratados com L-NAME, glibenclamida, GFD e resultados quantitativos (scores) da análise microscópica	76
Figura 30 – Análise histopatológica das lesões gástricas induzidas por etanol em animais tratados com L-NAME, glibenclamida, GG e resultados quantitativos (scores) da análise microscópica	78
Figura 31 – Determinação dos níveis de glutathiona presentes na mucosa de camundongos tratados com L-NAME e Glibenclamida	80
Figura 32 – A avaliação da peroxidação de lipídios por espécies reativas de oxigênio em camundongos tratados com L-NAME e Glibenclamida	82
Figura 33 – A avaliação da atividade de Mieloperoxidase (MPO) em camundongos tratados com L-NAME e Glibenclamida	84
Figura 34 – A avaliação dos níveis de nitrito em camundongos tratados com L-NAME e Glibenclamida	86
Figura 35 – Modelo gráfico hipotético para os efeitos protetores da GG e GFD na mucosa gástrica em lesão induzida por etanol 50%	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Retrospectiva de estudos que utilizaram produtos naturais e seus efeitos em modelos de gastrite induzida	31
Tabela 2 – Publicações que utilizaram polissacarídeos no tratamento de gastrite experimental induzida por etanol em 2018/2019	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA	Ensaio imunoadsorvente ligado à enzima (<i>EnzymeLinkedImmunoabsorbent Assay</i>)
EPM	Erro padrão da media
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ET	Etanol
GSH	Glutathiona
GG	Goma Guar
GFD	Galactomanana da Fava Danta
GLI	Glibenclamida
K^+_{ATP}	Canais de potássio ATP-dependentes
i.p.	Intraperitoneal
L-NAME	N^G -nitro-L-arginina metil éster
MDA	Malondialdeído
MPO	Mieloperoxidase
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintase
OMP	Omeprazol
OMEP	Omeprazol
p	Nível de Significância
PAG	Propargilglicina
SOD	Enzima superóxido dismutase
UFC	Unidade formadora de colônia
v.o.	Via oral
v.p.	Via intraperitoneal

LISTA DE SÍMBOLOS

\$	Dólar
CH ₂ THF	5,10-metileno tetraidrofolato
g	Gramma
h	Hora
H ₂ S	Sulfeto de Hidrogênio
K ⁺	Íon Potássio
kg	Quilograma
log	Logaritmo
M	Molar
mg	Miligramma
min	Minuto
mL	Mililitro
mm ³	Milímetro cúbico
mmol	Milimolar
Na ⁺	Íon Sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanômetro
nmol	Nanomolar
NP-SH	Grupo sulfidrílico não-protéico
°C	Graus Celsius
pg	Picogramma
pH	Potencial hidrogeniônico
rpm	Rotação por minute
UMPO	Unidade de Mieloperoxidase
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
μl	Microlitro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 Etanol e a Lesão Gástrica.....	20
2.2 Mecanismos de proteção da mucosa gástrica	22
2.2.1 Óxido Nítrico e a Proteção Gástrica	22
2.2.2 Canais de Potássio Sensíveis ao ATP (K_{ATP}) e a Proteção Gástrica	25
2.3 Implicações atuais sobre o tratamento da gastrite.....	27
2.4 Produtos naturais e a suas aplicações na gastrite experimental induzida por etanol	30
2.5 Galactomanana da Fava Danta (<i>Dimorphandra gardneriana</i>) e sua aplicabilidade biológica.....	34
2.6 Goma Guar (<i>Cyamopsis tetragonolobus</i>) e sua aplicabilidade biológica.....	35
3 JUSTIFICATIVA	37
4 OBJETIVOS	38
4.1 Objetivo Geral.....	38
4.2 Objetivos Específicos.....	38
5 MATERIAL E MÉTODOS	39
5.1 Organograma do Método Experimental	39
5.2 Animais	40
5.3 Caracterização e purificação dos polissacarídeos da goma guar (<i>Cyamopsis tetragonolobus</i>) e galactomanana da fava danta (<i>Dimorphandra gardneriana</i>) para aplicação biológica.....	40
5.4 Aparelhos e instrumentos laboratoriais	43
5.5 Fármacos utilizados no Experimento.....	44
5.6 Soluções	44
5.7 Corantes	46

5.8 Efeito Gastroprotetor da goma guar (<i>Cyamopsis tetragonolobus</i>) e galactomanana da fava danta (<i>Dimorphandra gardneriana</i>) na Lesão Gástrica Induzida por Etanol: escolha da dose	46
5.9 Papel do sulfeto de hidrogênio (H ₂ S) no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos	49
5.10 Papel do óxido nítrico (NO) no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos	49
5.11 Papel dos canais de potássio ATP-dependentes no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos.....	51
5.12 Avaliação histopatológica da mucosa gástrica.....	53
5.13 Análise da concentração de Glutathione.....	53
5.14 Avaliação das concentrações de Malondialdeído (MDA)	53
5.15 Atividade de Mieloperoxidase (MPO).....	54
5.16 Avaliação dos níveis de muco gástrico	54
5.17 Determinação da concentração de hemoglobina (Hb) na mucosa gástrica dos camundongos	55
5.18 Dosagem de nitrito na amostra de estômago após lesão induzida por etanol em camundongos	56
5.19 Papel da Superóxido Dismutase (SOD) no efeito antioxidante e gastroprotetor da Goma Guar e GFD em modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos.....	56
5.20 Análise estatística	57
6 RESULTADOS	58
6.1 Efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos swiss: escolha da dose	58
6.2 Avaliação histopatológica da mucosa gástrica de camundongos tratados com Goma Guar, GFD e/ou etanol.....	60
6.3 Determinação dos níveis de glutathione (GSH) na mucosa gástrica de camundongos pré-tratados com Goma Guar e GFD no curso da lesão gástrica induzida por etanol	63

6.4 Determinação da concentração de malondialdeído (MDA) na mucosa gástrica de camundongos pré-tratados com Goma Guar e GFD no curso da lesão gástrica induzida por etanol.....	64
6.5 Influência da Goma Guar e GFD sobre a atividade da enzima superóxido dismutase no modelo de lesão gástrica induzida por etanol	65
6.6 Determinação dos níveis de hemoglobina na mucosa gástrica de camundongos tratados com Goma Guar, GFD e/ou etanol	66
6.7 Avaliação da atividade da Mieloperoxidase (MPO) no efeito gastroprotetor da Goma e GFD em modelo de lesão gástrica induzida por etanol	67
6.8 Avaliação dos Níveis de Muco Gástrico.....	68
6.9 Quantificação de nitrito no efeito gastroprotetor da Goma Guar e GFD.....	69
6.10 Determinação da via de sinalização relacionada ao efeito gastroprotetor da Goma Guar e GFD:.....	70
6.11 Avaliação histopatológica da mucosa gástrica de camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida:	74
6.12 Determinação dos níveis de glutathiona (GSH) na mucosa gástrica de camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida:	79
6.13 Determinação da concentração de malondialdeído (MDA) na mucosa gástrica de camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida.....	80
6.14 Avaliação da atividade da Mieloperoxidase (MPO) na mucosa gástrica de camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida:	82
6.15 Quantificação de nitrito no efeito gastroprotetor da Goma Guar e GFD na mucosa gástrica de camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida	85
7 DISCUSSÃO	87
8 CONCLUSÕES.....	97
REFERÊNCIAS	98
ANEXOS	115
ANEXO A – CADASTRO DA PESQUISA	115

1 INTRODUÇÃO

As patologias do trato gastrointestinal, associadas ao uso abusivo de etanol apresentam um grande papel na gastroenterologia clínica. Estímulos agressivos gerados por essa substância levam a uma reação inflamatória induzida por vários mediadores como citocinas que são liberadas por células do epitélio e da lâmina própria, resultando assim em lesões como a gastrite e a úlcera péptica (WALLACE; MA, 2001).

A ingestão contínua de etanol reduzindo a defesa da mucosa gástrica, resultando no desequilíbrio entre a ação produzida pelos agentes agressores endógenos como, por exemplo, o ácido clorídrico e a pepsina e a capacidade da mucosa gástrica em resistir à agressão através dos seus mecanismos defensivos como produção de muco e bicarbonato, síntese de prostaglandinas e aumento do fluxo sanguíneo (KONTUREK *et al.*, 1998).

Atualmente, os medicamentos mais comuns usados no tratamento das lesões gástricas são os inibidores da bomba de prótons e os antagonistas do receptor de histamina H₂, entretanto essas drogas são associadas com recorrência, após a interrupção do tratamento, com os efeitos colaterais indesejáveis. Deste modo, o tratamento de lesões gástricas ainda é um dos principais desafios e o desenvolvimento de agentes terapêuticos eficazes que sejam menos tóxicos e de baixo custo são imprescindíveis para superar estas desvantagens associadas com as opções de tratamento convencionais (SOUZA *et al.*, 2016).

Por isso, ao decorrer dos anos, vários estudos com indução de lesões gástricas por ingestão de etanol são realizados para uma melhor previsão de qual tratamento se torna o mais eficaz. E dentre os efeitos clínicos causados pela gastrite induzida, podem-se encontrar áreas de lesões gástricas ulcerativas hemorrágicas; estresse oxidativo, acompanhado de danos nos componentes celulares na parede gástrica; e alteração no sistema do epitélio gástrico, assim, refletindo necrose hemorrágica e colapso da mucosa gástrica com perda de células epiteliais (BYEON *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2017)

Produtos naturais são usados milenarmente pela medicina popular com o intuito de tratar diversas patologias (YANG *et al.*, 2014). E eram empregados pelos pacientes como alternativa complementar aos medicamentos sintéticos. O uso das plantas medicinais foi disseminado principalmente pela cultura indígena e o Brasil sendo um país rico em diversidade, cujo território possui diversos biomas, pode fornecer uma grande variedade de plantas com potencial terapêutico (O'SULLIVAN *et al.*, 2010).

A Goma Guar é um polissacarídeo altamente viscoso derivado do endosperma da semente da planta *Cyamopsis tetragonolobus*. É predominantemente composto por um

galactomanano com uma longa cadeia central de resíduos de manose, unidos por ligações glicosídicas e resíduos de galactose ligadas aos lados do núcleo central de manana. Essa goma foi purificada por quatro métodos diferentes, a fim de reduzir as impurezas, especialmente os resíduos proteicos (CUNHA; PAULA; FEITOSA, 2007). Utilizando um modelo de osteoartrite experimental em ratos foi demonstrado que a injeção intra-articular da goma guar purificada forneceu analgesia (CASTRO, 2006).

A galactomanana da fava danta (GFD) obtida a partir da semente de *Dimorphandra gardneriana*, planta usada por suas propriedades comercialmente favoráveis na indústria biomédica e farmacêutica demonstrou um potencial para aplicabilidade biológica (CUNHA *et al.*, 2009). Porém, ainda não há nenhum estudo que relate a utilização dessa goma de galactomanana em modelos experimentais de gastrite. Baseado nessas evidências científicas, de maneira inédita, o presente trabalho objetivou estudar os efeitos dos polissacarídeos Goma Guar e GFD em modelo de lesão gástrica induzida por etanol.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etanol e a Lesão Gástrica

O etanol é a substância mais comumente consumida no mundo abrangendo pessoas de todas as faixas etárias, sendo o uso excessivo aumentado nas últimas décadas, constituindo um problema global que causa muitos efeitos patológicos e uma carga significativa de assistência médica, estabelecendo um problema de saúde pública (ENGEN *et al.*, 2015; KATZUNG, 2005; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Estima-se que o abuso de etanol representa o terceiro maior fator de risco para doenças e incapacidades do mundo, constituindo um fator causal de sessenta tipos de doenças e lesões e é uma causa simultânea de pelo menos outras 200 pessoas (ROCCO *et al.*, 2014). Dentre as sequelas estão doenças hepáticas, cardiovasculares e do trato gastrintestinal, como a gastrite (PIANO, 2017; ROCCO *et al.*, 2014; ROSENKRANZ, 2003)

Na gastrite relacionada ao etilismo, o etanol afeta a estrutura e função de vários elementos do trato gastrintestinal e seu consumo nocivo resulta em 2,5 milhões de mortes a cada ano e representa 9% das mortes entre os jovens com idade entre 15 e 29 anos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

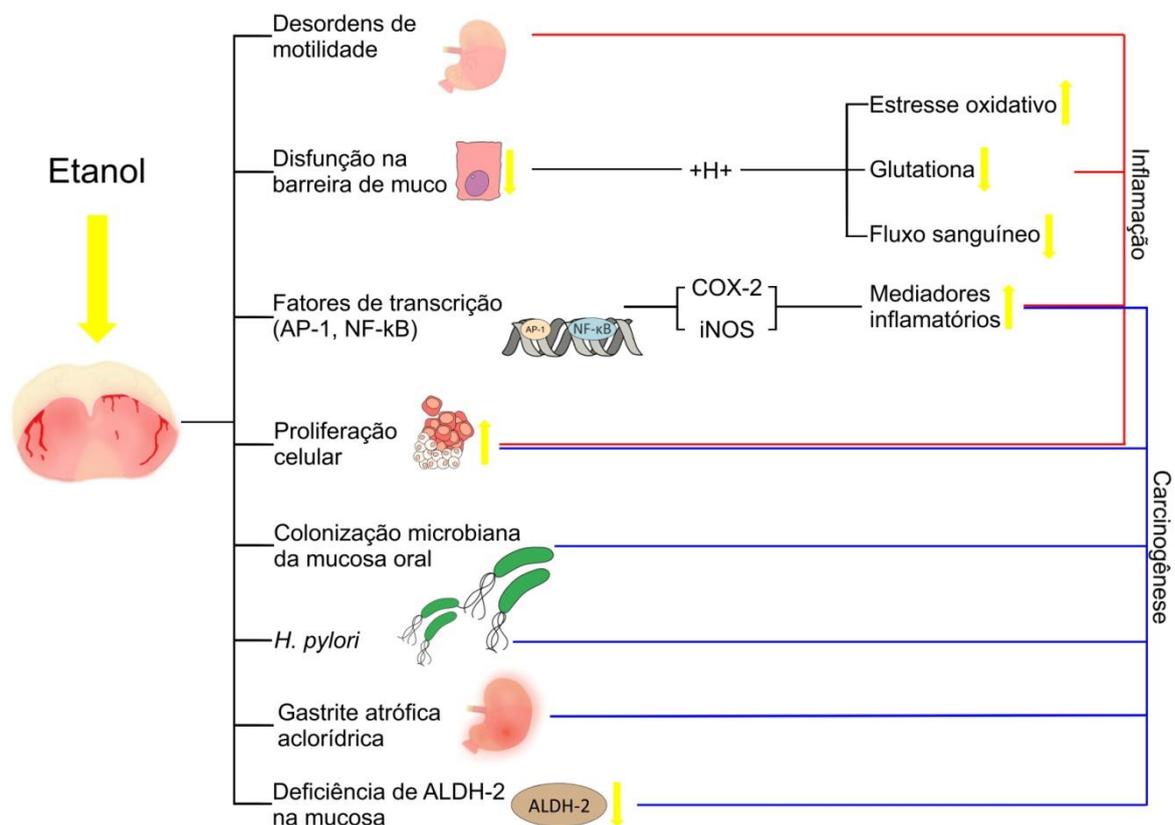
No entanto, a relação com a mortalidade é controversa, uma vez que existem associações consistentes entre consumo moderado ou ocasional e uma menor mortalidade. Estudos recentes sugerem, inclusive, pouco ou algum benefício à saúde pelo etanol, embora necessite de mais estudos observacionais que esclareça essa possível influência positiva do etanol (KEYES *et al.*, 2019).

Os efeitos do etanol no trato gastrointestinal são bastante diversificados. Estudos destacam a importância de mudanças na microbiota intestinal em distúrbios relacionados ao etanol. Alterações induzidas pelo etanol na composição da microbiota e na função metabólica do Trato Gastrintestinal (TGI) podem contribuir para a ligação bem estabelecida entre estresse oxidativo induzido por etanol, hiperpermeabilidade intestinal a produtos bacterianos luminiais e o desenvolvimento subsequente de doença hepática alcoólica, bem como outras doenças. Além disso, dados clínicos e pré-clínicos sugerem que os distúrbios relacionados ao etanol estão associados a alterações quantitativas e qualitativas na microbiota intestinal e podem estar associados ao aumento da inflamação do TGI, hiperpermeabilidade intestinal resultando em toxicidade, inflamação sistêmica e dano tecidual de órgãos (ENGEN *et al.*, 2015).

No estômago, o etanol promove rapidamente reação inflamatória como a formação de úlceras formadas em consequência da liberação de mediadores inflamatórios que reduzem o fluxo sanguíneo, induzem vasoconstrição, isquemia e morte celular, aumentando a permeabilidade vascular, influenciando no aparecimento de hemorragias e ulcerações (SANTOS; RAO, 2001).

O etanol e seus subprodutos geram Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) suprimindo a expressão de enzimas antioxidantes e citoprotetoras. Além de exercer efeitos genotóxicos danificando diretamente o DNA, o ROS pode ativar moléculas sinalizadoras envolvidas na inflamação, metástase e angiogênese. O consumo exagerado de etanol induz deficiência de folato, o que pode resultar em perfis aberrantes de metilação do DNA, influenciando a expressão gênica relacionada ao câncer, como mostrado na Figura 1 (NA; LEE, 2017). Recentemente, foi elucidado que o tratamento com etanol pode causar danos no DNA celular, ativar a caspase-1 e promover a geração e liberação de IL-1 β e IL-18. O etanol poderia induzir a piroptose (LI *et al.*, 2018).

Figura 1 – Mecanismos subjacentes ao etanol induzindo a carcinogênese e a inflamação no estômago



Fonte: Elaborado pelo autor.

O etanol atua como um agente pró-inflamatório, ativando diversos fatores de transcrição e causando indução do mRNA da COX-2 e indução da iNOS. E promove a ativação dos dois maiores fatores de transcrição das células eucarióticas (AP-1 e NF- κ B) os quais induzem a formação de COX-2 e está relacionado também à fosforilação da MAPK p38 responsável por mudanças na transcrição de genes relacionados à inflamação (LEE *et al.*, 2005). Alguns produtos do metabolismo do ácido araquidônico também têm sido implicados na patogênese da injúria gástrica causada por etanol (SAMONINA *et al.*, 2004).

Como consequência dos danos aos microvasos, o etanol promove a liberação de mediadores inflamatórios e vasoconstrição de artérias na submucosa, podendo resultar em isquemia, além de promover também, a liberação de endotelina e degranulação de mastócitos. Foi verificado que o etanol, de maneira crônica, causa uma adesão, dose-dependente, de neutrófilos com consequente dano celular no epitélio gástrico. Porém, em lesões agudas, o etanol em concentrações elevadas provoca lesões na mucosa gástrica independente da ação dos neutrófilos (MEDEIROS *et al.*, 2008).

2.2 Mecanismos de proteção da mucosa gástrica

2.2.1 Óxido Nítrico e a Proteção Gástrica

O estômago, órgão responsável pela digestão dos alimentos, possui mecanismos de proteção que agem impedindo que a mucosa estomacal seja “digerida” pelo suco gástrico. Estes mecanismos de proteção incluem secreção de muco gástrico e bicarbonato, aumento do fluxo sanguíneo, inibição da secreção de ácido gástrico, renovação das células epiteliais, geração de prostaglandinas, óxido nítrico e mecanismos antioxidantes (YANDRAPU; SAROSEIK, 2015).

A descoberta do radical monóxido gasoso de nitrogênio, o óxido nítrico (NO), tem sido foco de atenção pela sua participação na sinalização de vários processos fisiológicos e/ou patológicos (MEDEIROS, 2006).

Vários estudos apontam a presença de mediadores gasosos envolvidos na gastroproteção. O NO um gás volátil, sintetizado através de uma série de etapas de transferência de elétrons a partir da enzima óxido nítrico sintase e o sulfeto de hidrogênio (H₂S) que é sintetizado a partir de um aminoácido (L-cisteína) sendo uma das principais fontes de enxofre necessário para a síntese de H₂S, quando inibidos podem trazer sérios danos

à mucosa, aumentando a suscetibilidade a graves lesões após exposição às drogas e ao etanol (MEDEIROS *et al.*, 2009; MONTEIRO *et al.*, 2019).

A síntese do NO resulta da oxidação de um dos dois nitrogênios guanidino da L-arginina, que é convertida em L-citrulina. Esta reação é catalisada pela enzima NO-sintase (NOS) (MARLETTA *et al.*, 1994). Uma variedade de isoformas de NOS tem sido purificada em diferentes tecidos de mamíferos e muitas já tiveram seus genes clonados. Estudos bioquímicos e análise sequencial de aminoácidos revelaram que estas isoformas representam uma família de proteínas e, aparentemente, são produtos de três genes distintos. Assim, as isoformas da NOS são agrupadas em duas categorias, a NOS constitutiva (c-NOS), dependente de íons cálcio (Ca^{++}) e de calmodulina, que está envolvida na sinalização celular, e a NOS induzível (i-NOS), produzida por macrófagos e outras células ativadas por citocinas (MONCADA *et al.*, 1991).

A c-NOS e a i-NOS diferem quanto ao peso molecular, à forma de ativação e à capacidade de síntese de NO e já foram caracterizadas, purificadas e tiveram os genes clonados (NISHIDA *et al.*, 1992). A isoforma constitutiva compreende a NOS neuronal (n-NOS, tipo I), presente normalmente nos neurônios, e a NOS endotelial (e-NOS, tipo III), presente normalmente nas células endoteliais vasculares (MONCADA *et al.*, 1991) e nas plaquetas (RADOMSKI *et al.*, 1990).

Sob condições normais, as células produzem pequenas quantidades de NO, e essa produção depende das enzimas constitutivas (eNOS e nNOS), indicando que o NO atua diretamente no controle de diversas respostas celulares. O nNOS está presente principalmente em neurônios, mas também pode ser expressa no músculo esquelético, no rim, no pâncreas e epitélio do estômago. O óxido nítrico produzido pela ação da nNOS possui função de neurotransmissão, mas também pode ser utilizado para regulação do tônus muscular do trato gastrointestinal (MEDEIROS, 2006).

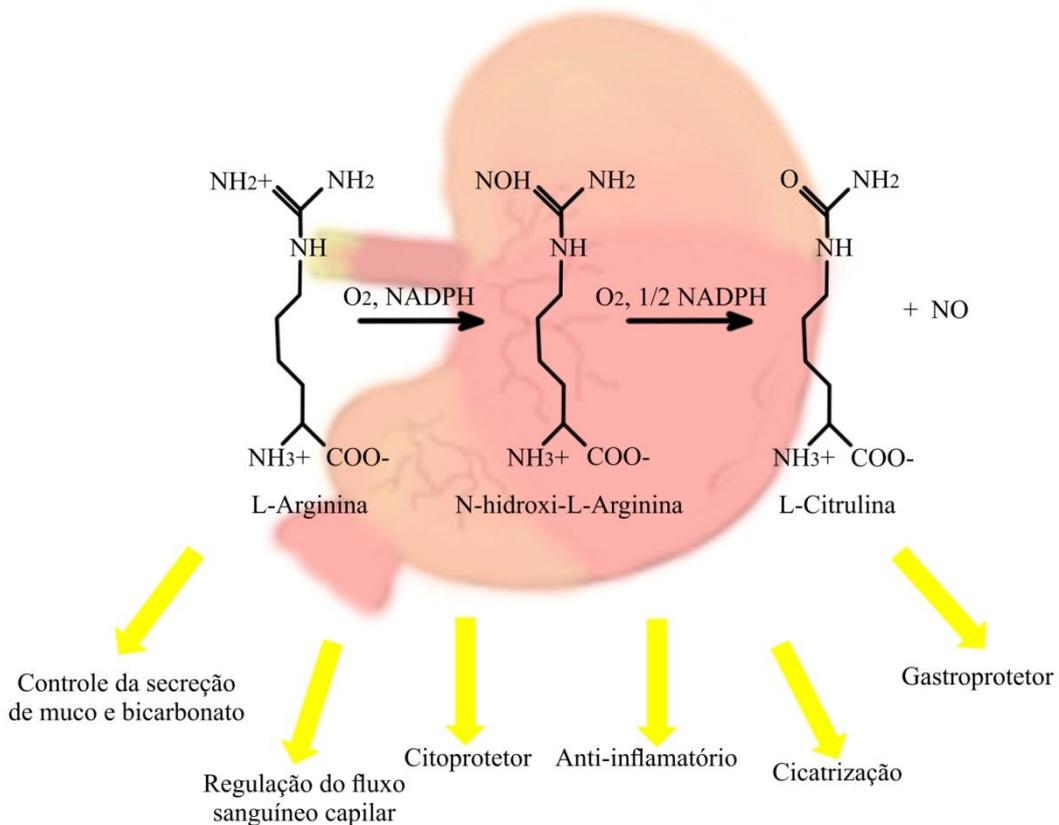
O óxido nítrico é um importante mediador de proteção da mucosa gástrica através do aumento do fluxo sanguíneo, secreção de muco e bicarbonato e de sua habilidade em inibir a aderência dos neutrófilos às células endoteliais (MAGIEROWSKI *et al.*, 2015). Este mediador gasoso está envolvido no mecanismo de secreção de bicarbonato em conjunto com a PGE2. Quando há aumento da secreção ácida, o NO estimula a síntese de PGE2, a qual é responsável pela inibição da secreção de ácido e aumento da secreção de bicarbonato (KIM, 2014; TAKEUCHI *et al.*, 2011).

No trato digestivo, o óxido nítrico tem influência sobre a secreção de muco, fluxo sanguíneo, bem como sobre a resistência da mucosa à elementos agressores, como

demonstrado na Figura 2 (EBERHART *et al.*, 1995). Seu efeito citoprotetor se dá por promover vasodilatação e conseqüentemente um aumento do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica, acelerando a retirada dos íons H^+ nocivos a esta e ainda aumentando o aporte de nutrientes para a mesma (KATO *et al.*, 1998).

A produção de NO de forma constitutiva é de suma importância para manter a barreira protetora da mucosa do trato gastrointestinal. Esta proteção em parte pode ser atribuída a sua capacidade em elevar o fluxo sanguíneo, inibir a adesão dos leucócitos ao endotélio vascular, auxiliar na cicatrização da úlcera gástrica, além de estimular a angiogênese e regulação da secreção de ácido clorídrico. Contudo, presença de NO em baixas concentrações está associada aos efeitos benéficos no trato gastrointestinal, enquanto o NO em concentrações elevadas pode induzir a sintetização de radicais originados a partir do nitrogênio, que são tóxicos para várias linhagens celulares (DINIZ, 2016; MEDEIROS, 2006).

Figura 2 – Formação e efeito gastroprotetor do óxido nítrico



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.2.2 Canais de Potássio Sensíveis ao ATP (K_{ATP}) e a Proteção Gástrica

Os canais de potássio sensíveis ao ATP (k^+_{ATP}) são canais de ligação importantes na excitabilidade da membrana da célula, para seu estado celular bioenergético. Os canais k^+_{ATP} são compostos por subunidades formadoras de poros e subunidades reguladoras (ZHOU *et al.*, 2014).

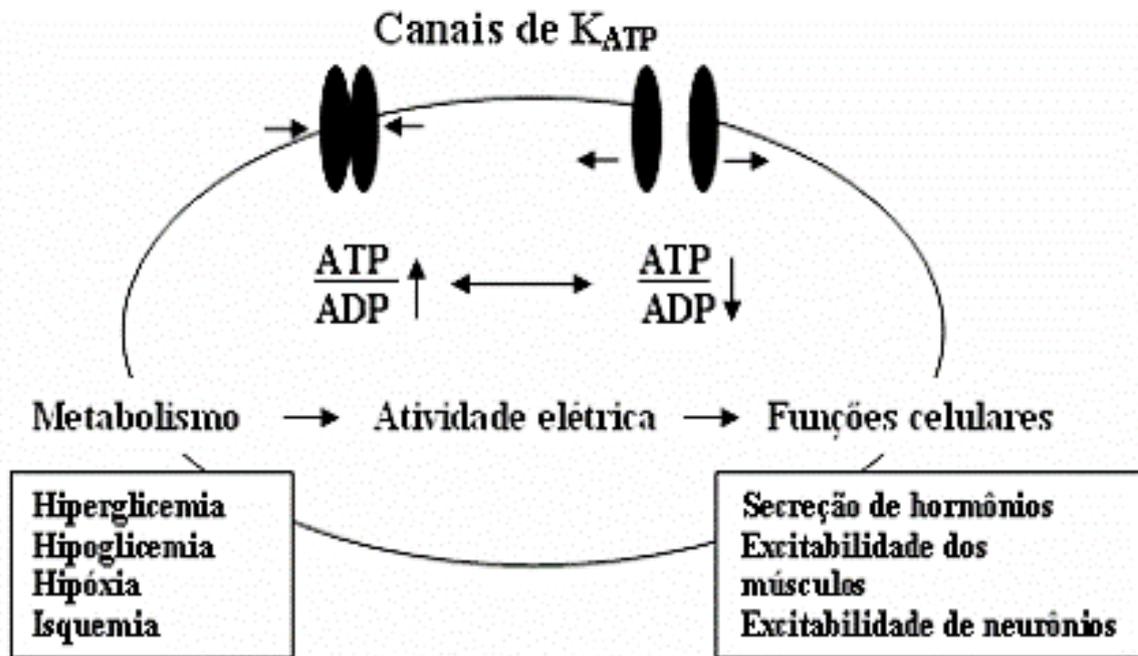
São compostas pela combinação única de duas proteínas diferentes, formadas por oito subunidades, sendo 4 α -subunidades da família kir6 (Kir 6.1 e 6.2) no qual constituem a subunidade formadora do poro e 4 subunidades regulatórias localizadas ao redor do poro, SUR (para receptor de sulfonilureia), membro da família de proteínas cassete ligadas ao ATP. A inibição do ATP resulta da interação com as subunidades kir6 enquanto a ativação nucleotídeo Mg^{2+} reflete a interação com as subunidades SUR (COLLIN, 2011).

Tradicionalmente os Kir6.1-6.2 são conhecidos pelos seus efeitos no processo de controle da liberação de insulina. Em especial, o Kir 6.2 está presente nas células β pancreáticas, e o seu bloqueio farmacológico tem sido muito utilizado como auxiliar na terapêutica da diabetes tipo II, visto que, sua inibição estimula a liberação de insulina. Entretanto, os Kir 6.1 estão expressos no miocárdio e no músculo liso vascular (BUCKLEY; SINGER; CLAPP, 2006).

A ativação excessiva desses canais tem sido associada com redução da contratilidade vascular e redução dos níveis de pressão arterial (LI *et al.*, 2013). Farmacologicamente, são inibidos por sulfonilureias como, por exemplo, a glibenclamida, e estimulados por agentes como o diazóxido, minoxidil e pinacidil. Os Kir6.1-6.2 são sensíveis ao ATP. Desta forma, a redução da disponibilidade de ATP intracelular resultante de condições isquêmicas ou em situações de hipóxia, estimula a ativação destes canais. Assim a ativação dos Kir 6.1 está associada com várias patologias, como diabetes, hipertensão crônica e aterosclerose (SORENSEN *et al.*, 2011).

Os canais de K_{ATP} participam da atividade elétrica em muitos tecidos na regulação do fluxo de potássio na membrana celular. Esses canais podem ser ativados por alguns fatores como a entrada e a liberação de cálcio intracelular, a voltagem, as proteínas G e ATP. Também estão envolvidos nas respostas celulares a vários tecidos, alterando o estado metabólico (MEDEIROS *et al.*, 2009).

Figura 3 – Funções celulares e papel metabólico dos canais de K_{ATP}

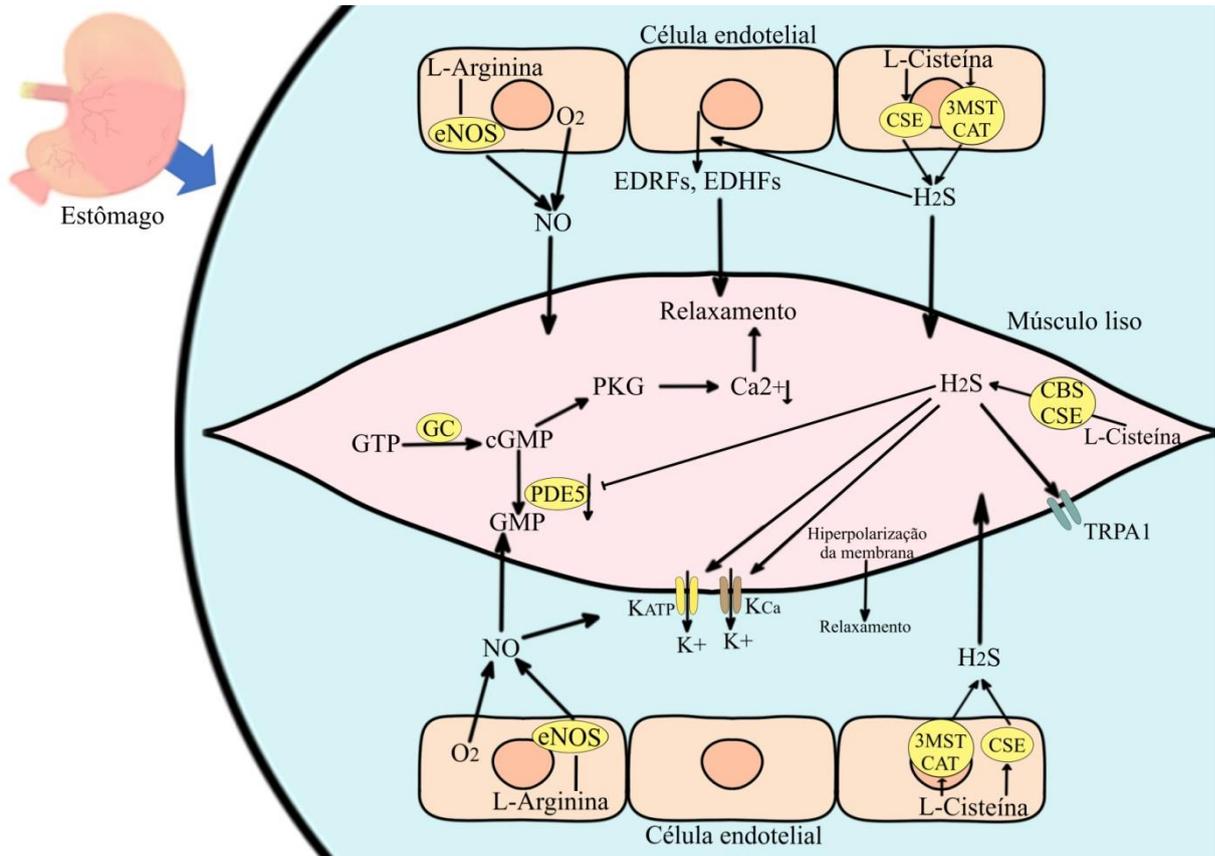


Fonte: Medeiros (2006).

Foi descoberto inicialmente no coração e encontrado mais tarde em outros tecidos como o pâncreas, na musculatura lisa e esquelética, nos rins e cérebro. Os canais de K_{ATP} são inibidos pelo ATP intracelular e ativados pelo Mg_{ADP} , um composto que interage com os nucleotídeos receptores de sulfonilureias da subunidade SUR do canal de K_{ATP} , assim, ativando-o. No sistema vascular, os canais de K_{ATP} estão implicados no relaxamento do músculo liso vascular, possuindo um papel importante no controle da pressão sanguínea (MEDEIROS *et al.*, 2008).

Os canais de K_{ATP} estão envolvidos em funções fisiológicas do estômago tais como: secreção de ácido gástrico; regulação do fluxo sanguíneo e contratilidade do estômago. Contudo os efeitos diretos da gastroproteção mediado pelos canais de K_{ATP} ainda não foram completamente investigados, mas a regulação do fechamento e abertura dessa via no estômago pode ser um mecanismo de defesa (MEDEIROS, 2006).

Figura 4 – Canais de potássio sensíveis ao ATP (K_{ATP}) e seus efeitos gastroprotetores



Fonte: Elaborado pelo autor.

2.3 Implicações atuais sobre o tratamento da gastrite

Dentre as terapêuticas aplicadas a gastrite tem-se os fármacos inibidores da bomba de prótons que levam a inibição do ácido estomacal atuando impedindo a $H^+/K^+ATPase$ das células parietais. Estes medicamentos são poderosos inibidores de ácido e são amplamente utilizados como fármacos de escolha para o tratamento da doença do refluxo gastresofágico e das úlceras pépticas induzidas por anti-inflamatórios não esteroidais e etanol. O uso contínuo dessas drogas pode levar a complicações graves, como estenose esofágica, infecção *por Clostridium difficile*, pneumonia, fraturas ósseas, demência, doença renal crônica e supercrescimento bacteriano do intestino delgado (VIGNERI *et al.*, 1995).

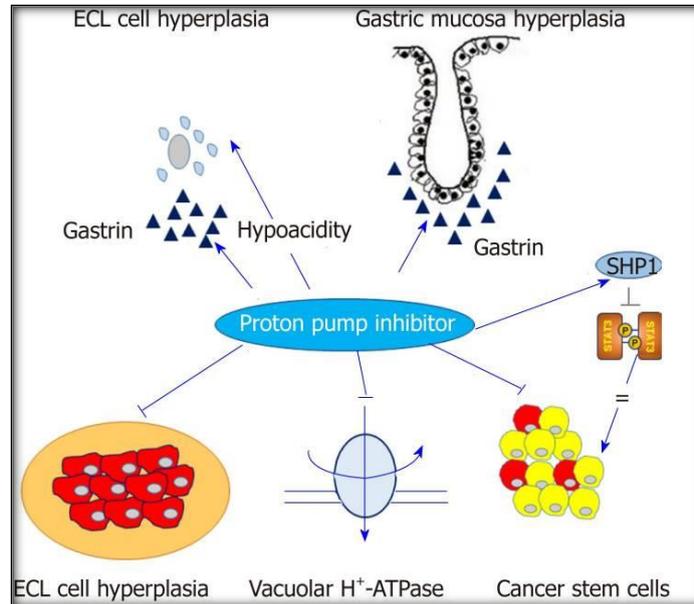
Estudos recentes confirmaram uma associação positiva entre o uso de inibidores de bomba de prótons e tumores malignos ou pré-malignos do trato gastrointestinal. Apontando disposições recentes que sugerem que a dose desses medicamentos em longo prazo deve ser reavaliada constantemente e que a menor dose eficaz possível precisa ser prescrita. Outras pesquisas mostraram efeitos antitumorais significativos dos inibidores de bomba de prótons

em células cancerosas, como o adenocarcinoma de Barrett e células de melanoma além de contribuir para a diminuição da resistência tumoral à quimioterapia (DE MILITO *et al.*, 2010).

Existem duas hipóteses que explicam a associação entre o câncer gástrico e o uso prolongado de inibidores de bomba de prótons. A primeira ocorre em decorrência de uma hipergastrinemia que reduz a acidez gástrica levando a uma proliferação de células semelhantes à enterocromafina que expressam receptores colecistocinina-2 gástricos promovendo um quadro hiperplásico, além de serem as células-alvo da gastrina na mucosa oxínica para a formação de tumores neuroendócrinos. A segunda hipótese que a intensa presença da gastrina promovendo um efeito trófico na mucosa oxínica, bem como nas células enterocromafinas levam a um processo inflamatório de continuidade deixando o ambiente favorável ao surgimento de processos neoplásicos malignos (KATO *et al.*, 2006).

De forma resumida os medicamentos inibidores da bomba de prótons diminuem a secreção de ácido gástrico e levam à hipergastrinemia com a proliferação de células enterocromafina na glândula oxínica, elucidando parcial e teoricamente a potencial associação com o câncer gástrico, ou pelo menos, o aumento da carcinogênese gástrica associada a *H. pylori* (Figura 5). No entanto, esta hipótese é muitas vezes insuficiente já que trabalhos apontam que esses medicamentos não alteram a microbiota gástrica, nem contribuem significativamente para o desenvolvimento do câncer (PARSON *et al.*, 2017).

Figura 5 – Efeitos do contraste dos inibidores da bomba de prótons na mucosa gástrica normal e nas células cancerosas gástricas



Fonte: Joo, Park e Chun (2017).

Diversos trabalhos demonstraram uma associação relevante entre o uso contínuo de inibidores de bomba de prótons e o aumento das chances de aparecimento do câncer gástrico. Contudo, a evidência está distante de ser categórica devido aos limites do desenho da pesquisa e à deleção de várias variáveis básicas. Além disso, existem dados contraditórios. Por exemplo, apesar dos Estados Unidos serem um dos países com o uso mais frequente e de longo prazo desses medicamentos, a incidência de neoplasias malignas gástricas é relativamente pequena (STRAND; KIM; PEURA, 2017). Assim, evidências fortes, incluindo estudos prospectivos em larga escala bem planejados, são necessários para apoiar a associação potencial entre o uso prolongado desses fármacos e o câncer gástrico (JOO; PARK; CHUN, 2019).

O efeito inesperado dos inibidores de bomba de potássio em relação aos tumores sólidos, incluindo o cancro gástrico pode ocorrer por vários mecanismos. Esses agentes farmacológicos contribuem para superar a resistência a drogas e melhorar a quimiossensibilidade através da inibição da H⁺ ATPase vacuolar (VH⁺ -ATPase) das células tumorais, alcalinizando o microambiente do tumor e retendo drogas citotóxicas como cisplatina, 5-fluorouracil e vinblastina fracamente básicas dentro dos alvos intracelulares como em várias linhas celulares de câncer sólido. Os inibidores de bomba de

potássio diminuem a quimiorresistência via transformação da glicólise anaeróbica (JOO *et al.*, 2019).

É bem conhecido que a via de sinalização do transdutor de sinal e do ativador da transcrição 3 desempenha um papel essencial na invasão do câncer gástrico. Um estudo *in vitro* demonstrou que medicamentos como o omeprazol exibiu uma citotoxicidade condicionada da dose e aumentou a sensibilidade da cisplatina *via* inibição da atividade do ativador da transcrição 3 estimulando a interleucina 6 e seus genes-alvo. Os inibidores de bomba de potássio podem desempenhar um “duplo papel” na carcinogênese gástrica e no manejo do câncer gástrico avançado (JOO; PARK; CHUN, 2019).

Muitos compostos químicos naturais têm demonstrado aplicabilidade biológica em diversas doenças através dos seus efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, tais substâncias apresentam baixa citotoxicidade e mínimos efeitos adversos sendo uma alternativa para a substituição de medicamentos com efeitos colaterais incertos (VASCONCELOS, 2015).

2.4 Produtos naturais e a suas aplicações na gastrite experimental induzida por etanol

Os produtos naturais obtidos de plantas têm sido foco de pesquisas para a descoberta de novas moléculas de interesse farmacológico e biomédico. Desde os primórdios, os seres humanos faziam uso de plantas como remédios e esse interesse em compostos biológicos naturais aumentou à medida que as demandas por alimentos funcionais elevaram (DINIZ, 2016; PANTOJA *et al.*, 2018; PARK; SONG; CHO, 2018). Contudo, a aplicação de produtos naturais como forma de tratamento contra a gastrite tornou-se base para diversos estudos que se intensificaram nos últimos anos, em especial, a procura de atividade antiulcerogênica e que estimulem os fatores de proteção (DINIZ, 2016). Obtendo variações de efeitos terapêuticos significativos (Tabela 1):

Tabela 1 – Retrospectiva de estudos que utilizaram produtos naturais e seus efeitos em modelos de gastrite induzida

Produto natural	Conclusões	Referência
<i>Petasites hybridus</i>	Contribuição para a inibição de cálcio dependente.	BRUNE; BICKEL; PESKAR (1993)
<i>Cyperus rotundus</i>	Esse estudo sugere que a inibição da motilidade gástrica causado pela erva pode contribuir parcialmente ao efeito protetor da mesma.	ZHU <i>et al.</i> (1997)
Óleo resina de <i>Copaifera langsdorffi</i>	Em conclusão, o estudo concluiu a gastroproteção é mediada pelo efeito na produção de muco e por suas propriedades secretoras de antiácidos.	PAIVA <i>et al.</i> (1998)
<i>Angelica sinensis</i>	Em conjunto, os achados sugerem ação anti-inflamatória, alívio na atividade da mieloperoxidase.	CHO <i>et al.</i> (2000)
<i>Embllica officinalis</i>	Os resultados do presente estudo sugeriram a nova atividade citoprotetora nas células da mucosa gástrica, demonstrando potente atividade anti-úlceras.	RAJESHKUMAR; THERESE; KUTTAN (2001)
Cabeça do <i>Panax ginseng</i>	O estudo indica que o produto inibe a secreção ácida, incremento da secreção de mucina e propriedade antioxidante.	JEONG <i>et al.</i> (2002)
Extrato aquoso da <i>Lobaria pulmonaria</i>	A pesquisa indica que o extrato exibe moderada atividade anti-inflamatória e antiulcerogênicas fortes	SÜLEYMAN <i>et al.</i> (2003)
<i>Nigella sativa</i>	Esses resultados indicam que esse produto apresenta efeitos antiperoxidativos, antioxidantes e anti-histamínicos.	KANTER; COSKUN; UYSAL (2006)
Extrato etanólico de <i>Combretum leprosum</i>	Este estudo fornece evidências de que esse extrato possui efeitos gastroprotetores e antiulcerogênicos pela inibição do Ác. Tricíclico e aumento dos fatores defensivos da mucosa, como muco prostaglandina.	NUNES <i>et al.</i> (2009)
<i>Croton urucurana</i>	Os resultados demonstram atividade antiulcerogênica, aumentando a produção de muco e redução de acidez gástrica.	CORDEIRO <i>et al.</i> (2012)
<i>Citrus sinensis L.</i>	Os achados sugeriram efeitos protetores devido às ações antioxidantes, bem como seus efeitos opostos em alguns mediadores intracelulares estudados.	SELMİ <i>et al.</i> (2017)

Fonte: Elaborado pelo autor.

A literatura pôde indicar que os produtos naturais promovem efeitos de gastroproteção através de mecanismos envolvendo as vias de NO/K_{ATP}. (CHÁVEZ-PIÑA *et al.*, 2010; DAMASCENO *et al.*, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2019; SANTANA *et al.*, 2015)

Produtos naturais em parte apresentam efeitos anti-inflamatórios, como o caso da *Petasites hybridus* que possui um princípio ativo capaz de suprimir a produção de peptido-leucotrienos (pLTs) quase completamente sem afetar a formação dos outros eicosanóides principais. E isso é através de uma interferência indireta na atividade da 5-lipoxigenase ou outros fatores-chave, assim, reduzindo a disponibilidade de íons cálcio necessários no processo de produção de leucotrienos. E em outros casos, em relação à *Lobaria pulmonaria*, há efeitos anti-inflamatórios semelhantes aos efeitos da “nimesulida”, devido à inibição seletiva para a COX-2. E com relação a redução de fatores de necrose tumoral (TNF-alfa), o

uso do extrato da *Citrus sinensis* L. diminuiu a expressão de COX-2, além de corrigir o aumento do número peroxidação lipídica gástrica. (BRUNE; BICKEL; PESKAR, 1993; SELMI *et al.*, 2017; SÜLEYMAN *et al.*, 2003)

Portanto, ao comparar esses estudos de diferentes décadas, pode-se destacar que os produtos naturais utilizados como forma de tratamento contra a gastrite apresentaram de forma geral o mesmo resultado, a gastroproteção, podendo ou não seus efeitos ser semelhantes. Assim, destacando a variabilidade de recursos naturais com finalidades terapêuticas ao tratamento contra a gastrite (SÜLEYMAN *et al.*, 2003).

Dentro dos produtos naturais disponíveis atualmente, a galactomananas são polímeros que demonstram uma variedade de usos e diferentes características físico-químicas, sendo bem aplicados como espessantes em sistemas aquosos simples e estabilizantes de emulsões. Por serem derivados de plantas são considerados recursos renováveis e atóxicos, beneficiando seu largo uso nas indústrias têxteis, farmacêuticas, biomédicas, cosméticas e alimentícias (SALVALAGGIO *et al.*, 2015). Em relação a sua toxicidade, estudos *in vivo* com galactomananas extraídas de sementes de *Leucaena leucocephala* (leucena), *Cyamopsis tetragonolobus* (goma guar) e *Dimorphandra 5 mollis* comprovaram ausência de citotoxicidade (PANEGASSI; SERRA; BUCKERIDGE, 2000).

As galactomananas apresentam quatro grupos principais (goma alfarroba: *Ceratonia siliqua*, goma guar: *Cyamopsis tetragonoloba*, goma tara: *Caesalpinia spinosa* Kuntze e feno-grego: *Trigonella foenum-graecum* L.) e suas sementes estão presentes em diversas partes do planeta (AZERO; ANDRADE, 2002).

Esses polissacarídeos da parede celular de plantas podem se classificados de acordo com sua estrutura química em mananas, xiloglucanas e galactanas. As mananas são subdivididas em mananas puras, glucomananas e galactomananas. As galactomananas e as xiloglucanas apresentam maior representatividade pela importância na atividade industrial. Galactomananas são heteropolissacarídeos neutros extraídos principalmente de endospermas de sementes de plantas da família *Leguminosae* e em menores quantidades das sementes das famílias *Palmae*, *Annonaceae*, *Convolvulaceae*, *Loganiaceae* e algumas espécies de fungos, onde possuem atividade de proteção, retenção e armazenamento de água. A solubilidade das galactomananas em água depende do conteúdo de galactose substituinte e quando solúveis em água formam fluidos viscosos e estáveis e também podem interagir de forma sinérgica com outros polissacarídeos para o desenvolvimento de géis (MONTEIRO, 2009; PRAJAPATI *et al.*, 2013).

Os polissacarídeos possuem uma ampla gama de aplicações, além de várias atividades

biológicas, como: antivirais, antitumorais, antioxidantes, anticoagulantes e antitrombóticas. E por isso, esses produtos veem sendo investigados em estudos sistematizados com indução de gastrite por etanol em modelos animais, apresentando efeitos medicinais relevantes, devido às atividades protetoras no sistema gastrointestinal (CUNHA; FEITOSA, 2009). Como evidenciado pelos seguintes estudos (Tabela 2):

Tabela 2 – Publicações que utilizaram polissacarídeos no tratamento de gastrite experimental induzida por etanol em 2018/2019

Produto natural	Conclusões	Referência
<i>Curcuma longa linn</i>	O presente estudo com extrato de <i>Curcuma longa</i> revelou que possui atividade antiulcerogênica significativa.	SAVARINGAL; SANALKUMAR (2018)
Extrato de <i>Artemisia capillaris</i>	Em conjunto, os achados sugerem que o extrato inibe a inflamação e mantém a homeostase oxidante/antioxidante, resultando em um efeito gastroprotetor contra o dano gástrico induzido por HCl / etanol. Portanto, o extrato pode ser uma droga promissora ou útil neutraceutical para o tratamento de gastrite e úlcera gástrica.	YEO <i>et al.</i> (2018)
Polissacarídeo de <i>Dendrobium nobile</i>	Em conclusão, o estudo confirmou que a pré-ingestão do polissacarídeo poderia proteger contra a úlcera gástrica induzida por etanol. Além disso, o mecanismo de proteção da úlcera foi verificado em várias frentes.	ZHANG <i>et al.</i> (2018)
<i>Alpinia officinarum</i>	O extrato de <i>Alpinia officinarum</i> e a galangina exercem efeitos antiulcerosos por meio das vias ciclooxigenase e não-ciclooxigenase, validando o uso de galangina como tratamento para danos gástricos.	GONG <i>et al.</i> (2018)
<i>Pimenta racemosa</i>	As folhas de <i>P. racemosa</i> são ricas em compostos fenólicos e mostraram significativas atividades biológicas.	MOHARRAM <i>et al.</i> (2018)
<i>Ximenia americana</i>	Ação contra a lesão gástrica induzida pela indometacina em camundongos, efeito que foi dependente da redução da infiltração de neutrófilos.	PANTOJA <i>et al.</i> (2018)
<i>Dioscorea batatas</i>	Os achados sugeriram que a suplementação oral com o extrato, especialmente o etanol, antes do consumo excessivo de etanol, pode exercer um efeito protetor contra a mucosa gástrica induzida pelo etanol in vivo, presumivelmente através da ativação do sistema antioxidante e supressão de a resposta inflamatória.	BYEON <i>et al.</i> (2018)
Polissacarídeo isolado de <i>Bletilla striata</i>	Esses resultados indicam forte atividade gastroprotetora, devido ao estresse antioxidante, anti-inflamatório e inibição da via de sinalização da MAPK.	ZHANG <i>et al.</i> (2019)
<i>Passiflora edulis f. Flavicarpa</i>	Essa pesquisa evidenciou uma gastroproteção em úlceras induzidas experimentalmente, pois houve uma depleção do GSH e do muco da parede gástrica.	ABBOUD <i>et al.</i> (2019)
Sementes de <i>Mucuna pruriens</i>	Ação gastroprotetora e antioxidantes via adrenoreceptores alfa-2 e prostaglandinas, sem sinais de toxicidade.	PINTO <i>et al.</i> (2019)
<i>Handroanthus heptaphyllus</i>	Os achados evidenciaram efeitos gastroprotetores e cicatrizantes de úlcera gástrica. E inibiu a depleção de muco e GSH.	CARLOTTO <i>et al.</i> (2019)

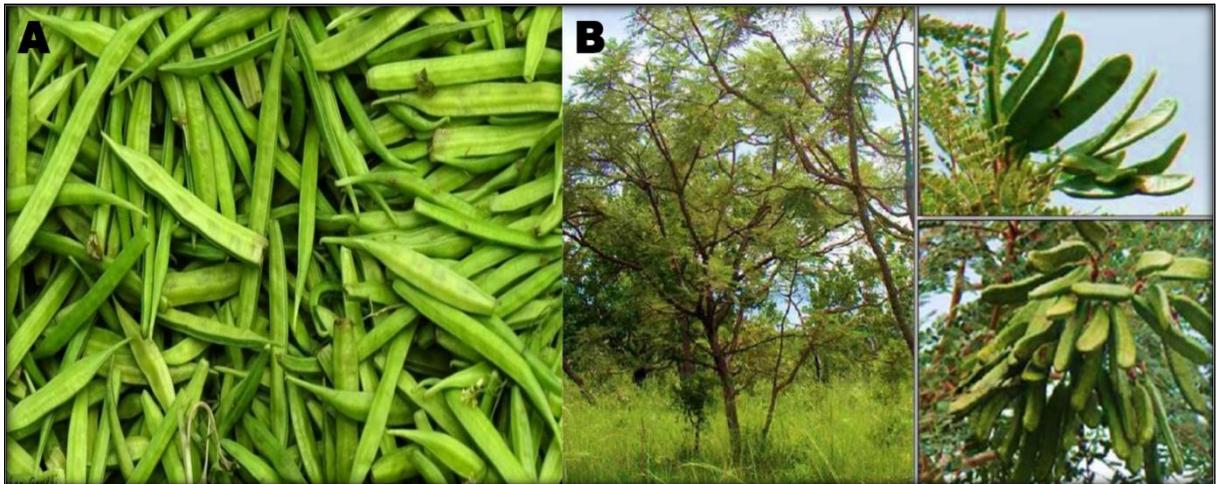
Polissacarídeo sulfatado de <i>Laurencia obtusa</i>	Em seus resultados demonstrou um potencial benéfico como produto gastroprotetor e antioxidante, aumentando os níveis de GSH na mucosa gástrica.	LAJILI <i>et al.</i> (2019)
<i>Sedum dendroideum</i>	Essa substância promove gastroproteção através da prevenção de mecanismos de defesa endógenos, representando por muco e GSH, além de atividade antioxidante.	LUZ <i>et al.</i> (2019)

Fonte: Elaborado pelo autor.

2.5 Galactomanana da Fava Danta (*Dimorphandra gardneriana*) e sua aplicabilidade biológica

A galactomanana da fava danta (GFD) é obtida através de sementes da espécie *Dimorphandra gardneriana* (Figura 6) sendo típica dos estados do Piauí, Ceará e Maranhão (MONTEIRO, 2009; PRAJAPATI *et al.*, 2013).

Figura 6 – *Cyamopsis tetragonolobus* (A frutos) e *Dimorphandra gardneriana* (B árvore e frutos)



Fonte: Filizola (2013).

Em relação à citotoxicidade da GFD, pesquisas apontam baixa ou nenhuma citotoxicidade estatisticamente significativa (MOURA NETO *et al.*, 2014). O comportamento sinérgico e as propriedades físico-químicas da galactomanana são importantes para aplicações industriais. Esses polissacarídeos podem ser usados como flocculantes e inibidores sinérgico sendo um produto de escolha em indústrias alimentícias, cosméticas, farmacêuticas e têxteis (MONTEIRO, 2009; NASCIMENTO, 2017).

A caracterização das propriedades gastroprotetoras de produtos naturais pode contribuir para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos ou suplementos alimentares funcionais (MARQUES *et al.*, 2019).

As galactomananas são consideradas polissacarídeos neutros, apesar de apresentarem proteínas contaminantes por serem polissacarídeos naturais. Em relação à caracterização da GFD, o gel purificado e o não purificado desse produto natural apresentam respectivamente 95% e 96% de água, não apresentando uma diferença significativa no teor (CUNHA *et al.*, 2009; MONTEIRO, 2009).

A reticulação da GFD apresentou uma eficiência para a obtenção de um gel fluido deste polissacarídeo, que pode ter, durante sua obtenção, sua viscosidade controlada pela interrupção da reação por colocação do sistema em diálise (MONTEIRO, 2009).

O glutaraldeído é um reagente tóxico presente na GFD, onde tal substância precisa ser quantificada para o produto natural ser utilizado em finalidade biológica. E a reticulação com glutaraldeído promove um aumento considerável de viscosidade (MONTEIRO, 2009).

2.6 Goma Guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e sua aplicabilidade biológica

A goma guar (GG) é extraída a partir de sementes de *Cyamopsis tetragonolobus* (Figura 5), cuja casca representa 14-17%, o endosperma 35-42%, e o embrião 43-47% do peso seco da semente (MONTEIRO, 2009; PRAJAPATI *et al.*, 2013). A GG purificada apresenta potencial no tratamento da osteoartrite experimental em ratos por viscosuplementação diminuindo a dor e protegendo os componentes da diartrose (CASTRO *et al.*, 2007; CASTRO *et al.*, 2006; CUNHA *et al.*, 2008).

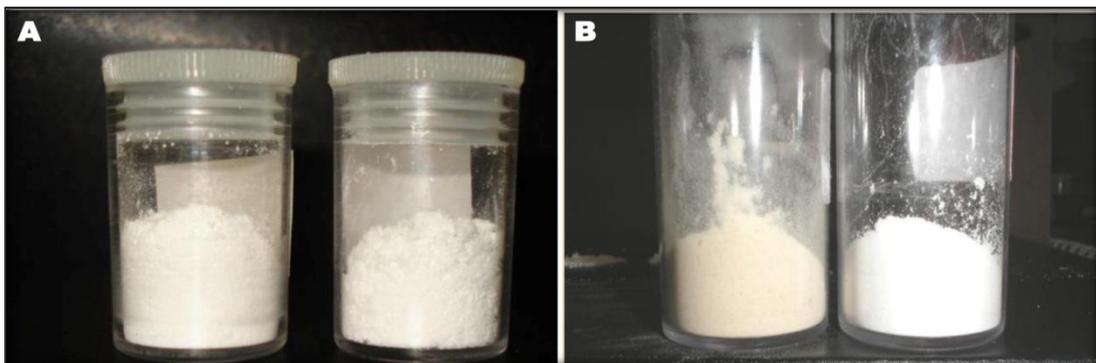
A GG é um galactomanano bem conhecido. Além de galactose e manose, pequenas quantidades de outros monossacarídeos, como glicose e arabinose também foram identificados. É composto predominantemente por um galactomanano com uma longa cadeia central de resíduos de manose, unidos por ligações glicosídicas do tipo β - (1 \rightarrow 4) e resíduos de galactose unidos por ligações do tipo α - (1 \rightarrow 6) ligados aos lados do manano núcleo central (CASTRO *et al.*, 2016).

Além de ser um componente potencialmente inócuo, a GG é um biodegradável de baixo custo e facilmente disponível, além de ser um polissacarídeo amplamente aplicado na indústria. No setor farmacêutico, por exemplo, suas propriedades funcionais são de primordial importância para controlar a liberação de medicamentos em trato gastrointestinal, como transportador de cólon direcionado, para medicamentos anticâncer no tratamento de câncer colorretal câncer e para soluções de reidratação oral no tratamento de cólera em adultos, além de fornecer analgesia e condroproteção nos casos de osteoartrite através de mecanismos farmacológicos e não reológicos. A goma também é usada em

drogas transdérmicas sistemas de distribuição, como muco cervical sintético (CASTRO *et al.*, 2016; CUNHA *et al.*, 2007; CUNHA *et al.*, 2005).

Estas observações reforçam o valor da realização de estudos de obtenção e caracterização das propriedades dessas galactomananas e a comparação com outras terapêuticas e aplicações em modelos biológicos experimentais com repercussão inflamatória. A purificação da GG e GFD objetiva a remoção de contaminantes como proteína e outros polissacarídeos que possam estar presentes resultando em inflamação quando testadas em cobaias. As galactomananas (GG e GFD) são purificadas (Figura 7) pelo método de Fehling reduzindo a quantidade de proteínas e consequentemente seus efeitos colaterais e aumentando seu potencial de utilização em modelos biológicos (CUNHA *et al.*, 2009; CUNHA *et al.*, 2007; NETO *et al.*, 2014).

Figura 7 – Amostras de GFD (A) e GG (B) não purificadas e purificadas. Após purificações ambas as gomas ficam mais claras, notadamente mais visível para GG



Fonte: Monteiro (2009).

Sabe-se que a presença de proteína nos polissacarídeos pode induzir uma resposta inflamatória nos tecidos e essa resposta pode inibir o uso farmacológico de materiais à base de polissacarídeos. O grau e a cinética do processo de hidratação ou dissolução são variáveis críticas que influenciam a atividade biológica da goma de guar (CUNHA *et al.*, 2007).

A GG pode ser purificada com métodos diferentes que reduzem as proteínas contaminantes, mas os métodos que utilizam a solução de Fehling apresentam de efetividade maior em relação aos outros métodos. E isso se deve ao fato da recuperação de quase todo o polissacarídeo precipitado com solução de Fehling durante a reação posterior com ácido (CUNHA *et al.*, 2007).

3 JUSTIFICATIVA

Os fármacos com ação antissecretória gástrica, como os inibidores da bomba de prótons, representam a principal opção na terapia das doenças estomacais inflamatórias (GISBERT, 2005), porém o uso prolongado destes agentes está coligado à incidência de fraturas e câncer (LEEDHAM; JANKOWSKI, 2007; YANG *et al.*, 2006). O entendimento da fisiopatologia das lesões gástricas por etanol, bem como dos mecanismos envolvidos na defesa da mucosa gástrica a agressões externas, colabora para a ampliação de novas estratégias para o tratamento, profilaxia destas lesões e como recurso de manutenção terapêutica após o tratamento com o medicamento de base com mínimos efeitos colaterais.

Isto posto, diante da variedade de mecanismos envolvidos na ação destas substâncias, potencial capacidade de inovação biotecnológica, menor citotoxicidade, capacidade de mucoadesividade, formação de membranas e efeitos colaterais menores com uso em longo prazo, decidimos avaliar a possível atividade gastroprotetora dos polissacarídeos da Goma Guar e GFD em modelos de lesão gástrica, bem como avaliar farmacologicamente os mecanismos envolvidos na resposta gastroprotetora.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

- Avaliar o efeito gastroprotetor da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) na gastrite experimental induzida por etanol, bem como estudar a participação do NO/K_{ATP} neste efeito.

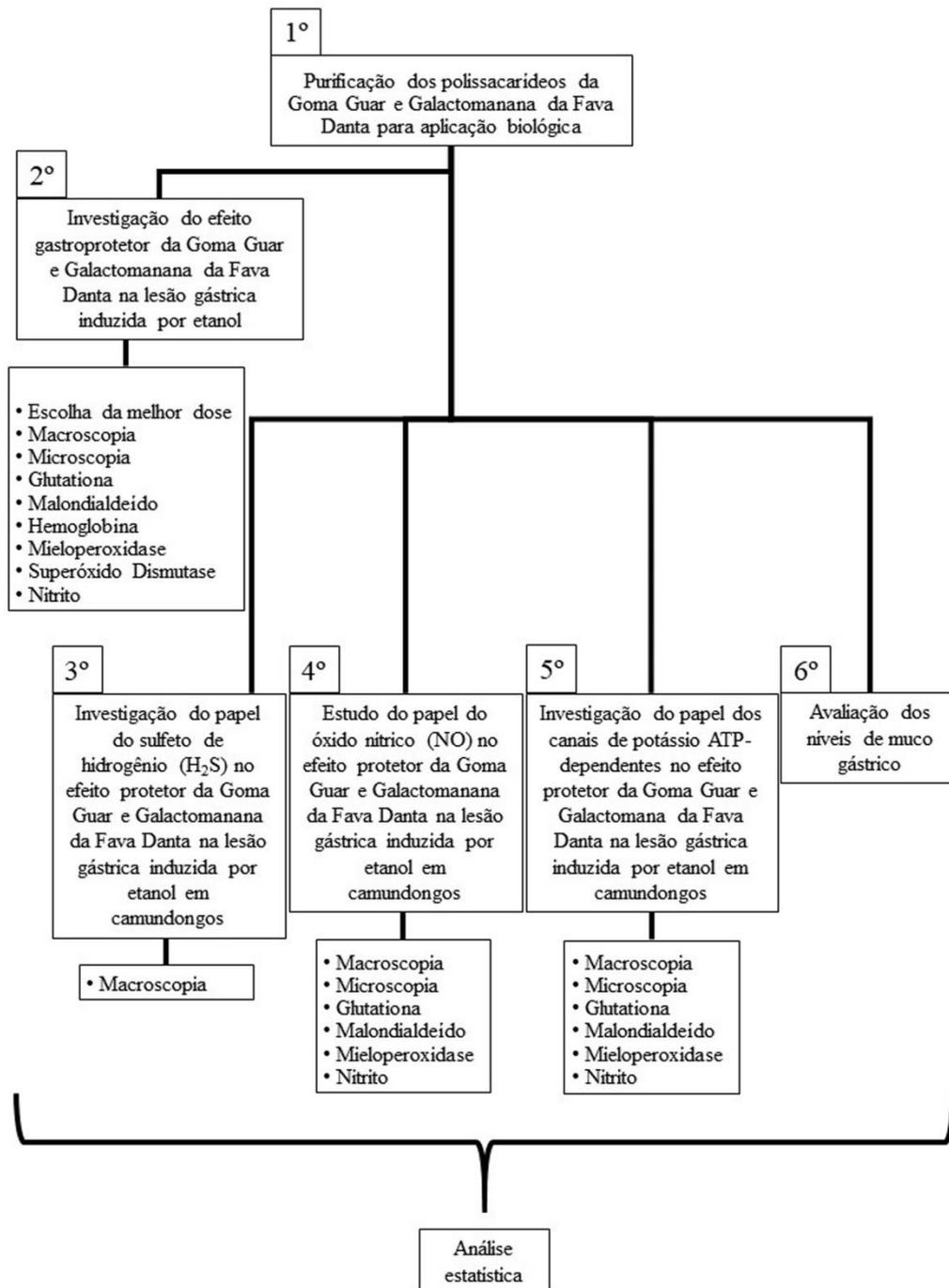
4.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito gastroprotetor da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) na lesão gástrica macroscópica e microscópica induzidas por etanol em camundongos;
- Investigar os efeitos da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) sobre o estresse oxidativo induzido por etanol, através das dosagens de glutatona (GSH), malondialdeído (MDA), Superóxido Dismutase (SOD) e quantificação de nitrito.
- Testar os efeitos anti-inflamatórios da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) na lesão gástrica induzida por etanol, através da dosagem de mieloperoxidase (MPO).
- Testar a ação da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) a fim de quantificar a hemorragia na mucosa induzido por etanol através da determinação da concentração de hemoglobina;
- Determinar a ação da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) sobre a formação da camada de muco em lesões gástricas induzidas por etanol;
- Estudar a participação do NO neste evento, através do tratamento com L-NAME (inibidor da NOS não seletivo) e estudar o papel dos canais de K dependentes do ATP na lesão gástrica induzido por etanol, através do tratamento com glibenclamida (um bloqueador dos canais de potássio ATP dependentes).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Organograma do Método Experimental

Figura 8 – Organograma do método experimental



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2 Animais

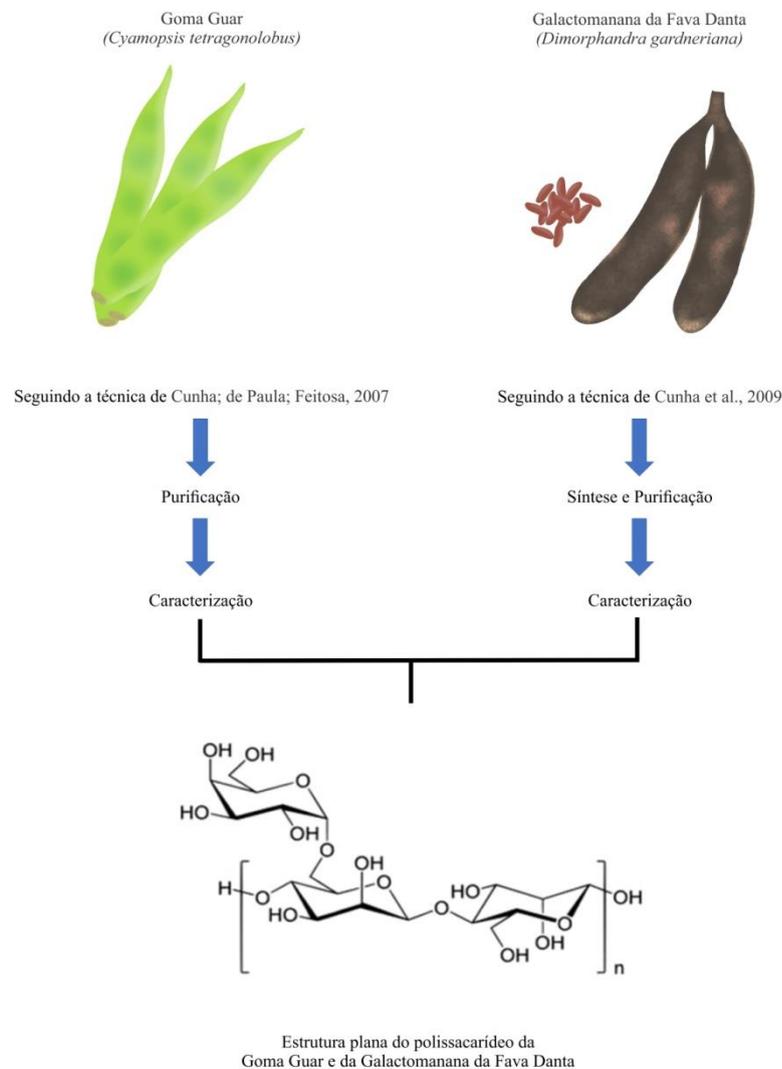
Foram utilizados no presente estudo utilizados camundongos albinos (*Mus musculus*), variedade Swiss Webster, adultos, machos e fêmeas, pesando entre 25 e 30 gramas, provenientes do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará. Os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno, à temperatura ambiente, com ciclos de claro/escuro de 12 em 12h, recebendo ração padrão (Purina Chow) e água “*ad libitum*”. Os animais foram colocados em jejum de sólido por 18-24h antes dos experimentos.

Os protocolos experimentais estão de acordo com os padrões de uso de animais experimentais e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa animal da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC – protocolo número 44/2017).

5.3 Caracterização e purificação dos polissacarídeos da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) para aplicação biológica

Os polissacarídeos foram purificados no Laboratório de Polímeros (LabPol) do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, conforme técnica descrita por Cunha, Paula e Feitosa (2007) para Goma Guar (fornecida pela Sigma-Aldrich Brasil Ltda.) e por Cunha *et al.* (2009) para Galactomanana da Fava Danta cujas estruturas químicas estão representadas na Figura 9.

Figura 9 – Obtenção e caracterização dos polissacarídeos da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*)

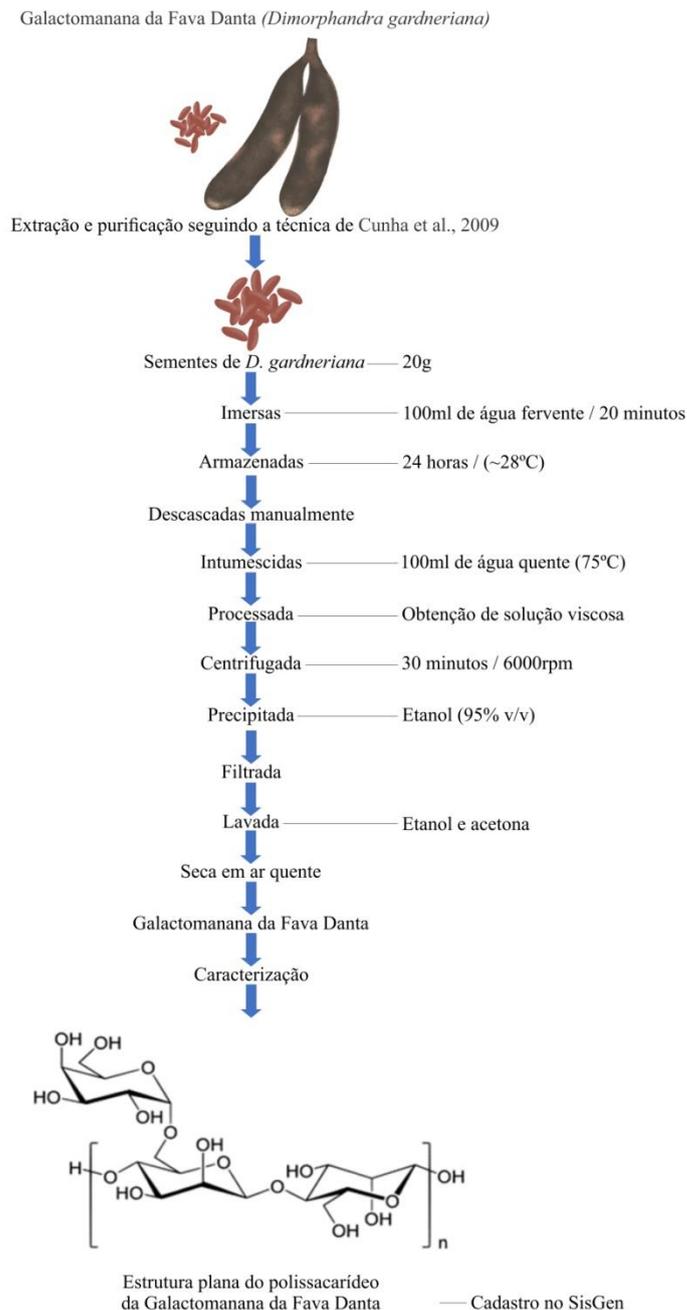


Fonte: Elaborado pelo autor.

Para extração da GFD, demonstrada na Figura 10, sementes maduras de *D. gardneriana* pesando 20g foram imersas em 100mL de água fervente durante 20min e armazenadas durante 24h à temperatura ambiente (~28 °C). Em seguida as sementes foram descascadas manualmente, separando o endosperma da casca e embrião. Posteriormente os endospermas foram colocados em 100 mL de água quente (75 °C) por mais 2 horas para completar o intumescimento. Para melhorar a homogeneização adicionou-se mais água e a mistura foi processada em liquidificador. A solução viscosa obtida foi centrifugada a 6000rpm

durante 30 minutos e o sobrenadante removido e precipitado com o dobro do seu volume de etanol a 95% (v/v). O precipitado foi recolhido num filtro de vidro (grau fino), lavado sucessivamente com etanol e acetona, seco com ar quente e pesado. A amostra assim obtida é chamada de Galactomanana da Fava Danta (CUNHA et al., 2009). A atividade de acesso ao Patrimônio Genético para *Dimorphandra gardneriana* (Galactomanana da Fava Danta) foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado sob o número: A95D22E (ANEXO A).

Figura 10 – Extração da GFD



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.4 Aparelhos e instrumentos laboratoriais

- ✓ Balança Analítica Ohaus AS2600
- ✓ Balança Analítica Marte AI200
- ✓ Béquers
- ✓ Centrífuga Eppendorf 5804R
- ✓ Centrífuga de eppendorf Revan, ciclo I
- ✓ Cânula para gavagem
- ✓ ELISA ELX 800 - Biotek
- ✓ Espectrofotômetro Spectronic 20 Genesys
- ✓ Homogeneizador de tecidos Ultra-turraz T8 e Dispergiestation T8.10 da Ika Labor Technik
- ✓ Lupa
- ✓ Máquina fotográfica digital (Sony Cybershoot, 7.2 mpx)
- ✓ Material cirúrgico
- ✓ Medidor de pH Hanna Instruments HI 8519N
- ✓ Membrana de 0,22 μm (Tipo GS, Millipore)
- ✓ Micropipetas Gilson de 10, 20, 100, 200 e 1000 μL
- ✓ Microscópio intravital Nikon
- ✓ Microscópio Óptico binocular Nikon Alphaphot 2 VS2
- ✓ Microscópio Leica acoplado a computador
- ✓ Micrótomo Olympus
- ✓ Paquímetro digital Mitotoyo
- ✓ Placas para leitora de ELISA-96 poços
- ✓ Ponteiras para pipetas automáticas Sigma
- ✓ Seringas (B-D Plastipak)

- ✓ Sonicador
- ✓ Vidrarias

5.5 Fármacos utilizados no Experimento

- ✓ Goma guar (Proveniente da Sigma-Aldrich Brasil Ltda.) e galactomanana da fava danta (Laboratório de Polímeros - LabPol);
- ✓ Etanol 50% (VETEC);
- ✓ Propargilglicina (Sigma-Aldrich);
- ✓ Glibenclamida (Sigma- Aldrich), diluída em solução de NaOH 0,01 N com 4% de glicose;
- ✓ NG-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) (Sigma- Aldrich), diluído em solução salina;
- ✓ Omeprazol (Sigma-Aldrich).

5.6 Soluções

- ✓ Solução Salina
 - ✓ Cloreto de Sódio a 0,9% estéril
 - ✓ Formol 10 %
- | | |
|-----------------------|-------|
| Formol Absoluto ----- | 10 ml |
| Água destilada ----- | 90 ml |
- ✓ Ácido tricloroacético (TCA) 100%
 - ✓ Dimetil sulfóxido (DMSO) 100%
 - ✓ Glicose 4%

Glicose ----- 4 g
 Salina 0,9% ----- 100 ml

✓ Solução de NaOH 0,01N

NaOH ----- 4g
 Água destilada ----- 1 L

✓ Solução de NaOH 0,05N

NaOH ----- 20 g
 Água destilada ----- 1 L

✓ Tampão Tris

Hidroximetil aminometano (Tris) ----- 6,1 g
 Água destilada ----- 500 ml

O pH do tampão foi acertado para 8,0

✓ EDTA 0,2 M

EDTA ----- 1,737 g
 H₂O destilada ----- 23,3 ml

✓ EDTA 0,02 M

Solução de EDTA 0,2 M ----- 10,0
 ml H₂O -----
 90,0 ml

✓ Tris 0,4 M pH 8,9

Tris ----- 4,84 g
 EDTA 0,2 M ----- 10,0 ml

H₂O destilada ----- 90,0 ml

✓ DTNB 0,01 M

DTNB ----- 13,2 mg

Metanol ----- 3,33 ml

5.7 Corantes

5.2.1 Eosina(Merck)

5.2.2 Hematoxilina (Reagen)

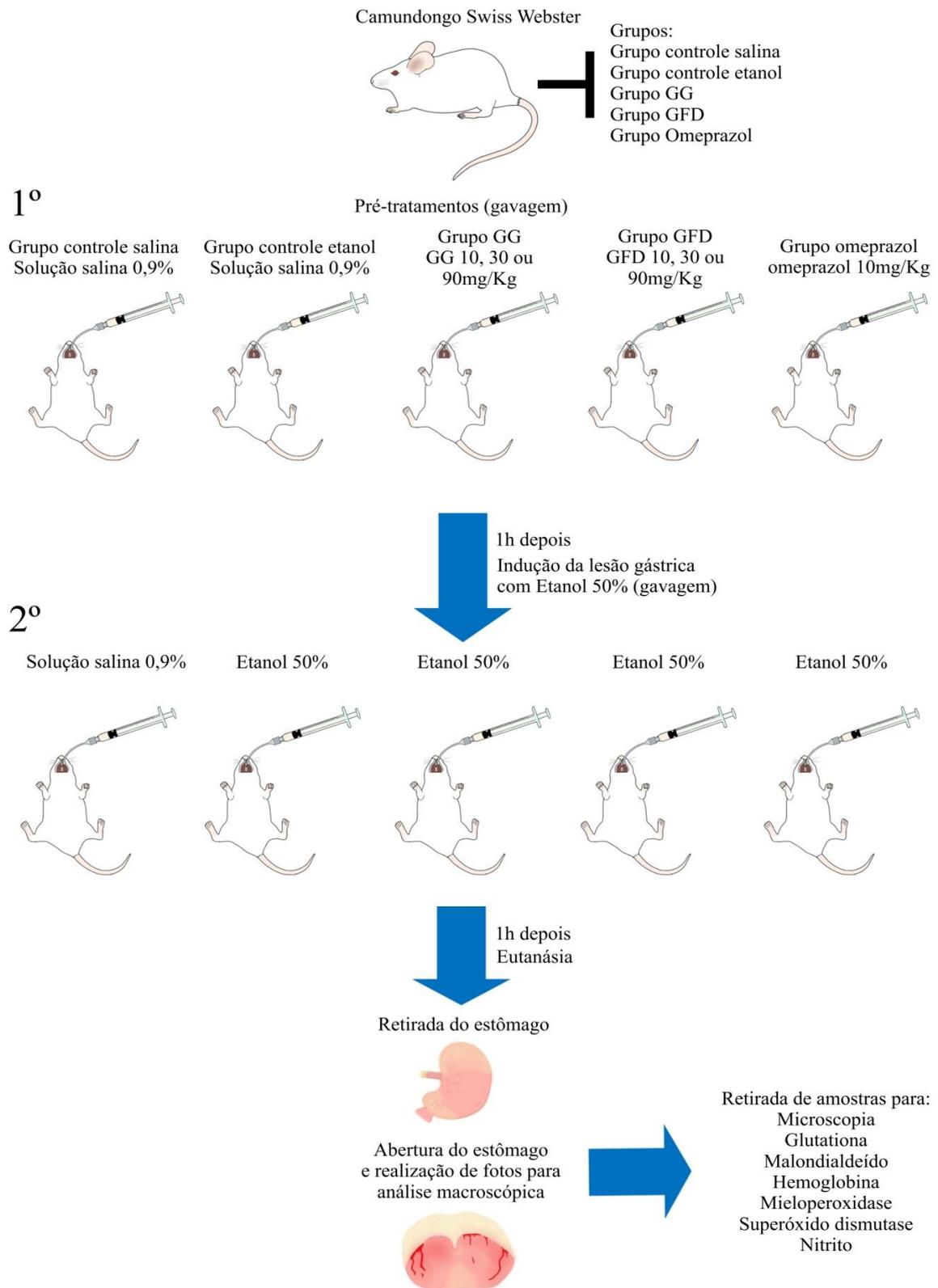
5.2.3 Reagente de cor para hemoglobina (reagente de DrabKin`s)

5.8 Efeito Gastroprotetor da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) na Lesão Gástrica Induzida por Etanol: escolha da dose

Para avaliar o efeito gastroprotetor da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) na lesão aguda por etanol seguiu-se o modelo descrito por Medeiros (2009). Os camundongos foram pré-tratados por gavagem e divididos nos seguintes grupos: Grupo controle, pré-tratado somente com salina; Goma Guar e GFD nas doses de 10; 30 (melhor dose) e 90mg/kg de acordo com o trabalho de Damasceno *et al.* (2013); e Omeprazol (10 mg/kg). Após uma hora foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g), ao término dessa hora os animais foram eutanasiados e o estômago retirado e imediatamente aberto ao longo da curvatura maior, para análise. Os estômagos foram então estirados e fotografados com uma câmera digital para posterior análise e medições das alterações macroscópicas com o auxílio de um programa de planimetria computadorizada (*Image J*®). Uma amostra da região do corpo de cada estômago foi fixada, imediatamente após a retirada, em formol 10%, e após 24 horas foram transferidas para etanol 70% para subsequentes análises histopatológicas. Outras amostras gástricas foram retiradas, pesadas e

congelas a -80°C para posterior dosagem de glutatona (SEDLAK, LINDSAY, 1968), ensaio de malondialdeído (MIHARA; UCHIYAMA, 1978), hemorragia através da determinação de hemoglobina, mieloperoxidase, superóxido dismutase e nitrito.

Figura 11 – Efeito Gastroprotetor da GG e GFD na Lesão Gástrica Induzida por Etanol: escolha da dose



Fonte: Elaborado pelo autor.

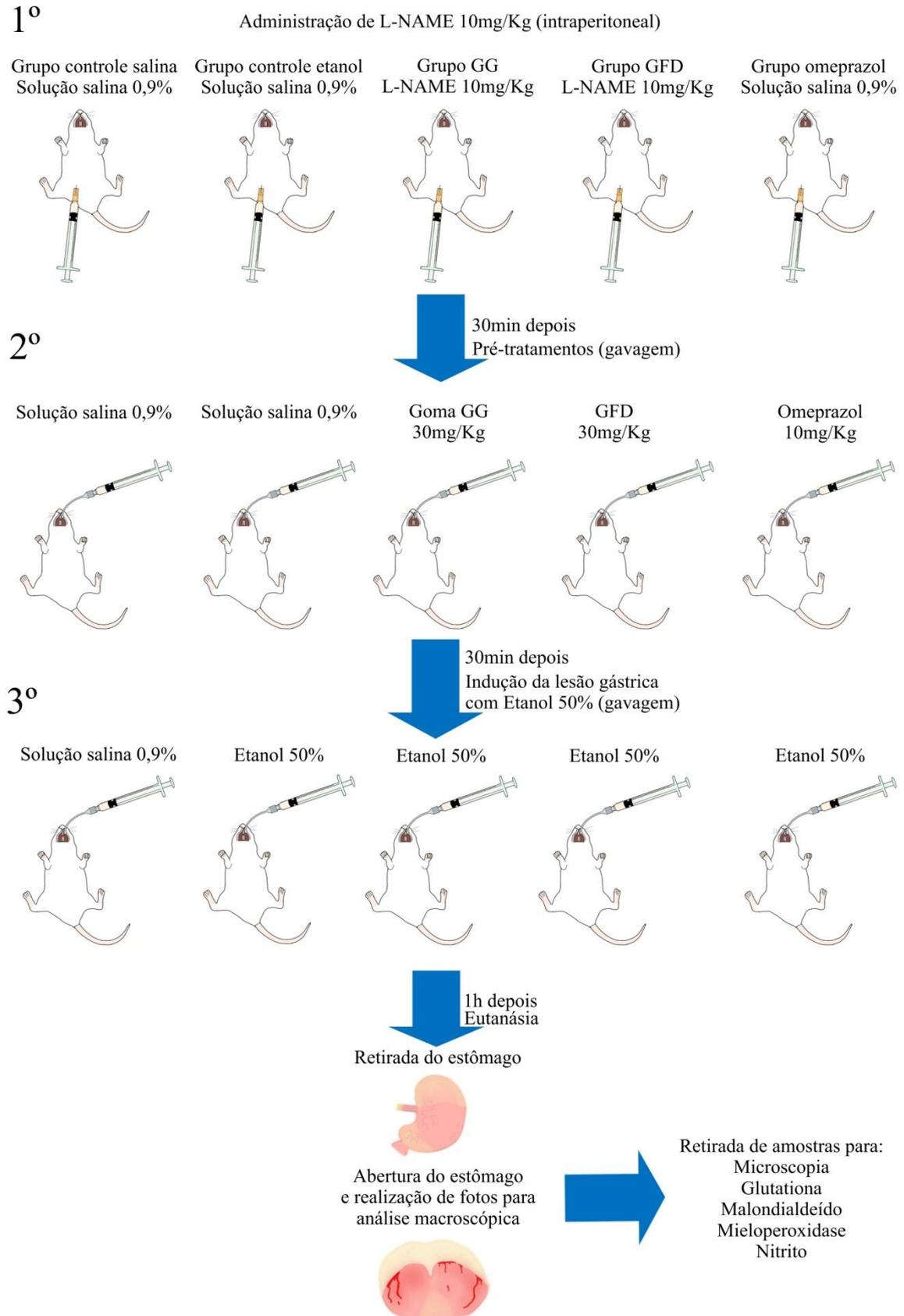
5.9 Papel do sulfeto de hidrogênio (H₂S) no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos

Os camundongos foram tratados, por via intraperitoneal com Propargilglicina (inibidor da formação do sulfeto de hidrogênio endógeno, 50mg/kg i.p.) segundo trabalho de Medeiros et al., 2009. Decorridos 1h após a aplicação do PAG, foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g, por gavagem) para induzir a lesão gástrica. Os grupos controles receberam apenas solução salina ou etanol, Goma Guar + etanol ou GFD + etanol. Uma hora após a adição de etanol, a lesão gástrica foi determinada de acordo com o método descrito na seção anterior, onde os estômagos foram fotografados com câmera digital para posterior análise das alterações macroscópicas com o uso de um programa de planimetria computadorizada (*ImageJ*).

5.10 Papel do óxido nítrico (NO) no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos

Para o estudo do papel do óxido nítrico no efeito gastroprotetor da Goma Guar e GFD, os animais foram, inicialmente, pré-tratados com L-NAME (inibidor não específico das enzimas NOS) na dose de 10mg/Kg, por via intraperitoneal de acordo com o trabalho de Damasceno *et al.* (2013). Após 30min foi administrada a Goma Guar e GFD (30mg/Kg, por gavagem). Decorridos 1h após a aplicação do L-NAME, foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g, por gavagem) para induzir a lesão gástrica. Os grupos controles receberam apenas solução salina ou etanol, Goma Guar + etanol ou GFD + etanol. Uma hora após a adição de etanol, a lesão gástrica foi determinada de acordo com o método descrito na seção anterior, onde os estômagos foram fotografados com câmera digital para posterior análise das alterações macroscópicas com o uso de um programa de planimetria computadorizada (*ImageJ*). A seguir, as amostras do estômago foram retiradas, pesadas e congeladas a -80°C para dosagem de glutathiona, malondialdeído, mieloperoxidase e nitrito. Outra amostra de tecido foi retirada e colocada em formol a 10% e após 24 horas em etanol 70% para análise microscópica.

Figura 12 – Papel do óxido nítrico no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos

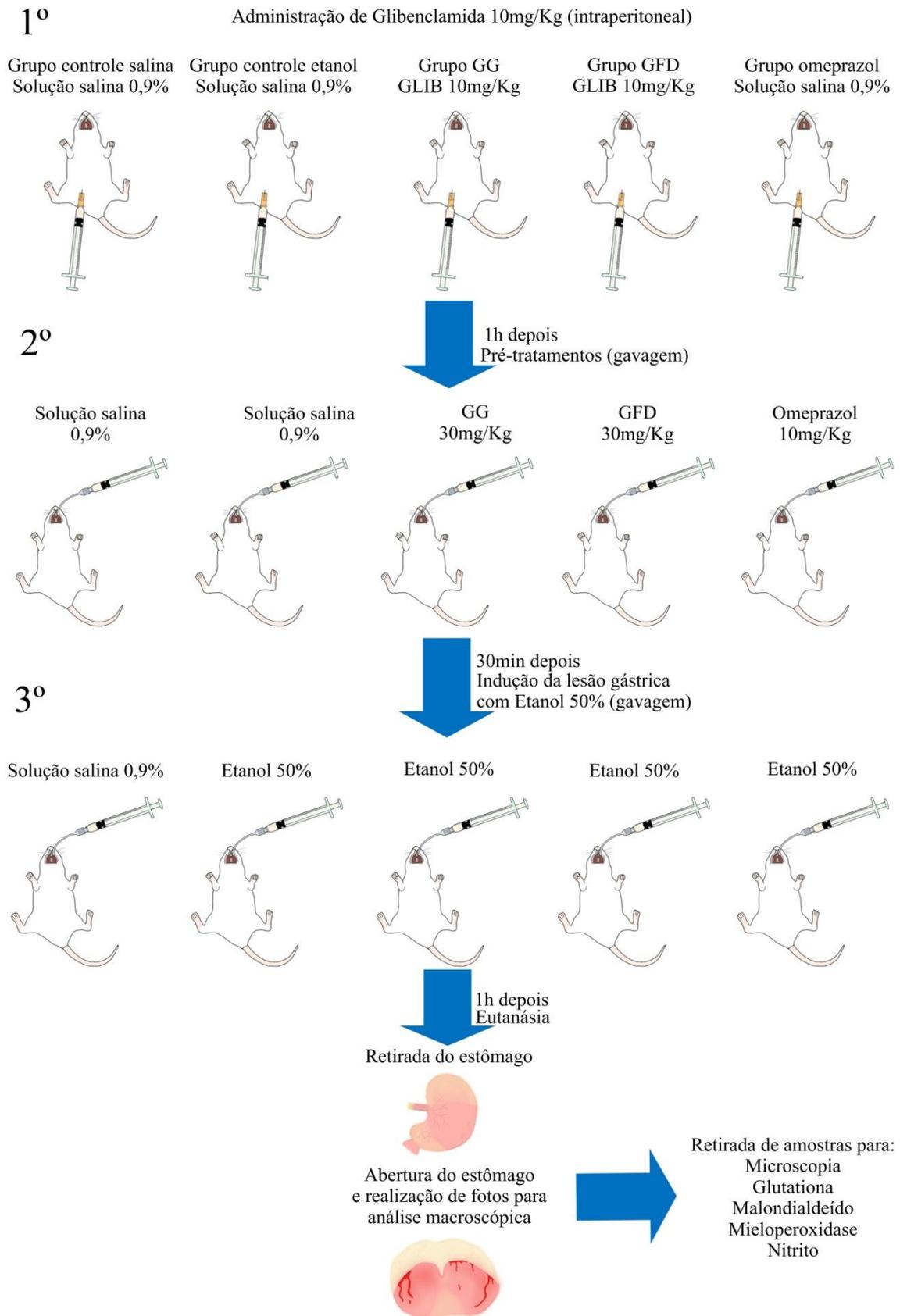


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.11 Papel dos canais de potássio ATP-dependentes no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos

Para identificar a participação dos canais de K^+ ATP-dependentes no efeito gastroprotetor da Goma Guar e GFD, os animais foram pré-tratados por via intraperitoneal, com glibenclamida (droga bloqueadora seletiva dos canais de potássio sensíveis ao ATP) na dose de 10mg/kg de acordo com o trabalho de Damasceno *et al.* (2013). A Goma Guar e GFD (30mg/kg, por gavagem) foi administrada 1h após a aplicação da glibenclamida por via intraperitoneal. A lesão gástrica foi induzida por etanol 30 minutos depois da administração da Goma Guar e GFD e os animais eutanasiados 1 hora depois. Os grupos controles receberam apenas solução salina ou etanol 50%, Goma Guar + etanol ou GFD + etanol. A intensidade gastroprotetora foi aferida como descrito anteriormente, onde uma amostra do corpo gástrico de cada animal foi retirada, pesada e congelada a $-80^{\circ}C$ até a determinação dos níveis de glutatona, malondialdeído, mieloperoxidase e nitrito. Outra amostra de tecido foi retirada e colocada em formol a 10% e após 24horas em etanol 70% para análise microscópica.

Figura 13 – Papel dos canais de potássio ATP-dependentes no efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por álcool em camundongos



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.12 Avaliação histopatológica da mucosa gástrica

Para o estudo histopatológico, uma amostra do estômago foi fixada numa solução de formol 10%, onde permaneceu por 24 horas. Em seguida as amostras foram transferidas para uma solução de etanol 70%, onde permaneceram até a realização dos procedimentos histológicos. Logo após, o material biológico foi seccionado e embebido em parafina. Foram feitos cortes de cinco micrometros, colocados numa lâmina e corados com hematoxilina-eosina para o estudo no microscópio óptico. As amostras foram avaliadas de acordo com os critérios de Laine e Weinstein (1988), sendo avaliada a perda de células epiteliais (escores de 0-3), edema na superfície da mucosa (escores de 0-4), hemorragia (escores de 0-4) e infiltração de células inflamatórias (escores de 0-3), sendo 14 o escore máximo. Toda a avaliação histopatológica foi realizada através de um estudo cego.

5.13 Análise da concentração de Glutathione

A concentração de glutathione (GSH) em amostras de tecidos do estômago foi realizada de acordo com o método descrito por Sedlak e Lindsay (1968). Para determinação dos níveis de grupos sulfidrílicos não-protéicos, uma amostra de 50 a 100mg da mucosa gástrica dos animais foi homogeneizada em 1ml de EDTA 0,02M para cada 100mg de tecido. Alíquotas de 400 μ L do homogeneizado foram misturadas a 320 μ L de água destilada e a 80 μ L de ácido tricloroacético (TCA) a 50% para precipitação de proteínas. Os tubos foram centrifugados por 15 minutos a 3.000rpm a 4°C. Um total de 400 μ L do sobrenadante foi adicionado a 800 μ L de tampão Tris 0,4M (pH 8,9) e 20 μ L de ácido ditio-nitrobenzoico DTNB (reagente de Ellman) 0,01M. A mistura foi então agitada por 3 minutos e a absorbância foi lida a 412nm em espectrofotômetro. As concentrações de grupos sulfidrílicos não-protéicos foram expressas em μ g/g de tecido.

5.14 Avaliação das concentrações de Malondialdeído (MDA)

Os níveis de malondialdeído foram determinados pelo método de Mihara e Uchiyama (1978) baseado na reação com o ácido tiobarbitúrico. Fragmentos de estômago foram homogeneizados com cloreto de potássio (KCl) gelado 1.15% para preparar 10% de homogenato. Meio mililitro (0,5ml) desse homogenato foi pipetado dentro de um tubo de

centrifuga de 10ml, 3ml de ácido fosfórico (H₃PO₄) (1%) e 1ml de uma solução aquosa de ácido tiobarbitúrico aquoso (0.6%) foram acrescentados. Os tubos foram aquecidos por 45 minutos em um banho de água fervendo e a mistura reacional foi então resfriada em um banho de água gelada, seguida da adição de 4ml de n-butanol. Os conteúdos foram misturados por 1 minuto com o auxílio de um agitador "vortex", centrifugados a 1200rpm por 10 minutos e a absorbância da camada orgânica foi mensurada em 520 e 535nm. Os resultados foram expressos em mmol/g de tecido.

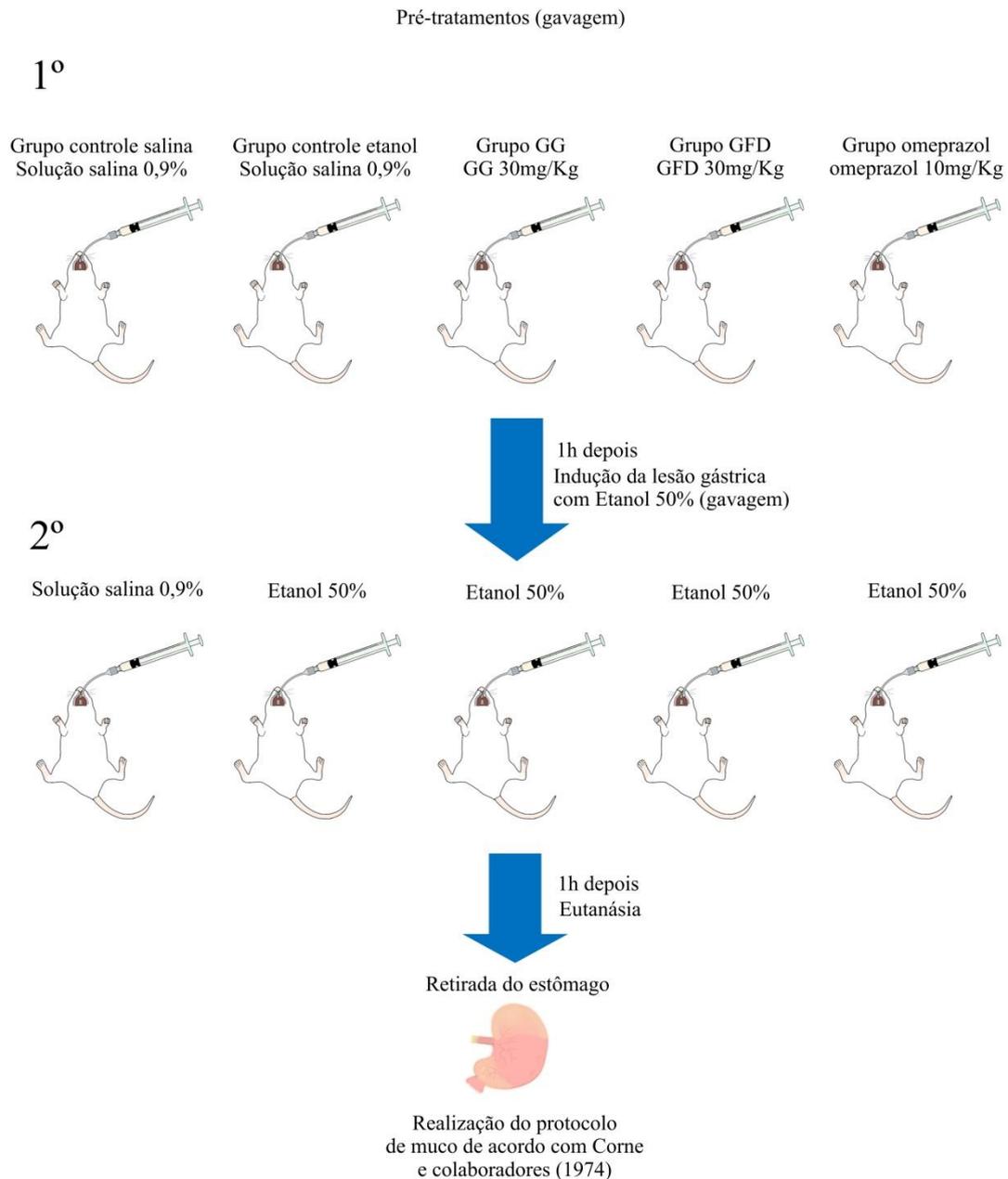
5.15 Atividade de Mieloperoxidase (MPO)

A avaliação da atividade da MPO foi determinada pelo método de Bradley, Christensen e Rothstein (1982). Resumidamente, 50-100mg de tecido foi homogeneizada em 1ml de tampão de potássio com 0,5% de hexadecitrimetilamônio (HTAB) a cada 50 mg de tecido, em seguida, centrifugado a 4.000 rpm durante 7 minutos a 4°C. A atividade de MPO no sedimento ressuspensão foi analisada através da medição da alteração na absorbância a 450 nm utilizando dicloridrato de o-dianisidina e 1% de peróxido de hidrogênio. Os resultados foram registrados como unidades de MPO por mg de tecido.

5.16 Avaliação dos níveis de muco gástrico

O muco aderido à parede gástrica no modelo de lesão gástrica induzida por etanol foi determinado de acordo com o método de Corne, Morrissey e Woods (1974). Segmentos na porção glandular dos estômagos foram coletados e pesados. Cada segmento foi transferido para uma solução de *Alcian blue* 0,1%. O excesso do corante foi removido pela submersão das amostras em solução de sacarose 0,25 M. Após essa etapa, o complexo muco-corante foi extraído pela imersão em MgCl₂ 0,5M por 2 horas. O extrato foi misturado com éter dietílico, centrifugado a 1400 g por 10 minutos, e a absorbância do sobrenadante foi medida a 598nm. A quantidade do *Alcian blue* extraído (mg/g de tecido) foi calculada usando a curva padrão de *Alcian blue*.

Figura 14 – Avaliação dos níveis de muco gástrico



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.17 Determinação da concentração de hemoglobina (Hb) na mucosa gástrica dos camundongos

A fim de quantificar a hemorragia na mucosa, foi usado um teste colorimétrico para cianometahemoglobina para determinação da concentração de hemoglobina na

mucosa gástrica. O método baseia-se na oxidação de ferro (ferro II) da molécula de hemoglobina pelo ferricianeto de potássio em pH fracamente alcalino, formando a metahemoglobina que é convertida em cianometahemoglobina após a reação com o cianeto de potássio, proporcionando uma coloração avermelhada, que é proporcional à concentração de hemoglobina presente na amostra.

No trabalho foi utilizado um kit padrão para hemoglobina (Bioclin), contendo o reagente de cor para hemoglobina (reagente de Drabkin's). Uma amostra de tecido do estômago, preparada de acordo com o item 3.6, foi homogeneizada em solução de Drabkin's (100mg de tecido/1mL de solução), sendo preparada de acordo com o fabricante (Bioclin). Logo após, as amostras foram centrifugadas a 10.000rpm por 10 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi retirado, filtrado usando um filtro de 0,22 μ m e novamente centrifugado a 10.000rpm por 10 minutos. A concentração de hemoglobina/100mg de tecido foi determinada a partir de uma curva padrão de hemoglobina, sendo a leitura feita em ELISA com a absorvância de 540nm. Os resultados foram expressos em μ g de Hb/100mg de tecido.

5.18 Dosagem de nitrito na amostra de estômago após lesão induzida por etanol em camundongos

O método é baseado na utilização do reagente de Griess que mostra a presença de nitrito na amostra por uma reação de diazotização que forma um cromóforo de cor rósea. O reagente é preparado utilizando partes iguais de Ácido fosfórico 5%, N-1-naftilenodiamina (NEED) 0,1%, Sulfanilamida 1% em ácido fosfórico 5% e Água destilada. Para realização do ensaio foi adicionado 100 μ L do sobrenadante do homogenato a 10%, feito com tampão de fosfato de potássio, em 100 μ L do reagente de Griess, para o branco foi adicionado 100 μ L do reagente em 100 μ L de tampão e para a obtenção da curva do padrão foram feitas diluições em série (100, 50, 25 12,5, 6,25, 3,12, 1,56 μ M) de nitrito. Todo o ensaio foi feito em uma placa de 96 poços e a leitura feita na faixa de absorvância de 560nm. (GREEN; GOLDMAN, 2000).

5.19 Papel da Superóxido Dismutase (SOD) no efeito antioxidante e gastroprotetor da Goma Guar e GFD em modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos

A atividade da SOD foi medida de acordo com Sun, Oberley e Li (1988). A atividade da enzima foi avaliada, mediu-se a capacidade de inibir a redução fotoquímica do azul de nitro-tetrazolio (NBT). Nesse método a riboflavina reduzida fotoquimicamente gera O_2^- o qual reduz o NBT produzindo formazan que absorve no comprimento de onda de 560nm. Na presença de SOD a redução do NBT foi inibida. Os resultados foram expressos em unidades da enzima por grama de proteína, que é a quantidade de SOD necessária para inibir a taxa de redução do NBT em 50%. O homogenato (10% em tampão fosfato) foi centrifugado (10 minutos, 3600rpm a 4°C). O sobrenadante foi retirado e centrifugado novamente (20 min, 12000rpm, 4°C).

Para o ensaio utilizou-se o sobrenadante. Numa câmara escura foram misturados 1mL do meio de reação (tampão fosfato 50mM, EDTA 100nM e L-metionina 13mM pH 7,8) 30 μ L da amostra, 150 μ L do NBT 75 μ M e 300 μ L riboflavina 2 μ M. Os tubos contendo a solução obtida serão expostos a lâmpadas fluorescentes (15W) por 15 minutos. Ao término do tempo, levou-se o material ao espectrofotômetro 560nm. A concentração de proteínas foi medida utilizando o método de Bradford (1976).

5.20 Análise estatística

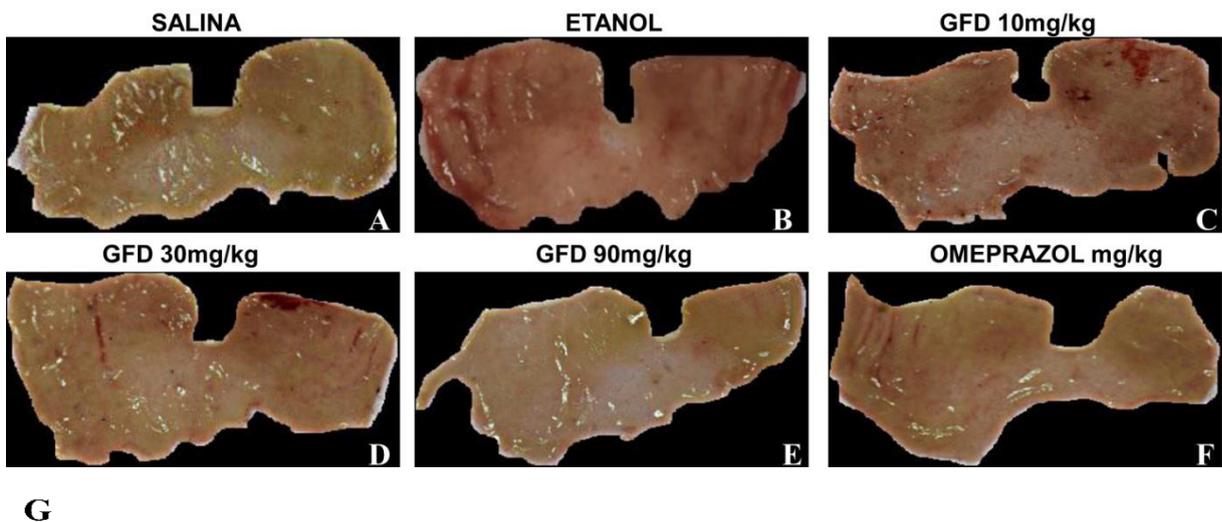
Os dados foram descritos como médias \pm SEM, conforme apropriado. A análise estatística foi determinada através do teste de análise de variância (ANOVA). Quando houve diferença significativa entre os grupos, foi realizado o teste de comparações múltiplas de Newman-Keuls. Os resultados foram expressos como média \pm SEM ou pelo valor individual de cada animal, sendo as diferenças consideradas estatisticamente significativas quando o $p < 0,05$. Utilizará o programa *GraphPad Prism* 6.0 para a realização da análise estatística.

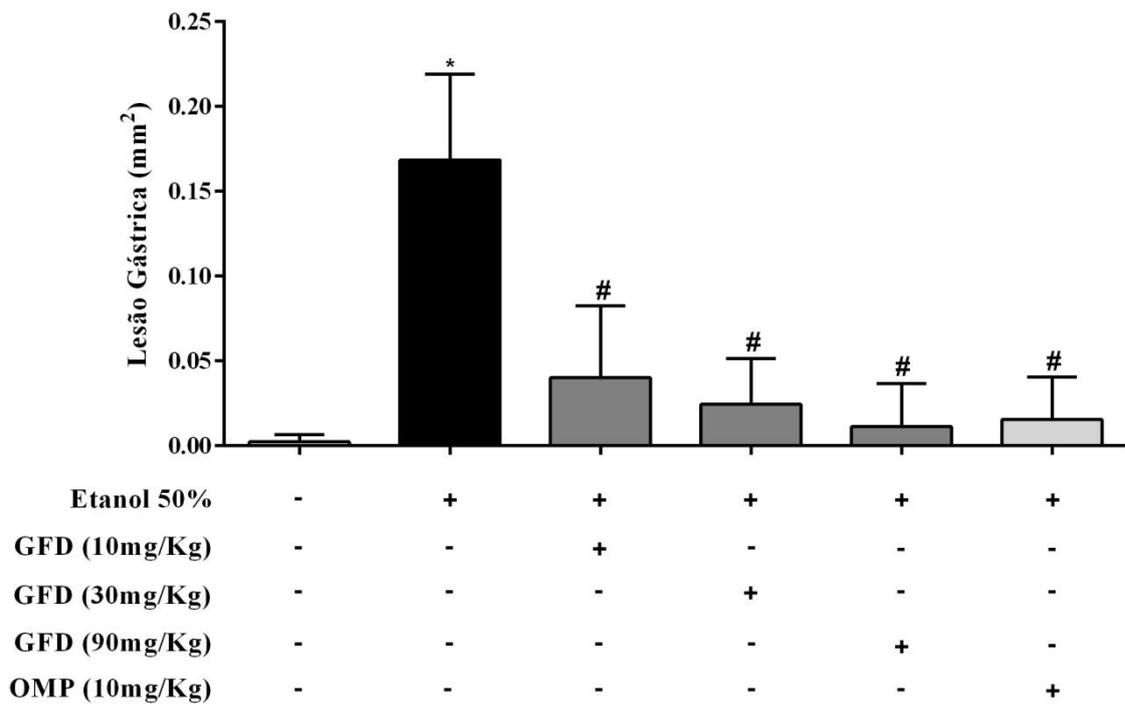
6 RESULTADOS

6.1 Efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos swiss: escolha da dose

Nas figuras 15 e 16 podemos observar que os animais tratados apenas com salina não apresentaram lesões na mucosa gástrica, enquanto os animais que receberam somente etanol tiveram grandes lesões hemorrágicas lineares na mucosa. Ainda nas figuras 15 e 16 observa-se que a Goma Guar e GFD reduziram de forma dose-dependente, as lesões provocadas pelo etanol na mucosa, com todas as doses testadas (10; 30 e 90mg/Kg de Goma Guar e GFD, por gavagem) apresentando redução significativa dessas lesões. De todas as doses de Goma Guar e GFD utilizadas no trabalho, às doses de 30 e 90mg/Kg foram as que apresentaram o maior efeito protetor na mucosa reduzindo o tamanho da lesão em média de 85%. A escolha da melhor dose (30mg/kg) se deu pelo efeito biológico similar a dose de 90mg/kg e em acordo com o trabalho de Damasceno *et al.* (2013) que utilizou um polissacarídeo no modelo de gastrite experimental por etanol 50% (0,5ml/25g), além da dificuldade de solubilização das gomas testadas para dose de 90mg/kg.

Figura 15 – GFD reduz as lesões gástricas induzidas por etanol

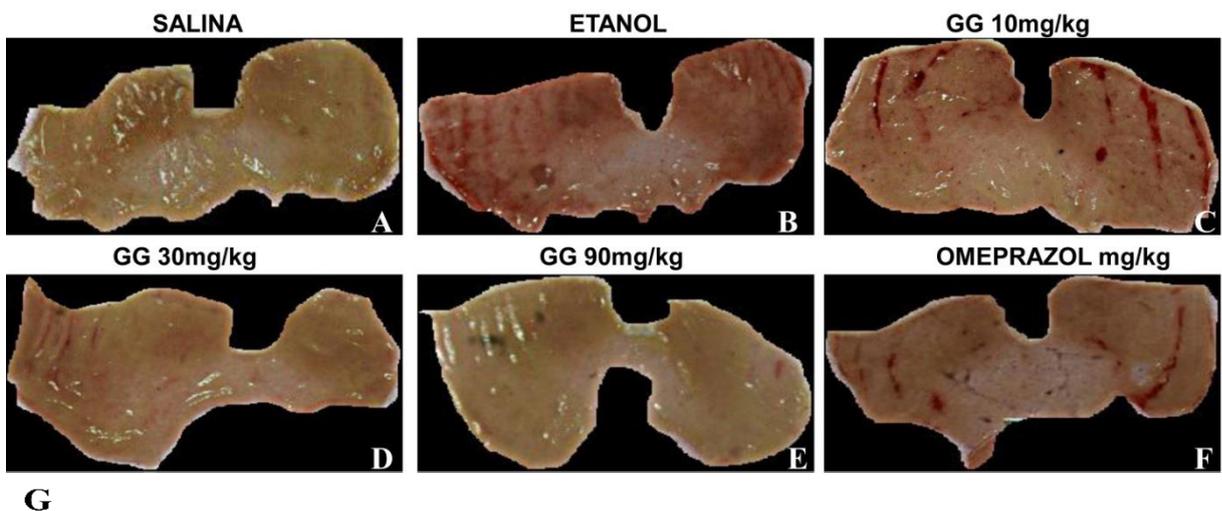


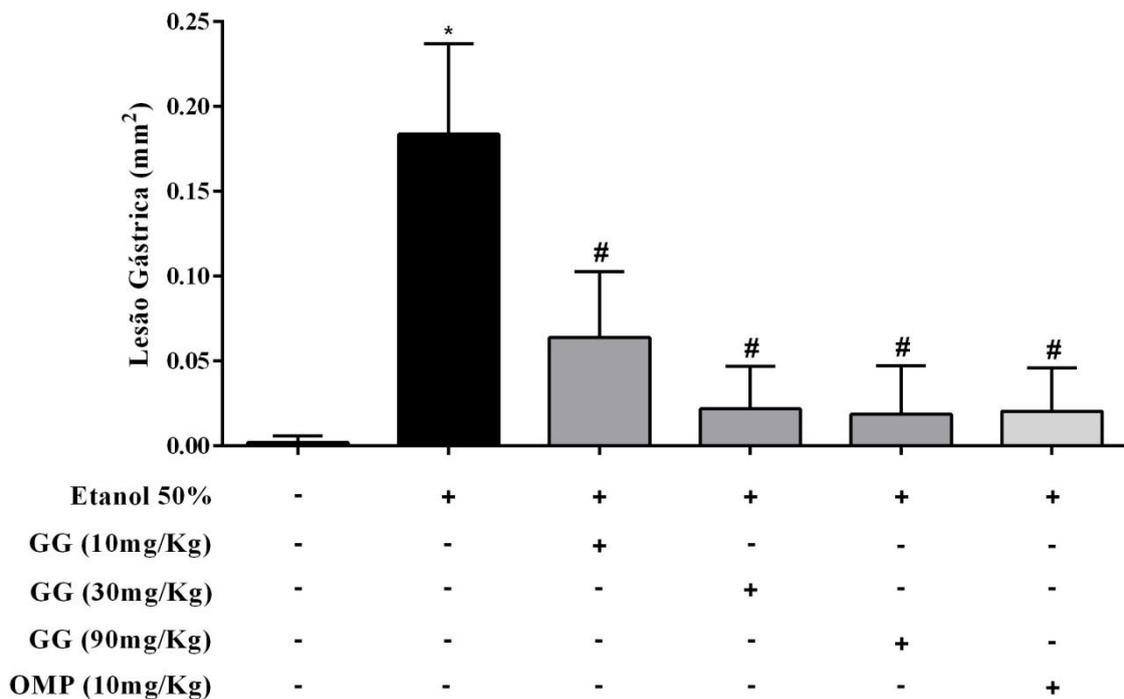


A GFD reduziu as lesões gástricas induzidas por etanol. Os camundongos foram pré-tratados, via oral, com doses 10; 30 e 90mg/Kg de GFD e após 30 minutos foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g). **A:** controle negativo (salina); **B:** controle positivo (salina + etanol); **C:** dose de 10mg/kg (55% de inibição); **D:** dose de 30mg/kg (79% de inibição); **E:** dose de 90mg/kg (91% de inibição); **F:** dose de omeprazol de 10mg/kg (80% de inibição); **G:** representação gráfica dos valores obtidos na análise macroscópica das lesões gástricas induzidas por etanol. Os dados são apresentados como média \pm SEM com $n = 5-7$ animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: # $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo lesivo (etanol); * $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 16 – Goma Guar reduz as lesões gástricas induzidas por etanol





A Goma Guar reduziu as lesões gástricas induzidas por etanol. Os camundongos foram pré-tratados, via oral, com doses 10; 30 e 90mg/Kg de Goma Guar e após 30 minutos foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g). **A:** controle negativo (salina); **B:** controle positivo (salina + etanol); **C:** dose de 10mg/kg (41% de inibição); **D:** dose de 30mg/kg (84% de inibição); **E:** dose de 90mg/kg (94% de inibição); **F:** dose de omeprazol de 10mg/kg (77% de inibição); **G:** representação gráfica dos valores obtidos na análise macroscópica das lesões gástricas induzidas por etanol. Os dados são apresentados como média \pm SEM com $n = 5-7$ animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: # $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo lesivo (etanol); * $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle.

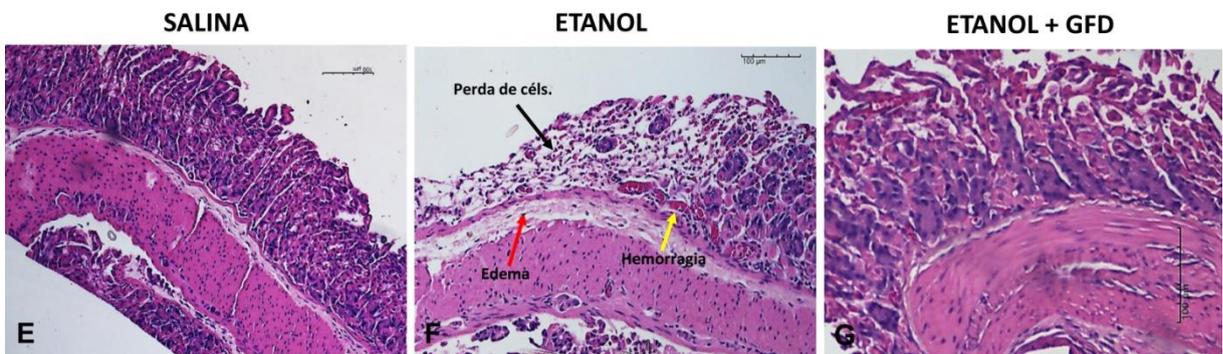
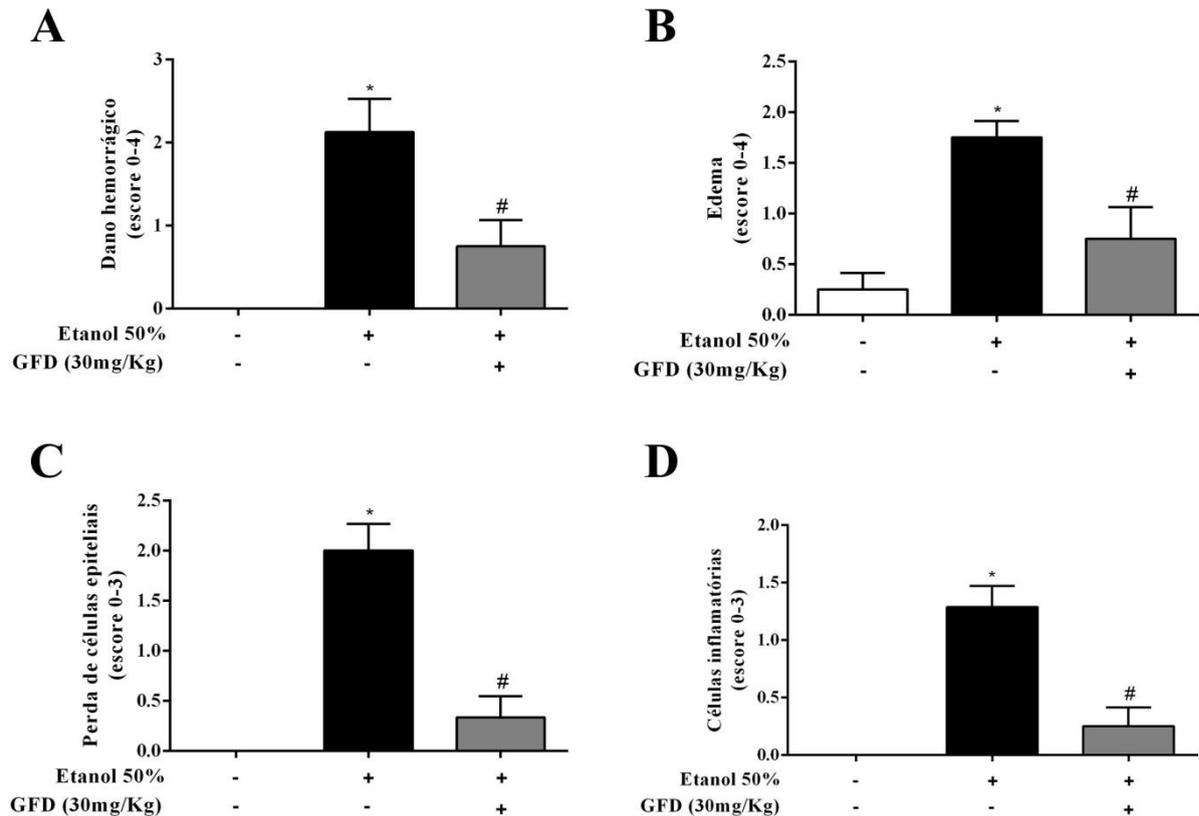
Fonte: Elaborado pelo autor.

6.2 Avaliação histopatológica da mucosa gástrica de camundongos tratados com Goma Guar, GFD e/ou etanol

A análise microscópica revelou que o etanol aumentou edema ($1,75 \pm 0,16$ escore), perda de células epiteliais ($2,0 \pm 0,26$ escore), infiltração de células inflamatórias ($1,28 \pm 0,18$ escore) e causou severos danos hemorrágicos ($2,12 \pm 0,39$ escore). Por outro lado, o pré-tratamento com GFD e GG diminuiu significativamente a infiltração de células inflamatórias ($0,25 \pm 0,163$ e $0,25 \pm 0,16$ escore, respectivamente), a formação de edema ($0,75 \pm 0,31$ e $0,25 \pm 0,16$ escore, respectivamente), a perda de células epiteliais ($0,33 \pm 0,21$ e $0,75 \pm 0,16$ escore, respectivamente) e a formação de úlceras hemorrágicas ($0,75 \pm 0,31$ e $0,75 \pm 0,31$ escore, respectivamente) induzidas pelo o etanol (Figuras 17 e 18 de A-G). Assim, a análise de ambas as descobertas macroscópica e microscópica revelou uma excelente correlação, o

que confirma a eficácia dos dois polissacarídeos.

Figura 17 – Análise histopatológica das lesões gástricas induzidas por etanol e os resultados quantitativos (scores) da análise microscópica para GFD

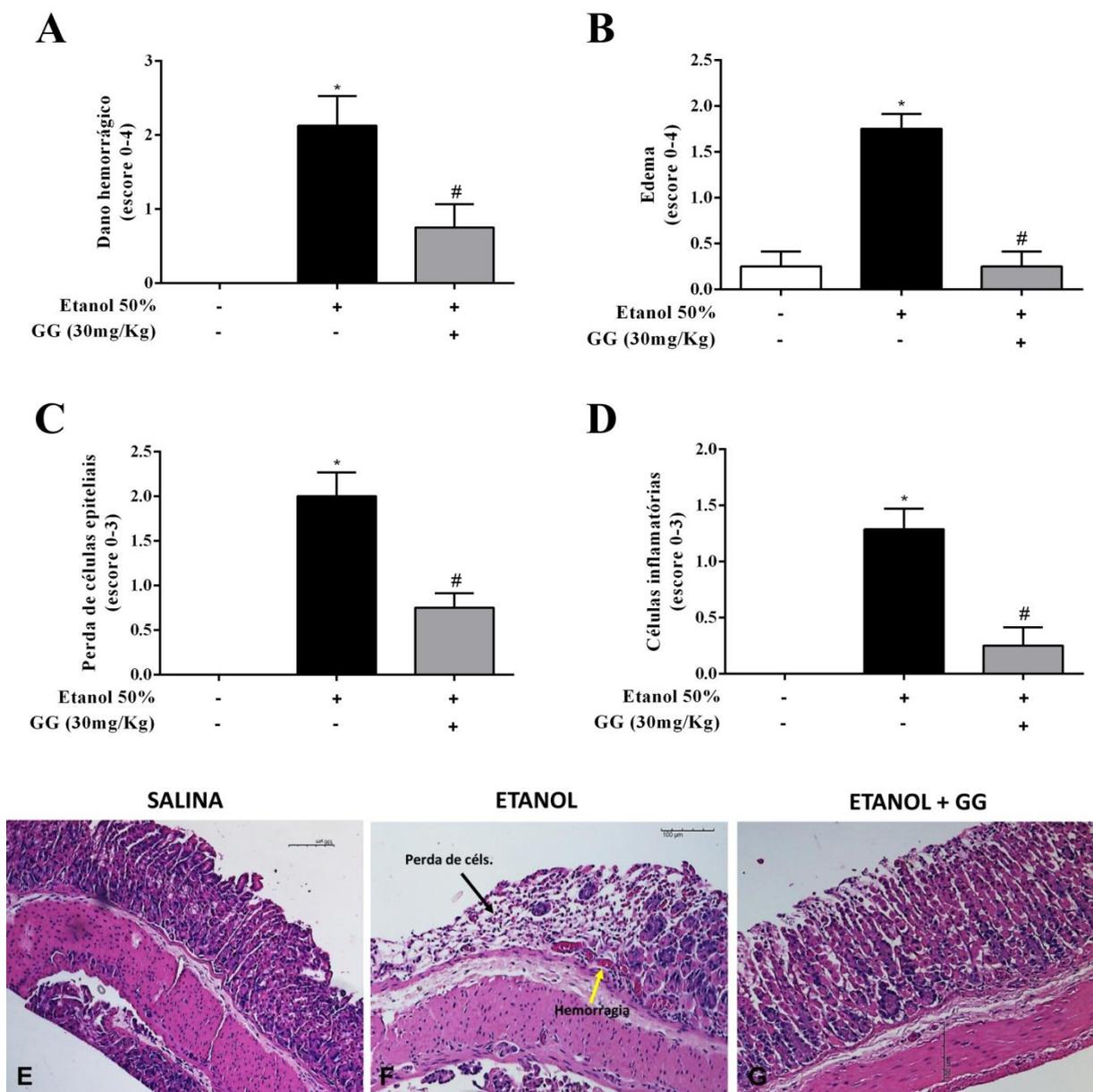


Os painéis A, B, C e D, representam os resultados quantitativos (scores) da análise microscópica nas lesões induzidas pelo o etanol. Os dados apresentados são medianos com pontuação mínima e máxima indicadas entre parênteses. **A:** o etanol causou elevada hemorragia na mucosa, sendo então revertida de forma significativa quando os animais foram pré-tratados com GFD. **B:** o etanol proporcionou o aumento do edema na mucosa gástrica, no entanto quando os animais foram pré-tratados com GFD o edema diminuiu de forma significativa. **C:** o etanol provocou uma elevada perda de células epiteliais, porém quando os animais foram pré-tratados com GFD essa perda celular diminuiu de forma significativa. **D:** o etanol aumentou o infiltrado de células inflamatórias, entretanto quando aos animais receberam o pré-tratamento com GFD, essa infiltração de células

pró-inflamatórias reduziu de forma significativa. **E:** grupo controle (salina). **F:** grupo de animais que foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g), notar a formação acentuada de edema, juntamente com uma grande perda de células epiteliais e áreas hemorrágicas. **G:** animais pré-tratados com GFD (30mg/kg), notar o efeito protetor com preservação das células epiteliais e poucas áreas hemorrágicas. Os dados são apresentados como média \pm SEM com $n = 5-7$ animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: $^{\#}P < 0,0001$ quando comparado ao grupo lesivo (etanol); $^*P < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 18 – Análise histopatológica das lesões gástricas induzidas por etanol e os resultados quantitativos (scores) da análise microscópica para GG



Os painéis A, B, C e D, representam os resultados quantitativos (scores) da análise microscópica nas lesões induzidas pelo o etanol. Os dados apresentados são medianos com pontuação mínima e máxima indicadas entre parênteses. **A:** o etanol causou elevada hemorragia na mucosa, sendo então revertida de forma significativa

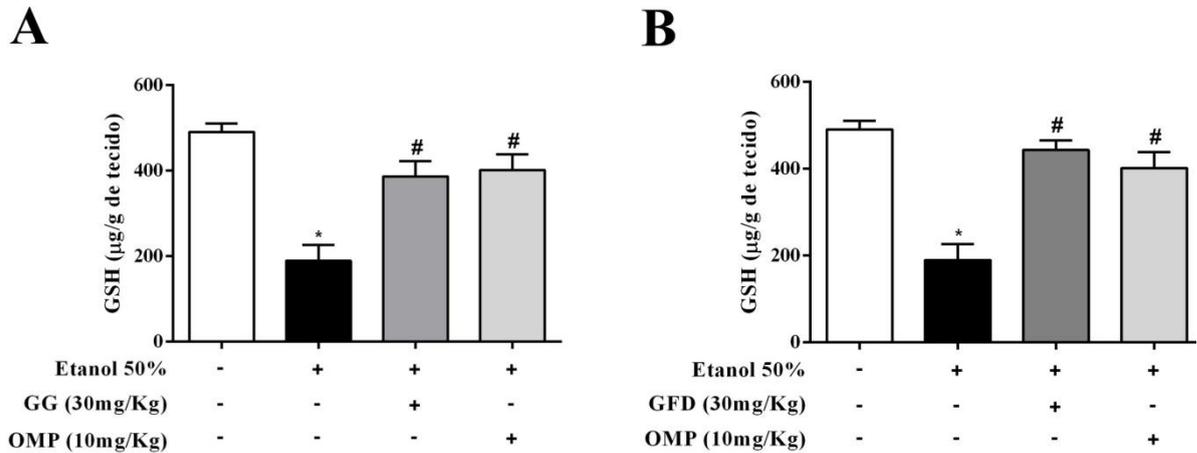
quando os animais foram pré-tratados com GG. **B:** o etanol proporcionou o aumento do edema na mucosa gástrica, no entanto quando os animais foram pré-tratados com GG o edema diminuiu de forma significativa. **C:** o etanol provocou uma elevada perda de células epiteliais, porém quando os animais foram pré-tratados com GG essa perda celular diminuiu de forma significativa. **D:** o etanol aumentou o infiltrado de células inflamatórias, entretanto quando aos animais receberam o pré-tratamento com GG, essa infiltração de células pró-inflamatórias reduziu de forma significativa. **E:** grupo controle (salina). **F:** grupo de animais que foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g), notar a formação acentuada de edema, juntamente com uma grande perda de células epiteliais e áreas hemorrágicas. **G:** animais pré-tratados com GG (30mg/kg), notar o efeito protetor com preservação das células epiteliais. Os dados são apresentados como média \pm SEM com n = 5-7 animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: #P<0,0001 quando comparado ao grupo lesivo (etanol); *P< 0,0001 quando comparado ao grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.3 Determinação dos níveis de glutathiona (GSH) na mucosa gástrica de camundongos pré-tratados com Goma Guar e GFD no curso da lesão gástrica induzida por etanol

A determinação dos grupos sulfidrílicos não proteicos na mucosa gástrica de camundongos mostrou que a administração de etanol diminuiu de forma significativa o nível gástrico de glutathiona reduzida (GSH) ($189,3 \pm 36,81 \mu\text{g/g}$ de tecido) quando comparado com o grupo controle negativo (salina) ($490,3 \pm 20,22 \mu\text{g/g}$ de tecido). Porém, o pré-tratamento dos animais com Goma Guar e GFD, manteve os níveis de GSH semelhantes aos normais ($386,4 \pm 35,93$ e $442,7 \pm 22,60 \mu\text{g/g}$ de tecido, respectivamente) quando comparado ao grupo controle negativo (salina). Quando foi administrado omeprazol, droga padrão, os níveis de GSH ($401,0 \pm 37,23 \mu\text{g/g}$ de tecido) se mantiveram próximo aos níveis normais e semelhantes aos níveis de Goma Guar e GFD (Figura 19).

Figura 19 – Determinação dos níveis de glutathiona presentes na mucosa de camundongos tratados com etanol e/ou Goma Guar, GFD e Omeprazol



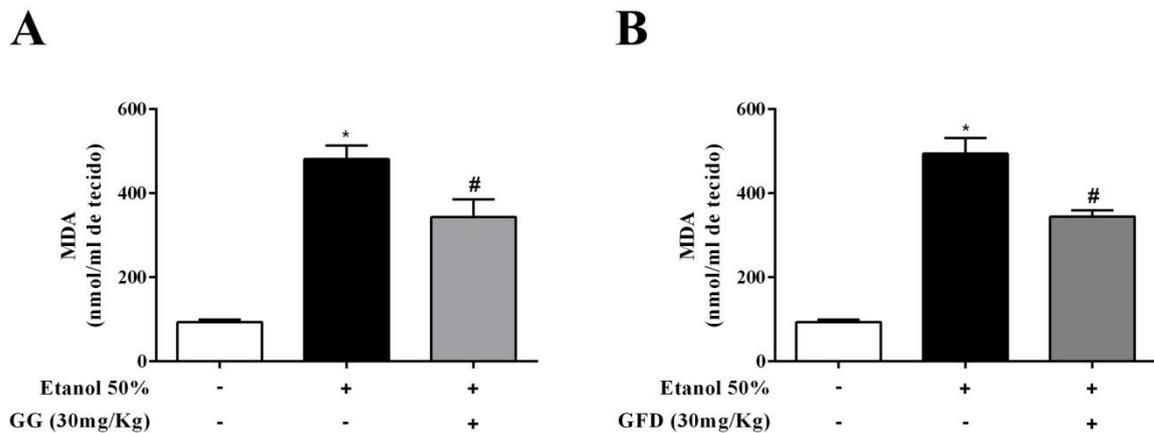
Os animais receberam por via oral Goma Guar e GFD (30mg/Kg), Omeprazol (10mg/Kg) ou salina. Após 1 hora, os animais foram tratados com etanol 50% (0,5ml/25g), também por via oral. O grupo controle foi tratado com salina ou etanol. A Goma Guar e GFD revertem a ação do etanol na diminuição dos níveis gástricos de glutathiona. Os resultados estão expressos pela média \pm SEM com n de pelo menos 7 animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: # $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo lesivo (etanol); * $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.4 Determinação da concentração de malondialdeído (MDA) na mucosa gástrica de camundongos pré-tratados com Goma Guar e GFD no curso da lesão gástrica induzida por etanol

Na figura 20 pode-se observar que a administração de etanol 50% ($481,2 \pm 31,87$ nmol/ml de tecido) provocou um aumento nos níveis de MDA na mucosa gástrica quando comparado ao grupo controle negativo (salina) ($93,68 \pm 6,01$ nmol/ml de tecido), indicando que ocorreu peroxidação de lipídios por espécies reativas de oxigênio (ROS), produzidas pelo o etanol. Porém, quando os animais foram pré-tratados com Goma Guar ($343,9 \pm 41,92$ nmol/ml de tecido) e GFD ($345,0 \pm 14,61$ nmol/ml de tecido) (30mg/kg) ocorreu uma redução dos níveis de MDA quando comparado ao grupo que recebeu somente etanol 50%.

Figura 20 – Efeito da Goma Guar e GFD em níveis de malondialdeído (MDA) em camundongos swiss com lesão gástrica induzida por etanol



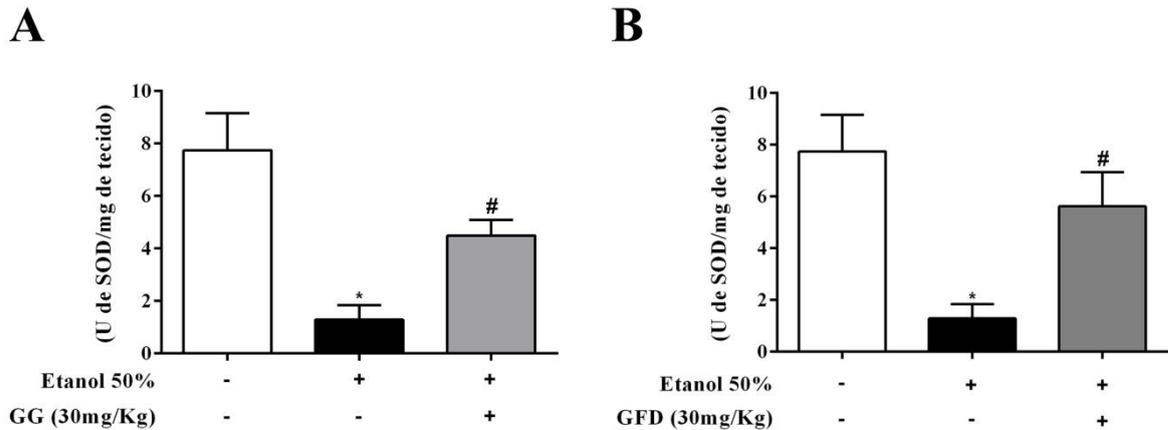
Os animais foram pré-tratados por via oral com salina (controle), com GFD e Goma Guar (30mg/kg). Após 1 h, foi administrado por via oral etanol 50% (0,5ml/25g). A Goma Guar e GFD diminuíram os níveis de malondialdeído na presença de etanol na mucosa gástrica. Os resultados são expressos como a média \pm SEM de 5-7 animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls. Diferenças significativas: # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo controle positivo (etanol); * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo sadio.

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.5 Influência da Goma Guar e GFD sobre a atividade da enzima superóxido dismutase no modelo de lesão gástrica induzida por etanol

Os animais foram previamente tratados apenas com veículo (Salina) antes de receber o etanol 50% (0,5ml/25g). A atividade da SOD quantificada foi (uSOD/mg de proteína $p < 0,05$), valor inferior ao observado nos animais sadios (uSOD/mg de Proteína, $p < 0,05$). A atividade da SOD foi aumentada com a administração prévia da Goma Guar ($4,49 \pm 0,6$ uSOD/mg de Proteína) e GFD ($5,62 \pm 1,32$ uSOD/mg de Proteína) na dose de 30mg/Kg, v.o. (uSOD/mg de Proteína, $p < 0,05$) antes dos animais receberem etanol ($1,28 \pm 0,55$ uSOD/mg de Proteína), quando comparado ao grupo tratado apenas com veículo ($7,74 \pm 1,41$ uSOD/mg de Proteína) (Figura 21).

Figura 21 – Influência da Goma Guar e GFD sobre a atividade da enzima superóxido dismutase no modelo de lesão gástrica induzida por etanol



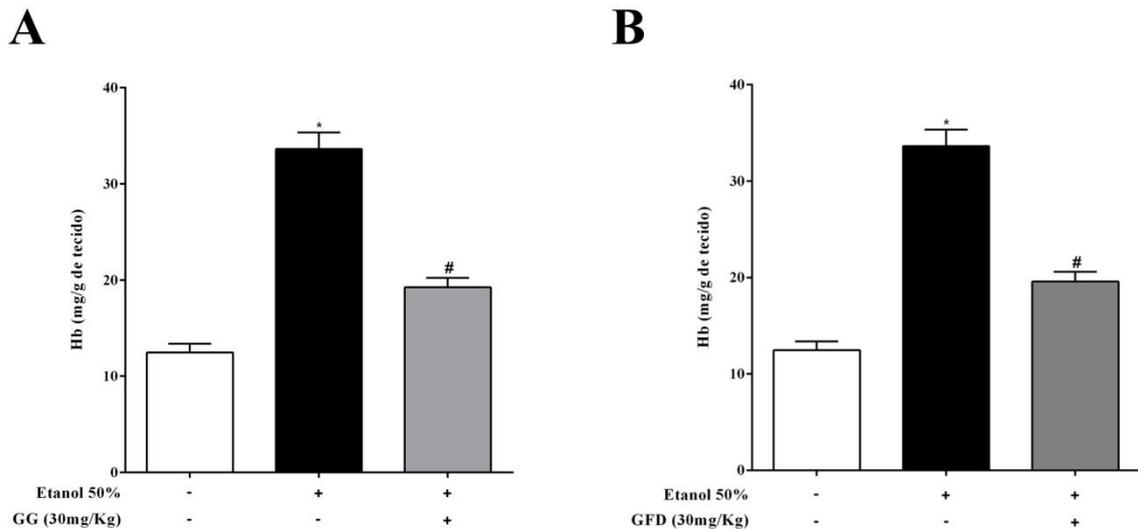
Os animais foram pré-tratados por via oral com salina (controle), com GFD e Goma Guar (30mg/kg). Após 1 h, foi administrado por via oral etanol 50% (0,5ml/25g). A Goma Guar e GFD favoreceram a ação da enzima superóxido dismutase na presença de etanol na mucosa gástrica. Os resultados são expressos como a média \pm SEM de 5-7 animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls. Diferenças significativas: # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo controle positivo (etanol); * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo sadio.

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.6 Determinação dos níveis de hemoglobina na mucosa gástrica de camundongos tratados com Goma Guar, GFD e/ou etanol

Como verificado nas lesões macroscópicas, a administração de etanol ($33,62 \pm 1,73$ mg/g de tecido) aumentou em níveis de hemoglobina na mucosa gástrica, indicando que houve hemorragia nesse tecido, se comparado com o grupo controle negativo (salina) ($12,47 \pm 0,9$ mg/g de tecido) (Figura 22). Entretanto, nos animais previamente tratados com Goma Guar ($19,26 \pm 0,96$ mg/g de tecido) e GFD ($19,58 \pm 1,01$ mg/g de tecido) na dose de 30mg/Kg, houve uma redução dos níveis de hemoglobina significativa ($p < 0,05$). Assim, esses resultados mostram que a Goma Guar e a GFD reduzem a lesão hemorrágica provocada pelo etanol no estômago.

Figura 22 – Determinação dos níveis de hemoglobina presentes na mucosa de camundongos tratados com álcool e/ou Goma Guar e GFD



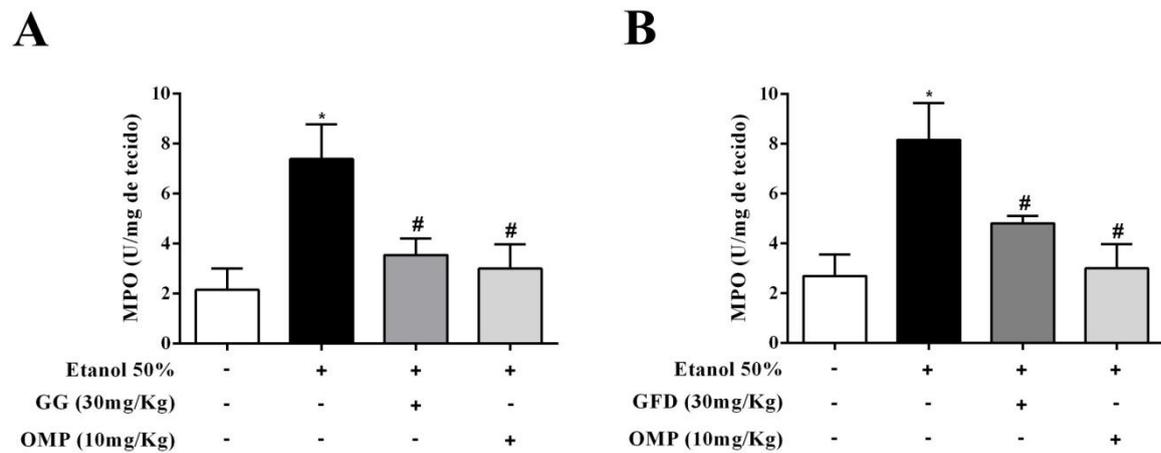
Os animais receberam por via oral Goma Guar e GFD (30mg/Kg) ou salina. Após 1 hora, os animais foram tratados com etanol 50% (0,5ml/25g) também por via oral. A Goma Guar e GFD revertem o aumento do nível gástrico de hemoglobina causado pelo etanol. Os dados são apresentados como média \pm SEM com n = 5-7 animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: #P<0,0001 quando comparado ao grupo lesivo (etanol); *P< 0,0001 quando comparado ao grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.7 Avaliação da atividade da Mieloperoxidase (MPO) no efeito gastroprotetor da Goma e GFD em modelo de lesão gástrica induzida por etanol

Os resultados obtidos na atividade de mieloperoxidase (MPO) foram: O grupo lesivo (etanol) ($7,38 \pm 1,38$ U/mg de tecido) aumentou a infiltração neutrofílica, e, por consequência disso, os níveis de MPO foram mais elevados quando comparado ao grupo controle negativo ($2,14 \pm 0,85$ U/mg de tecido). No entanto, quando os animais foram tratados com Goma Guar ($3,54 \pm 0,66$ U/mg de tecido) e GFD ($4,8 \pm 0,29$ U/mg de tecido) os níveis de MPO reduziram de forma significativa. O grupo que foi tratado com omeprazol ($2,99 \pm 0,97$ U/mg de tecido) reduziram de forma significativa os níveis de MPO quando comparado ao grupo lesivo (Figura 23).

Figura 23 – Efeito da GG e GFD no ensaio de atividade de MPO em lesões gástricas induzidas por etanol 50%



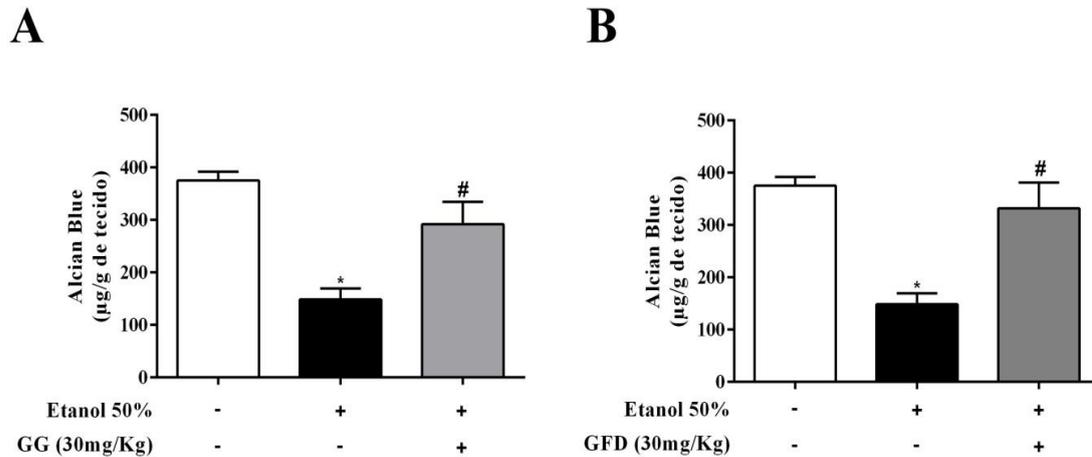
Os animais foram pré-tratados por via oral com salina (controle), com GFD e Goma Guar (30mg/kg) ou com Omeprazol (10mg/kg). Após 1 h, foi administrado por via oral etanol 50% (0,5ml/25g). A Goma Guar e GFD inibiram o aumento de mieloperoxidase causado pelo etanol na mucosa gástrica. Os dados são apresentados como média \pm SEM com $n = 5-7$ animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: # $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo lesivo (etanol); * $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.8 Avaliação dos Níveis de Muco Gástrico

Os níveis de muco gástrico também foram avaliados no referido trabalho (Figura 24). Os resultados observados foram: o grupo lesivo (etanol) ($148,6 \pm 21,07 \mu\text{g/g}$ de tecido) diminuiu de forma significativa os níveis de muco quando comparado ao grupo controle (salina) ($375,3 \pm 16,99 \mu\text{g/g}$ de tecido); no entanto, quando os animais foram tratados com Goma Guar ($291,8 \pm 42,86 \mu\text{g/g}$ de tecido) e GFD ($331,8 \pm 49,8 \mu\text{g/g}$ de tecido) (30mg/Kg), os níveis de muco se elevaram de forma significativa quando comparado ao grupo lesivo.

Figura 24 – Efeito do pré-tratamento com Goma Guar e GFD na gastroproteção por avaliação dos níveis de muco nas lesões gástricas induzidas por etanol 50%



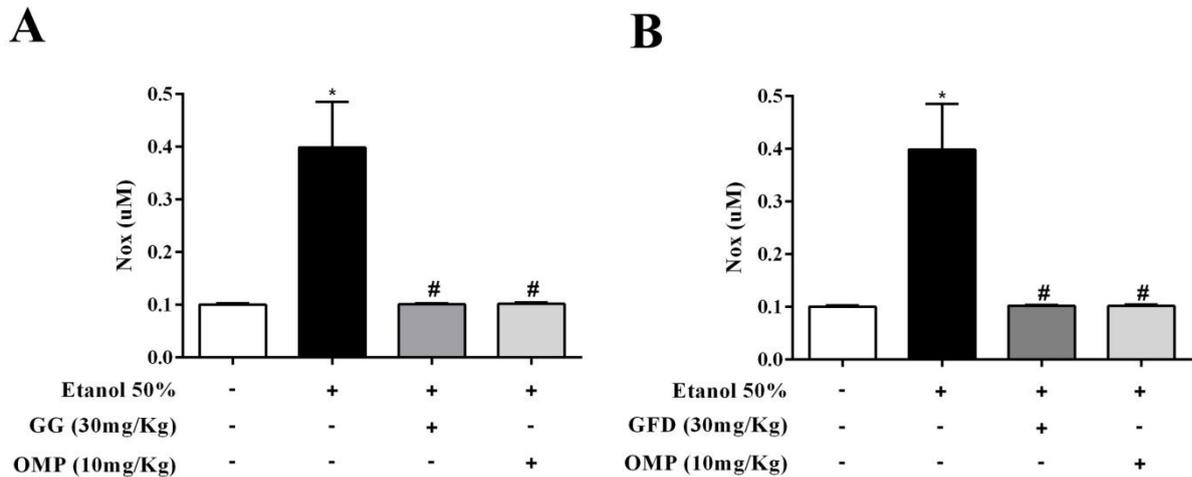
Os animais foram pré-tratados por via oral com salina, Goma Guar ou GFD (30mg/Kg), depois de uma hora foi administrado etanol. A Goma Guar e GFD revertem a inibição de muco gástrico causada por etanol. Os dados são apresentados como média \pm SEM com $n = 5-7$ animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: # $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo lesivo (etanol); * $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.9 Quantificação de nitrito no efeito gastroprotetor da Goma Guar e GFD

Os animais foram previamente tratados apenas com veículo (Controle) antes de receber etanol. A quantidade de nitrito foi significativamente menor que nos animais tratados com salina ($0,1 \pm 0,0 \mu\text{M}$). Os tratamentos com Goma Guar ($0,1 \pm 0,0 \mu\text{M}$), GFD ($0,1 \pm 0,0 \mu\text{M}$) (30mg/Kg) e Omeprazol (10mg/Kg) ($0,1 \pm 0,0 \mu\text{M}$) causaram alterações significativas na quantidade de Nitrito em comparação com os animais controle positivo (Etanol + Salina) ($0,39 \pm 0,03 \mu\text{M}$) (Figura 25).

Figura 25 – Efeito da Goma Guar e GFD sobre a quantidade de Nitrito no modelo de lesão gástrica induzida por etanol



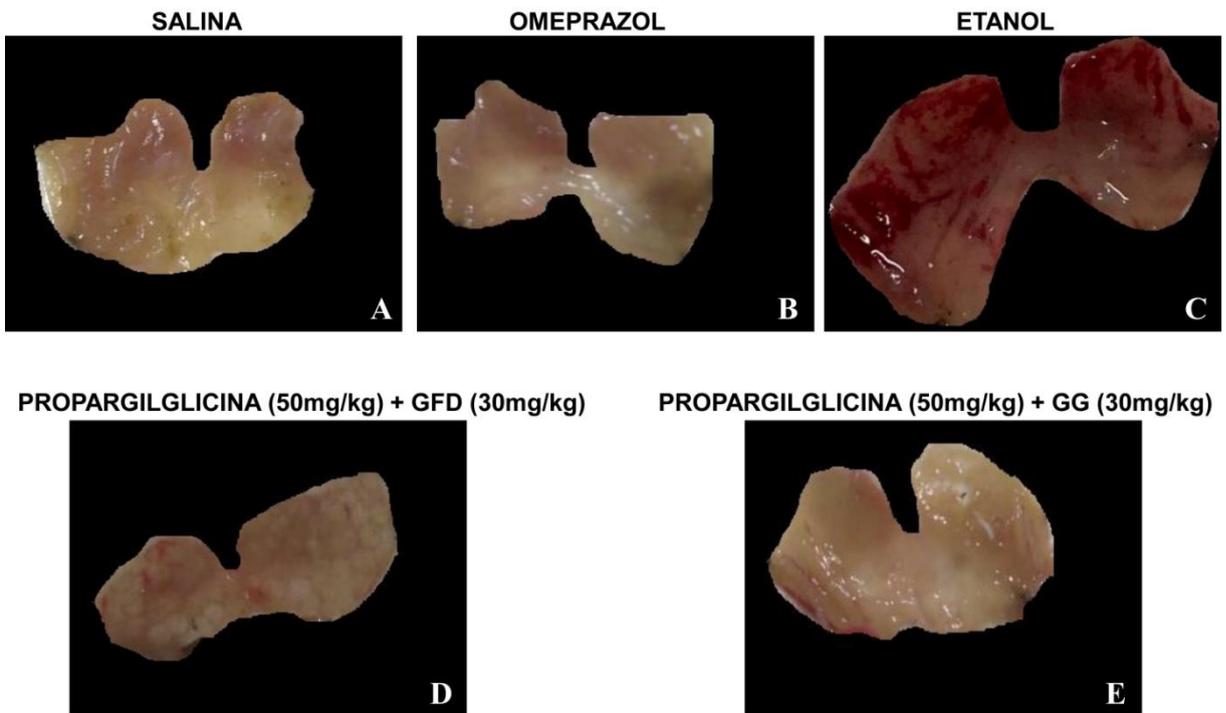
Os animais foram pré-tratados por via oral com salina (controle), com GFD e Goma Guar (30mg/kg) ou com Omeprazol (10mg/kg). Após 1 h, foi administrado por via oral etanol 50% (0,5ml/25g). A Goma Guar e GFD inibiram o aumento de nitrito causado pelo etanol na mucosa gástrica. Os dados são apresentados como média \pm SEM com $n = 5-7$ animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo lesivo (etanol); * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

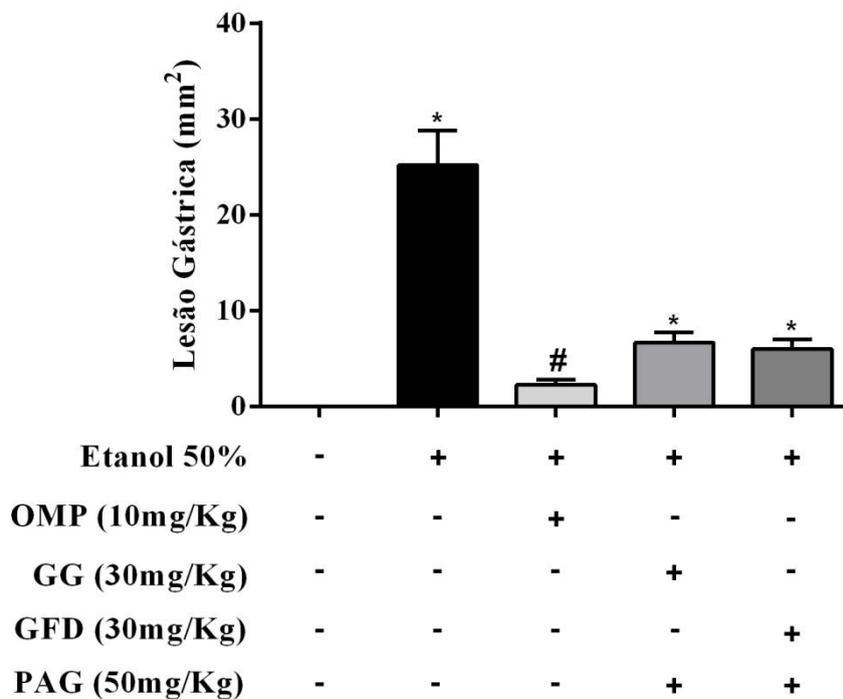
6.10 Determinação da via de sinalização relacionada ao efeito gastroprotetor da Goma Guar e GFD:

Diante dos resultados já apresentados objetivou-se determinar a possível via de sinalização que está proporcionando o efeito gastroprotetor da Goma Guar e GFD através do pré-tratamento com Propargilglicina (PAG, inibidor da formação do sulfeto de hidrogênio endógeno, 50mg/kg i.p.) segundo trabalho de Medeiros et al., 2009, N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME, inibidor da NOS não seletivo, 10mg/kg i.p.) e Glibenclamida (antagonista dos canais de potássio, 10mg/kg, i.p.) de acordo com o trabalho de Damasceno *et al.* (2013). Os resultados da avaliação macroscópica foram expressos abaixo (Figuras 26; 27 e 28):

Figura 26 – Avaliação macroscópica na inibição da formação de sulfeto de hidrogênio endógeno



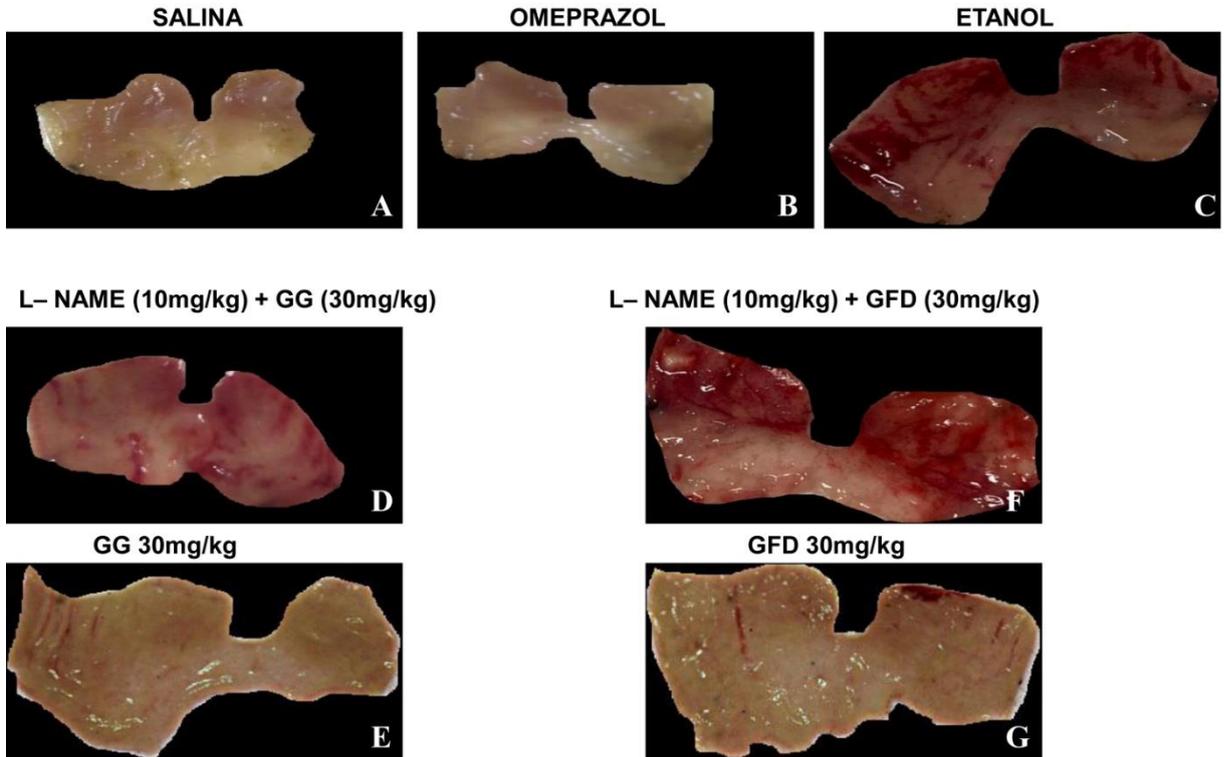
F



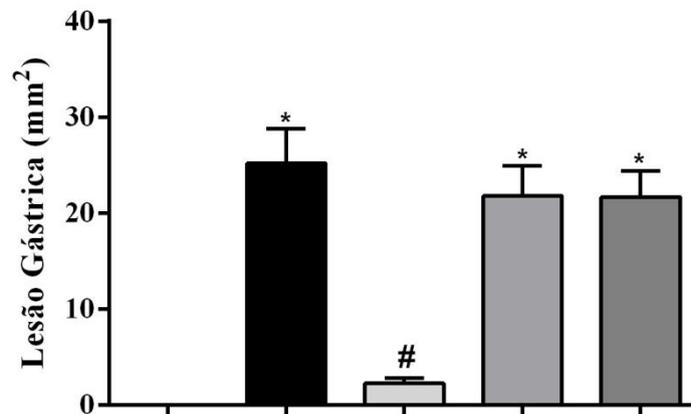
Os animais foram pré-tratados por via oral com salina (controle), com GFD e Goma Guar (30mg/kg), Omeprazol (10mg/kg) ou Propargilglicina (50mg/kg). Após 1 h, foi administrado por via oral etanol 50% (0,5ml/25g). A Goma Guar e GFD apresentaram efeito protetor contra lesão gástrica causada por etanol independente da via do sulfeto de hidrogênio. Os dados são apresentados como média \pm SEM com n = 5-8 animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman-Keuls, diferenças significativas: #P<0,05 quando comparado ao grupo lesivo (etanol); *P< 0,05 quando comparado ao grupo controle.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 27 – Avaliação macroscópica na inibição da NOS



H



Etanol 50% - + + + +

OMP (10mg/Kg) - - + - -

GG (30mg/Kg) - - - + -

GFD (30mg/Kg) - - - - +

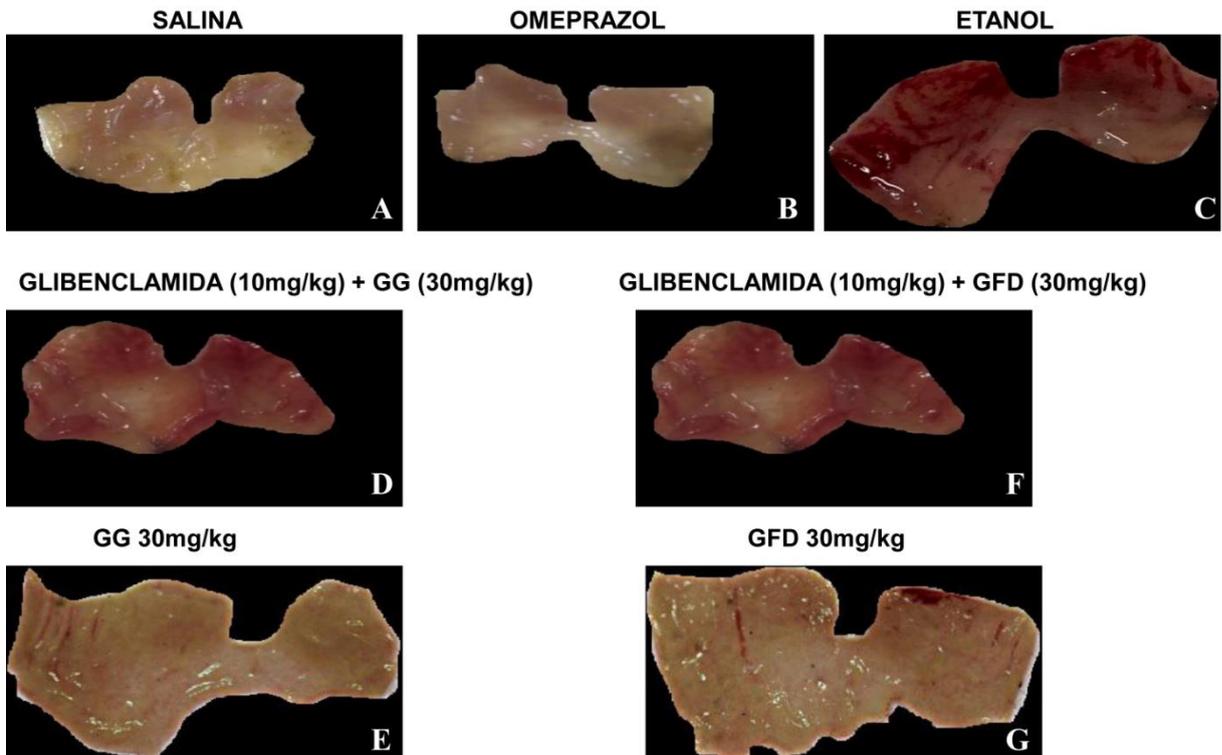
L-NAME (10mg/Kg) - - - + +

Os animais foram pré-tratados por via oral com salina (controle), com GFD e Goma Guar (30mg/kg), Omeprazol (10mg/kg) ou L-NAME (10mg/kg). Após 1 h, foi administrado por via oral etanol 50% (0,5ml/25g). A Goma Guar e GFD apresentaram envolvimento com a via do óxido nítrico no efeito protetor contra lesão gástrica causada por etanol. Os dados são apresentados como média \pm SEM com n = 5-8 animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman Keuls, Diferenças significativas: *P < 0,05 quando comparado ao grupo controle (salina), #P < 0,05 quando comparado ao grupo

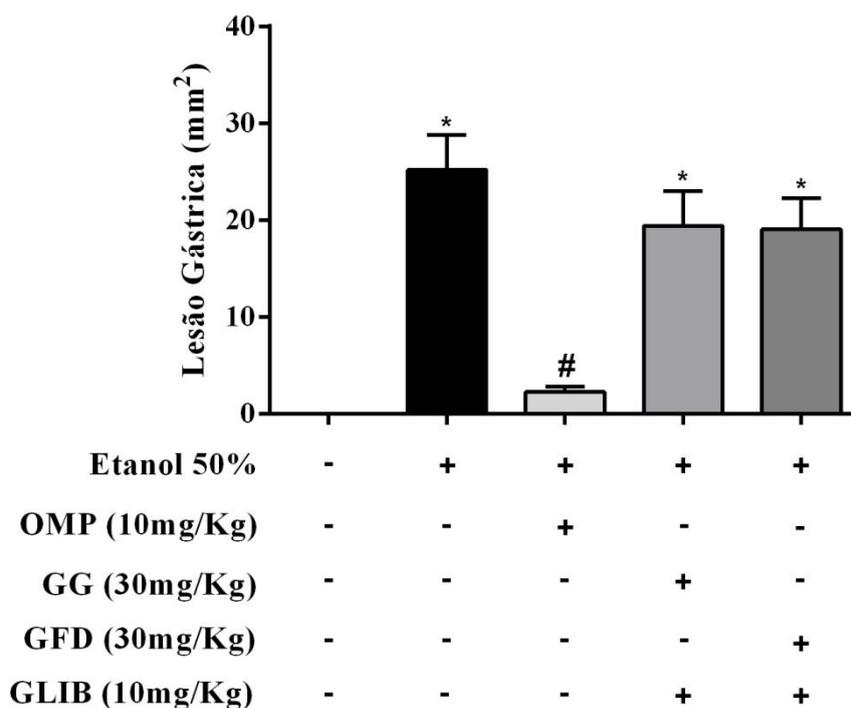
controle lesivo (etanol), não ocorrendo diferença ($P>0,05$) significativa entre os grupos tratados com os polissacarídeos e o inibidor comparado ao grupo lesivo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 28 – Avaliação macroscópica na inibição do antagonista dos canais de potássio



H



Os animais foram pré-tratados por via oral com salina (controle), com GFD e Goma Guar (30mg/kg),

Omeprazol (10mg/kg) ou Glibenclamida (10mg/kg). Após 1 h, foi administrado por via oral etanol 50% (0,5ml/25g). A Goma Guar e GFD apresentaram envolvimento com a ativação dos canais de K_{ATP} no efeito protetor contra lesão gástrica causada por etanol. Os dados são apresentados como média \pm SEM com $n = 5-8$ animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman Keuls, Diferenças significativas: * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo controle (salina), # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo controle lesivo (etanol), não ocorrendo diferença ($P > 0,05$) significativa entre os grupos tratados com os polissacarídeos e o inibidor comparado ao grupo lesivo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Na avaliação dos resultados da macroscópica verificou-se que o PAG não reverteu o efeito gastroprotetor dos polissacarídeos indicando que a via do sulfeto de hidrogênio não está relacionada com o efeito de proteção da mucosa gástrica da Goma Guar e GFD.

Após os resultados favoráveis demonstrando o NO e a abertura dos canais de K_{ATP} como mecanismos relacionados à gastroproteção da Goma Guar e GFD realizou-se a avaliação individual das duas vias de sinalização com a percepção de contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento e profilaxia da lesão gastrintestinal provocada pelo etanol.

Com o objetivo de se avaliar o papel do óxido nítrico endógeno na proteção da mucosa gástrica, foi usado o L-NAME, que é um inibidor das enzimas NOS. O pré-tratamento dos animais com L-NAME na dose de 10mg/kg reverteu totalmente o efeito protetor da Goma Guar e GFD na lesão gástrica induzida por etanol, tanto macroscopicamente quanto microscopicamente.

O presente trabalho comparou o envolvimento dos canais de potássio na gastroproteção da Goma Guar e GFD. Observando que mais uma vez a administração de etanol 50% (0,5ml/25g) causou grandes lesões na mucosa gástrica, efeito este bastante atenuado pela Goma Guar e GFD. Também se verifica que o bloqueio dos canais de potássio pela glibenclamida, na dose de 10mg/kg, aumentou significativamente os danos no estômago induzido pelo etanol, revertendo o efeito protetor dos polissacarídeos.

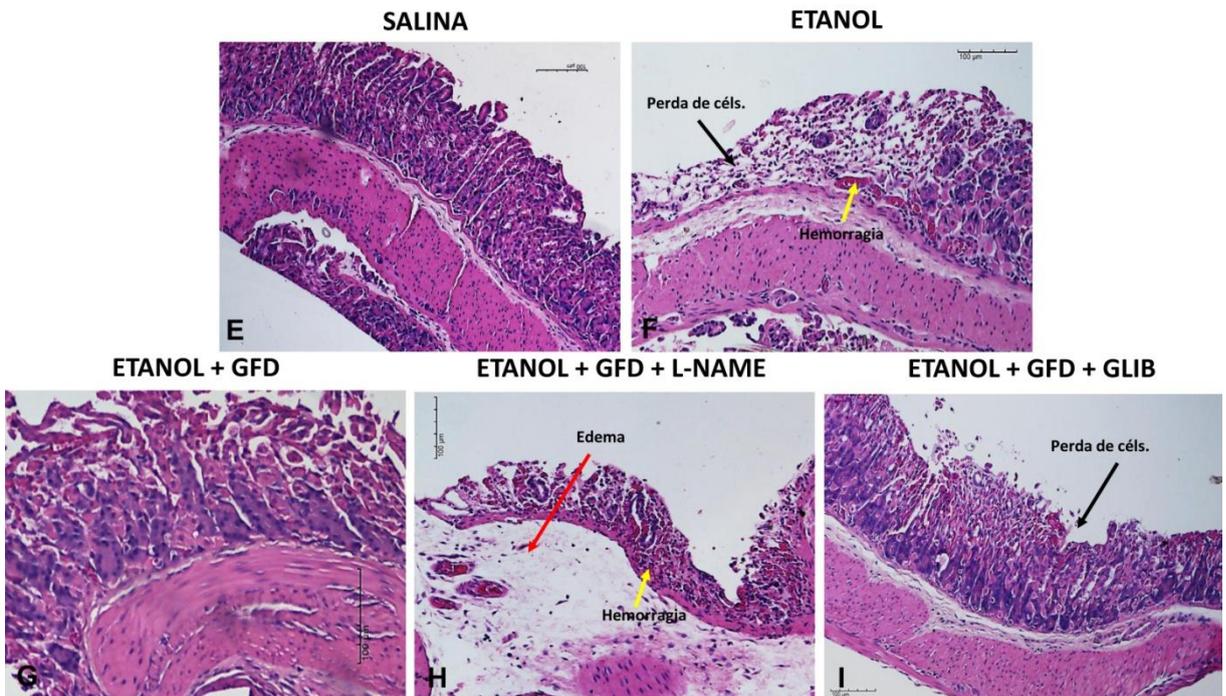
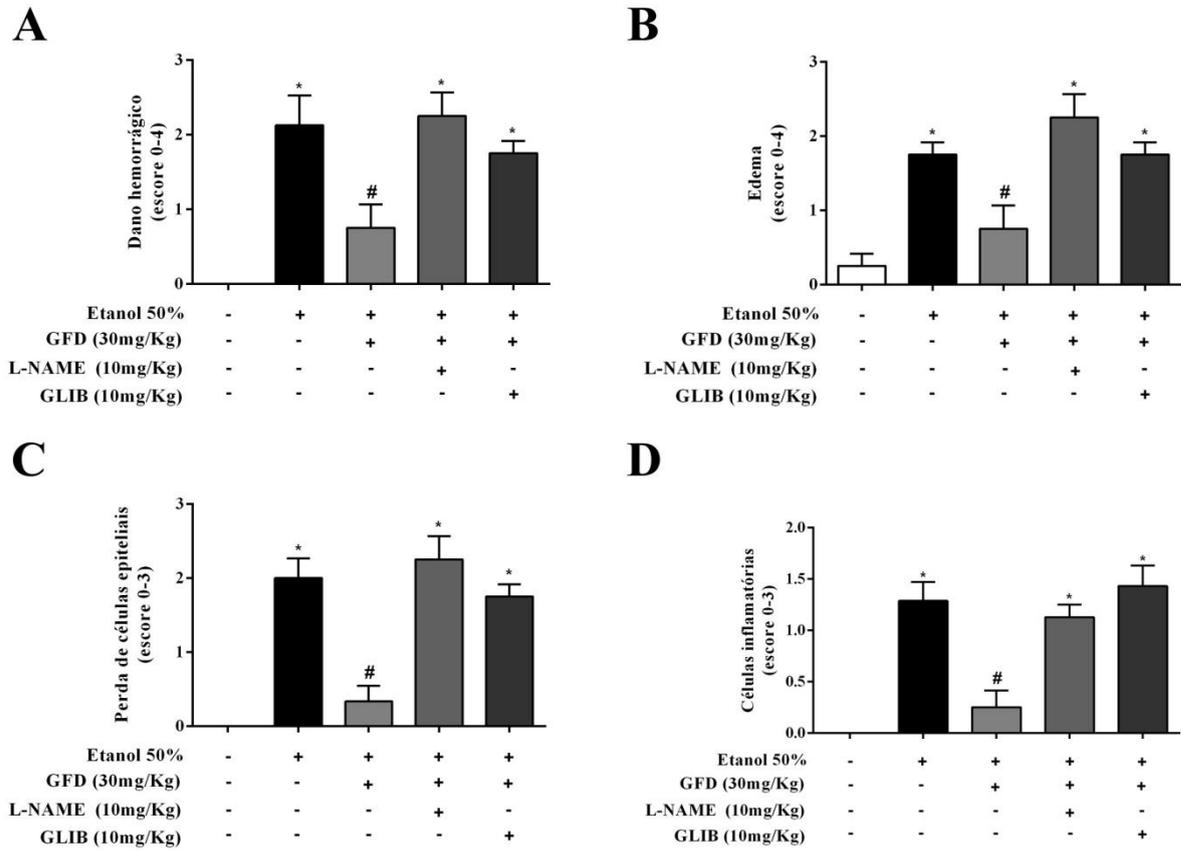
6.11 Avaliação histopatológica da mucosa gástrica de camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida:

Nas figuras 29 e 30 observa-se que o pré-tratamento com L-NAME e glibenclamida, aboliu o efeito protetor da GFD e GG, aumentando a hemorragia (L-NAME+GG: $1,0 \pm 0,0$ escore; L-NAME+GFD: $2,25 \pm 0,31$ escore; GLIB+GG: $2,25 \pm 0,31$ escore e GLIB+GFD: $1,75 \pm 0,16$ escore) provocada pelo etanol ($2,12 \pm 0,39$ escore) na mucosa gástrica. De forma semelhante, o L-NAME e a glibenclamida

produziram o mesmo efeito sobre o edema hemorragia (L-NAME+GG: $1,12 \pm 0,12$ escore; L-NAME+GFD: $1,25 \pm 0,16$ escore; GLIB+GG: $1,5 \pm 0,18$ escore e GLIB+GFD: $1,25 \pm 0,31$ escore), a perda de células epiteliais hemorragia (L-NAME+GG: $2,25 \pm 0,16$ escore; L-NAME+GFD: $1,75 \pm 0,163$ escore; GLIB+GG: $1,37 \pm 0,18$ escore e GLIB+GFD: $1,25 \pm 0,31$ escore) e o infiltrado de células inflamatórias (L-NAME+GG: $1,25 \pm 0,16$ escore; L-NAME+GFD: $1,12 \pm 0,12$ escore; GLIB+GG: $1,0 \pm 0,26$ escore e GLIB+GFD: $1,42 \pm 0,20$ escore).

As figuras 29 e 30 mostram o resultado do somatório dos escores de todos os parâmetros histopatológicos avaliados, ou seja, da hemorragia (0-4 escores), do edema (0-4 escores), da perda de células epiteliais (0-3 escores) e do infiltrado inflamatório (0-3 escores). Verifica-se que o L-NAME e a glibenclamida reverteram à proteção da GFD e GG.

Figura 29 – Análise histopatológica das lesões gástricas induzidas por etanol em animais tratados com L-NAME, glibenclamida, GFD e resultados quantitativos (scores) da análise microscópica

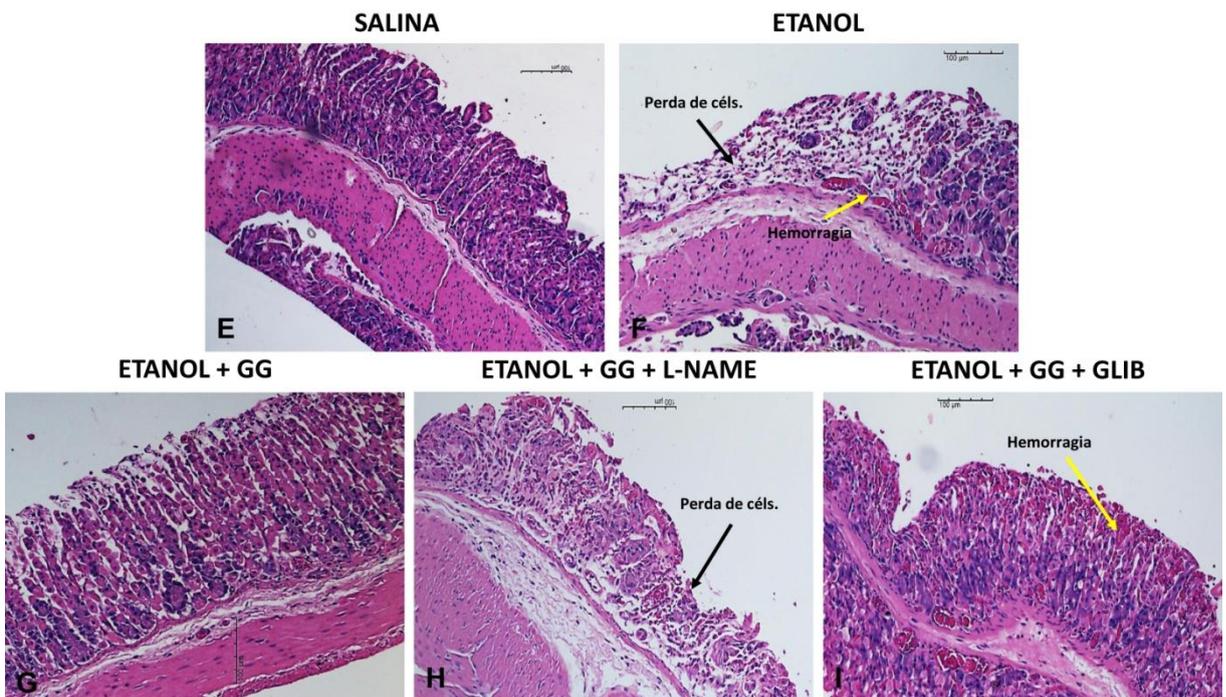
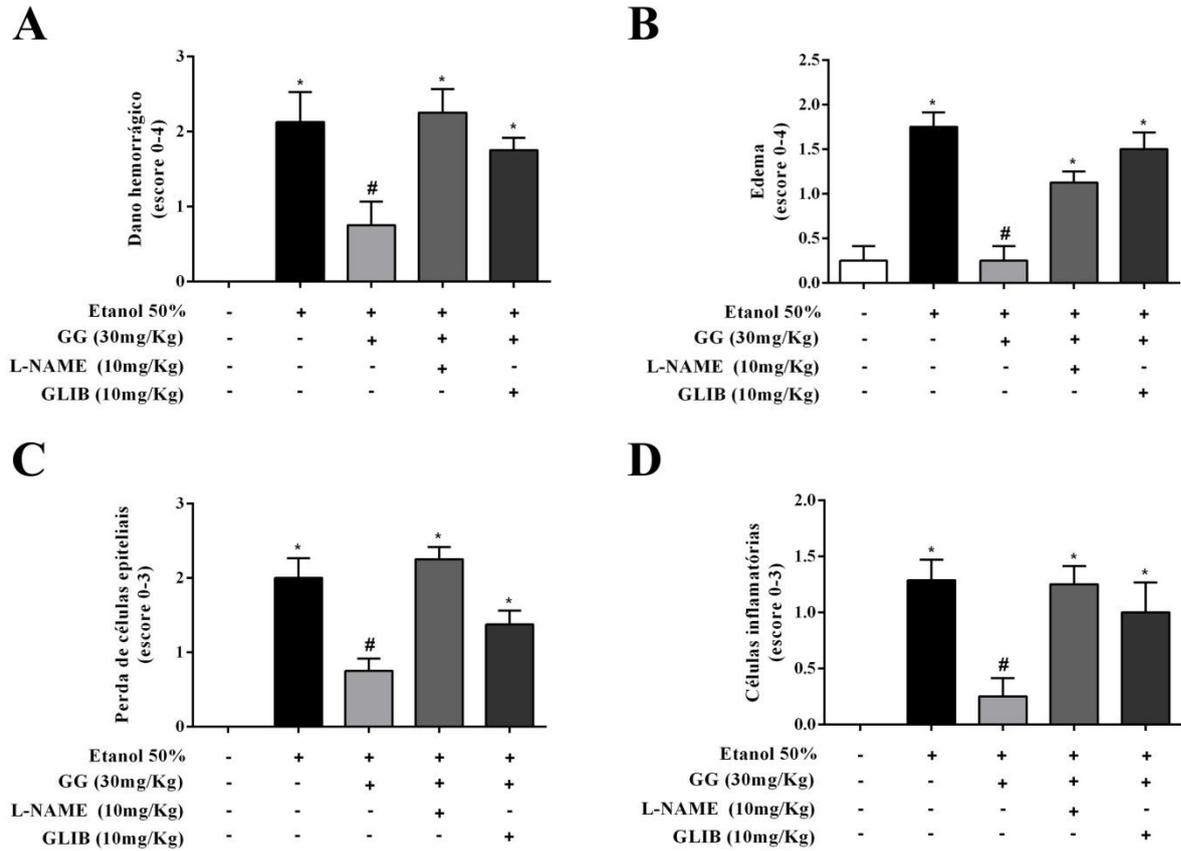


Os painéis A, B, C e D, representam os resultados quantitativos (scores) da análise microscópica nas lesões

induzidas pelo o etanol. Os dados apresentados são medianos com pontuação mínima e máxima indicadas entre parênteses. **A:** o etanol causou elevada hemorragia na mucosa, sendo mantida de forma significativa quando os animais foram pré-tratados com GFD + glibenclamida ou L-NAME. **B:** o etanol proporcionou o aumento do edema na mucosa gástrica, no entanto quando os animais foram pré-tratados com GFD + glibenclamida ou L-NAME o edema aumentou de forma significativa. **C:** o etanol provocou uma elevada perda de células epiteliais, porém quando os animais foram pré-tratados com GFD + glibenclamida ou L-NAME essa perda celular se elevou de forma significativa. **D:** o etanol aumentou o infiltrado de células inflamatórias, entretanto quando aos animais receberam o pré-tratamento com GFD + glibenclamida ou L-NAME, essa infiltração de células pró-inflamatórias aumentou de forma significativa. **E:** grupo controle (salina). **F:** grupo de animais que foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g), notar a formação acentuada de edema, juntamente com uma grande perda de células epiteliais e áreas hemorrágicas. **G:** animais pré-tratados com GFD (30mg/kg), notar o efeito protetor com preservação das células epiteliais. **H e I:** animais que receberam o pré-tratamento com GFD + glibenclamida ou L-NAME apresentaram intensa área de edema com focos hemorrágicos e de perda de células epiteliais. Diferenças significativas: #P< 0,05 quando comparado ao grupo lesivo (etanol), *P<0,05 quando comparado ao grupo salina, não ocorrendo diferença (P>0,05) significativa entre os grupos tratados com os polissacarídeos e o inibidor comparado ao grupo lesivo.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 30 – Análise histopatológica das lesões gástricas induzidas por etanol em animais tratados com L-NAME, glibenclamida, GG e resultados quantitativos (scores) da análise microscópica



Os painéis A, B, C e D, representam os resultados quantitativos (scores) da análise microscópica nas lesões induzidas pelo o etanol. Os dados apresentados são medianas com pontuação mínima e máxima indicadas entre parênteses. **A:** o etanol causou elevada hemorragia na mucosa, sendo mantida de forma significativa quando os animais foram pré-tratados com GG + glibenclamida ou L-NAME. **B:** o etanol proporcionou o aumento do edema na mucosa gástrica, no entanto quando os animais foram pré-tratados com GG + glibenclamida ou L-NAME o edema aumentou de forma significativa. **C:** o etanol provocou uma elevada perda de células epiteliais, porém quando os animais foram pré-tratados com GG + glibenclamida ou L-NAME essa perda celular se elevou de forma significativa. **D:** o etanol aumentou o infiltrado de células inflamatórias, entretanto quando aos animais receberam o pré-tratamento com GG + glibenclamida ou L-NAME, essa infiltração de células pró-inflamatórias aumentou de forma significativa. **E:** grupo controle (salina). **F:** grupo de animais que foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g), notar a formação acentuada de edema, juntamente com uma grande perda de células epiteliais e áreas hemorrágicas. **G:** animais pré-tratados com GFD (30mg/kg), notar o efeito protetor com preservação das células epiteliais. **H e I:** animais que receberam o pré-tratamento com GG + glibenclamida ou L-NAME apresentaram focos hemorrágicos e de perda de células epiteliais. Diferenças significativas: #P< 0,05 quando comparado ao grupo lesivo (etanol), *P<0,05 quando comparado ao grupo salina, não ocorrendo diferença (P>0,05) significativa entre os grupos tratados com os polissacarídeos e o inibidor comparado ao grupo lesivo.

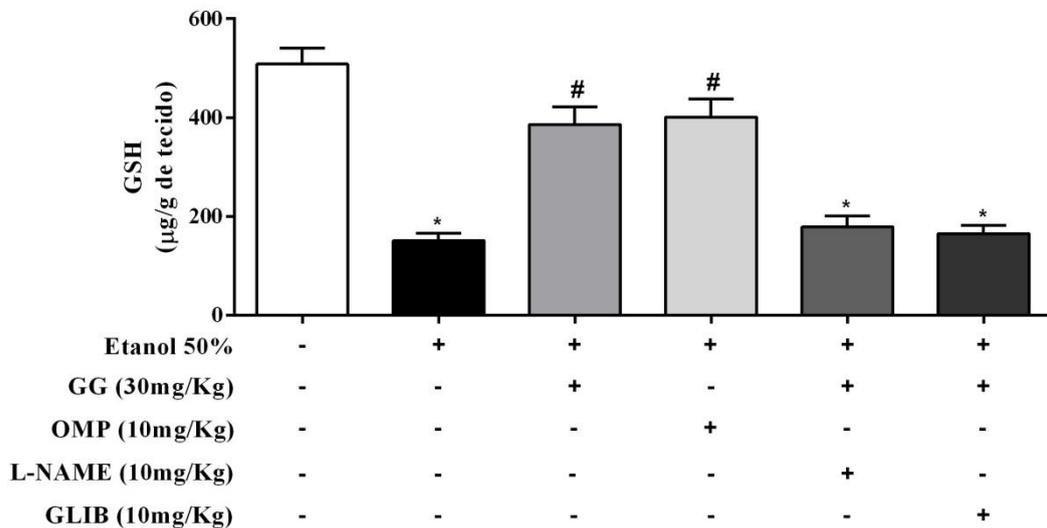
Fonte: Elaborado pelo autor.

6.12 Determinação dos níveis de glutathiona (GSH) na mucosa gástrica de camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida:

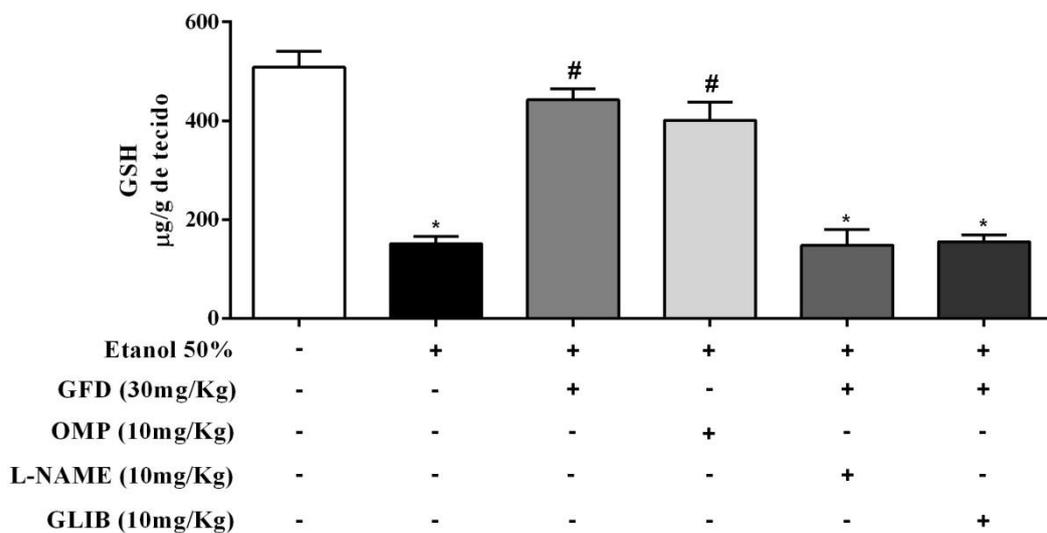
Para estudar a influência do óxido nítrico e dos canais de potássio sobre os grupos sulfídricos não proteicos na mucosa gástrica de camundongos, foi usado o L-NAME e Glibenclamida. A figura 31 mostra que a administração de L-NAME (L-NAME+GG: 179,1 ± 21,88 µg/g de tecido e L-NAME+GFD: 148,4 ± 31,28 µg/g de tecido) e Glibenclamida (GLIB+GG: 165,1 ± 16,38 µg/g de tecido e GLIB+GFD: 154,9 ± 13,71 µg/g de tecido) na dose de 10mg/kg reverteram o efeito protetor da Goma Guar (386,4 ± 35,93 µg/g de tecido) e GFD (442,7 ± 22,6 µg/g de tecido) ao reduzir os níveis de glutathiona. Grupo controle negativo (salina) (508,8 ± 31,99 µg/g de tecido) e grupo etanol (151,3 ± 14,32 µg/g de tecido) foram usados como controles.

Figura 31 – Determinação dos níveis de glutatona presentes na mucosa de camundongos tratados com L-NAME e Glibenclamida

A



B



Os animais receberam por via intraperitoneal L-NAME na dose 10mg/Kg e Glibenclamida por via intraperitoneal na dose de 10mg/Kg. Após 30 minutos, os animais foram tratados com Goma Guar e GFD (30mg/Kg, por gavagem) e Omeprazol na dose de 10mg/Kg via oral. Uma hora após foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g) por gavagem. O grupo controle foi tratado com salina ou etanol ou omeprazol + etanol ou GFD/Goma Guar + etanol. A Goma Guar e GFD apresentam envolvimento da via do óxido nítrico e ativação dos canais de KATP na reversão da diminuição dos níveis de glutatona causada por etanol na mucosa gástrica. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman Keuls, Diferenças significativas: *P < 0,05 quando comparado ao grupo controle (salina), #P < 0,05 quando comparado ao grupo controle lesivo (etanol).

Fonte: Elaborado pelo autor.

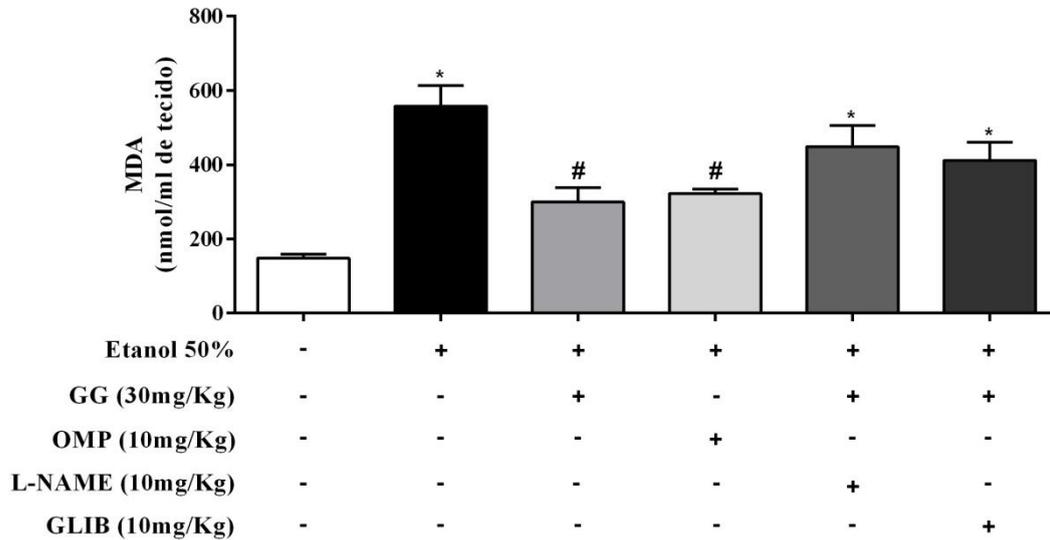
6.13 Determinação da concentração de malondialdeído (MDA) na mucosa

gástrica de camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida

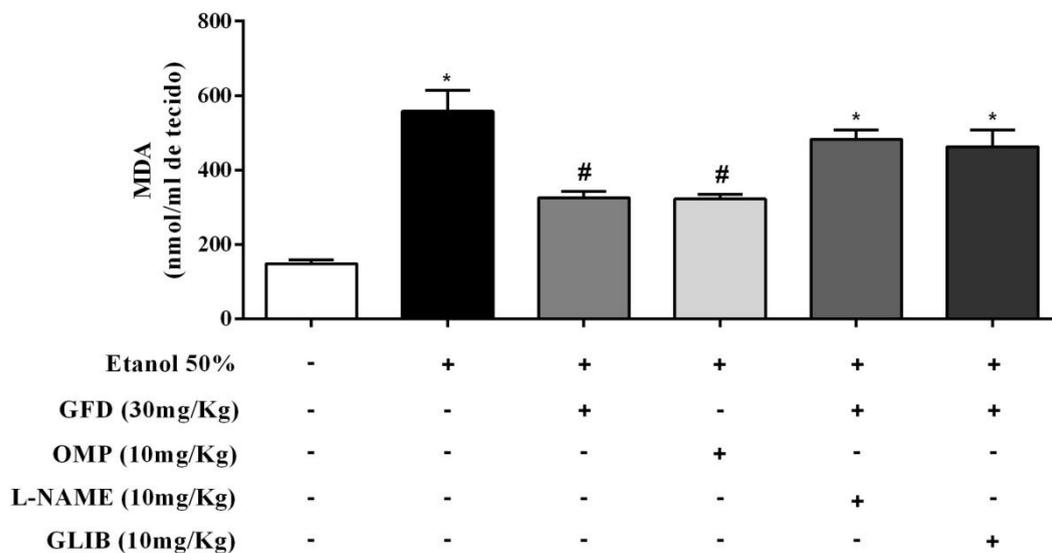
Na figura 32 pode-se observar que a administração de etanol 50% ($558,4 \pm 55,63$ nmol/ml de tecido), L-NAME e Glibenclamida provocaram um aumento nos níveis de MDA na mucosa gástrica quando comparados ao grupo controle salina ($148,3 \pm 10,85$ nmol/ml de tecido); Goma Guar/GFD + etanol ($299,5 \pm 39,04$ nmol/ml de tecido e $325,7 \pm 16,61$ nmol/ml de tecido, respectivamente) e Omeprazol + etanol ($322 \pm 12,2$ nmol/ml de tecido) indicando que ocorreu peroxidação de lipídios por espécies reativas de oxigênio (ROS), produzidas pelo o etanol que se manteve quando realizada a administração de L-NAME (via intraperitoneal) e Glibenclamida (via intraperitoneal) na dose de 10mg/Kg.

Figura 32 – A avaliação da peroxidação de lipídios por espécies reativas de oxigênio em camundongos tratados com L-NAME e Glibenclamida

A



B



Os animais receberam por via intraperitoneal L-NAME na dose 10mg/Kg e Glibenclamida por via intraperitoneal na dose de 10mg/Kg. Após 30 minutos, os animais foram tratados com Goma Guar e GFD (30mg/Kg, por gavagem) e Omeprazol na dose de 10mg/Kg via oral. Uma hora após foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g) por gavagem. O grupo controle foi tratado com salina ou etanol ou omeprazol + etanol ou GFD/Goma Guar + etanol. A Goma Guar e GFD apresentam envolvimento com via do óxido nítrico e ativação dos canais de KATP na reversão do aumento dos níveis de malondialdeído causada por etanol na mucosa gástrica. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman Keuls, Diferenças significativas: *P< 0,05 quando comparado ao grupo controle (salina), #P< 0,05 quando comparado ao grupo controle lesivo (etanol).

Fonte: Elaborado pelo autor.

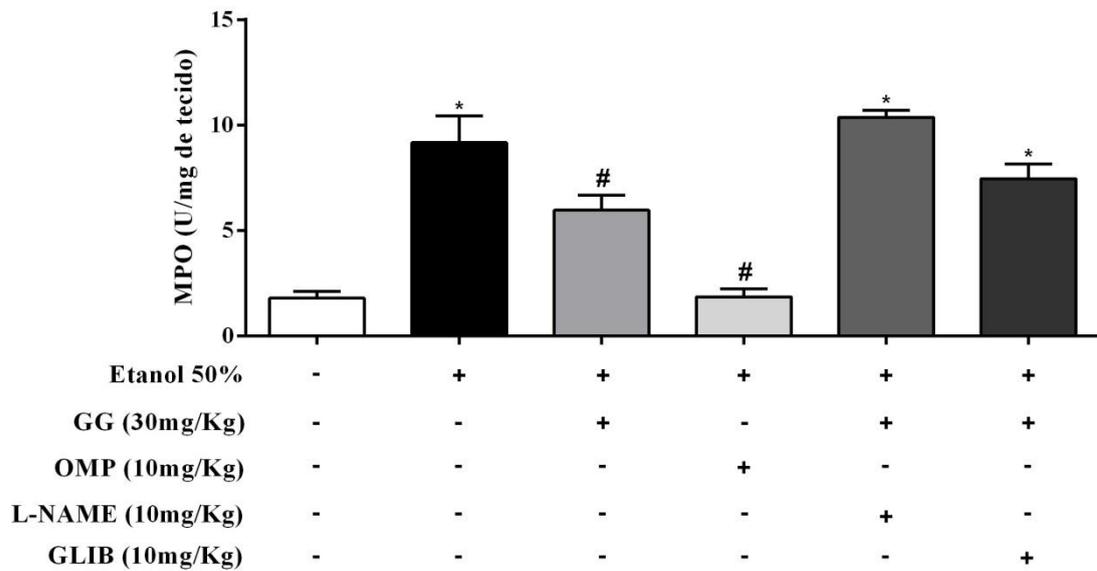
6.14 Avaliação da atividade da Mieloperoxidase (MPO) na mucosa gástrica de

camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida:

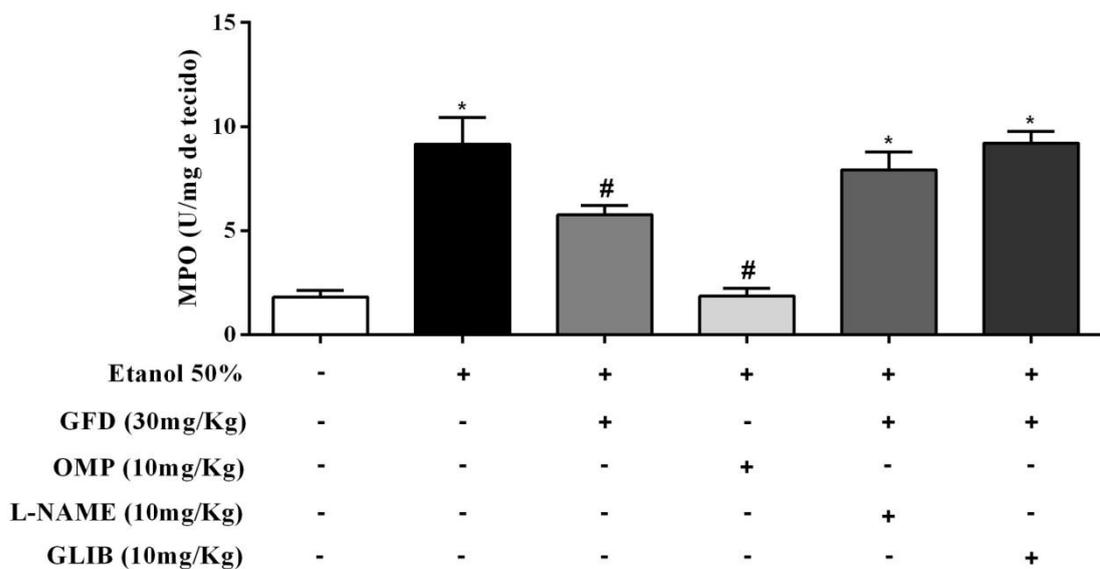
Em relação à infiltração neutrofílica, e, por consequência disso, os níveis de MPO foram mais elevados quando comparados aos grupos controles. No entanto, quando os animais foram tratados com Goma Guar ($5,96 \pm 0,71$ U/mg de tecido), GFD ($5,75 \pm 0,45$ U/mg de tecido) e Omeprazol ($1,85 \pm 0,38$ U/mg de tecido) os níveis de MPO reduziram. Já quando comparado os grupos com administração de L-NAME (via intraperitoneal) (L-NAME+GG: $10,37 \pm 0,32$ U/ml de tecido e L-NAME+GFD: $7,91 \pm 0,86$ U/mg de tecido) e Glibenclamida (via intraperitoneal) (GLIB+GG: $7,4 \pm 0,7$ U/mg de tecido e GLIB+GFD: $9,2 \pm 0,57$ U/mg de tecido) (10mg/kg) demonstrou aumento da infiltração de neutrófilos semelhante ao grupo lesivo etanol + salina ($9,16 \pm 1,26$ U/mg de tecido) (Figura 33) diminuindo o efeito anti-inflamatório proporcionado pelos polissacarídeos.

Figura 33 – A avaliação da atividade de Mieloperoxidase (MPO) em camundongos tratados com L-NAME e Glibenclamida

A



B



Os animais receberam por via intraperitoneal L-NAME na dose 10mg/Kg e Glibenclamida por via intraperitoneal na dose de 10mg/Kg. Após 30 minutos, os animais foram tratados com Goma Guar e GFD (30mg/Kg, por gavagem) e Omeprazol na dose de 10mg/Kg via oral. Uma hora após foi administrado etanol

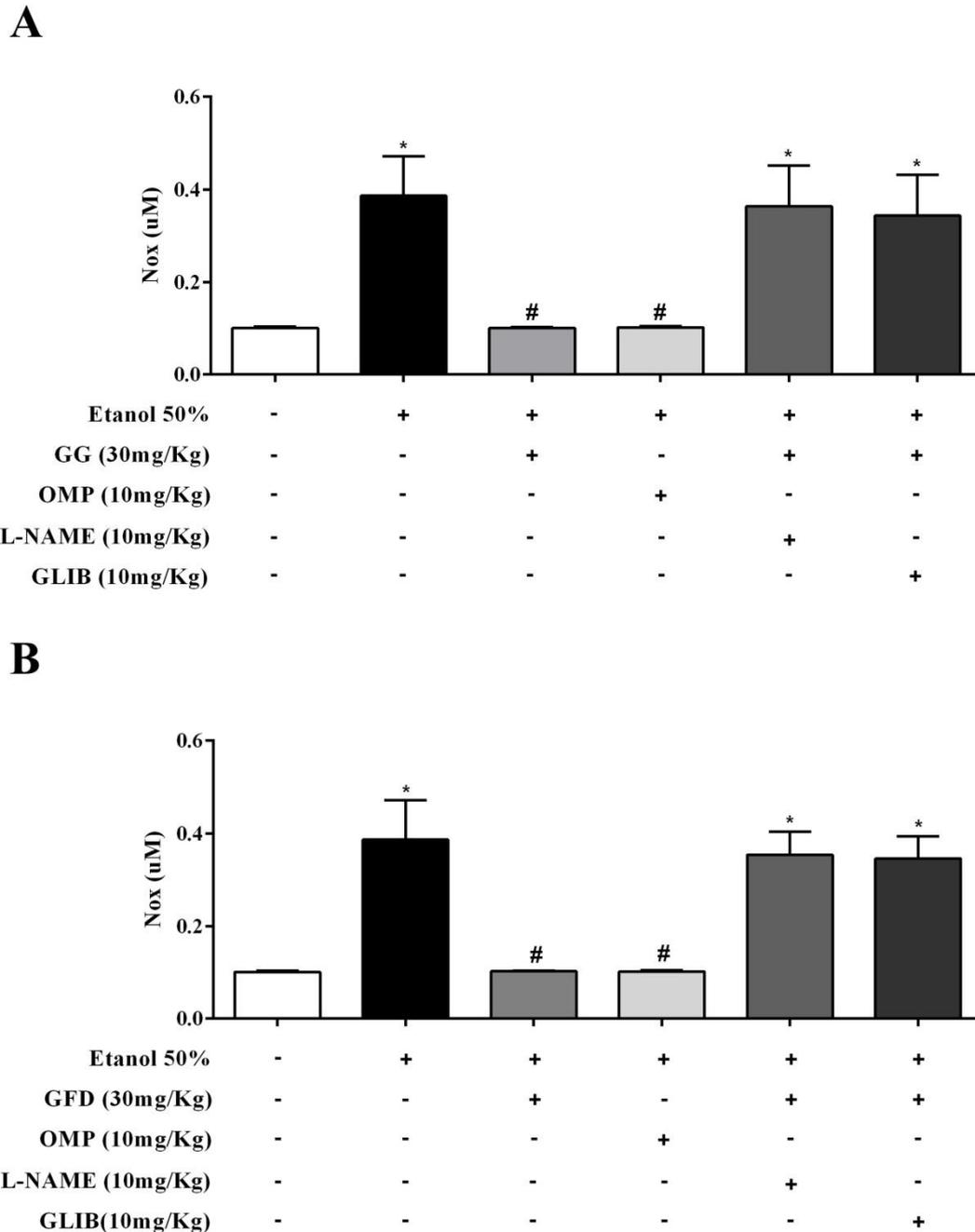
50% (0,5ml/25g) por gavagem. O grupo controle foi tratado com salina ou etanol ou omeprazol + etanol ou GFD/Goma Guar + etanol. A Goma Guar e GFD apresentam envolvimento da via do óxido nítrico e ativação dos canais de KATP na reversão do aumento dos níveis de mieloperoxidase causado por etanol na mucosa gástrica. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman Keuls, Diferenças significativas: * $P < 0,05$ quando comparado ao grupo controle (salina), # $P < 0,05$ quando comparado ao grupo controle lesivo (etanol).

Fonte: Elaborado pelo autor.

6.15 Quantificação de nitrito no efeito gastroprotetor da Goma Guar e GFD na mucosa gástrica de camundongos tratados com L-NAME e glibenclamida

Na avaliação da quantidade de nitrito se observou uma diminuição significativa nos animais tratados com salina ($0,1 \pm 0,0 \mu\text{M}$), Goma Guar, GFD ($0,1 \pm 0,0 \mu\text{M}$) e Omeprazol ($0,1 \pm 0,0 \mu\text{M}$) (Figura 34). Já quando realizada a administração de L-NAME (via intraperitoneal) (L-NAME+GG: $0,36 \pm 0,03 \mu\text{M}$ e L-NAME+GFD: $0,35 \pm 0,02 \mu\text{M}$) e Glibenclamida (via intraperitoneal) (GLIB+GG: $0,34 \pm 0,03 \mu\text{M}$ e GLIB+GFD: $0,34 \pm 0,02 \mu\text{M}$) (10mg/kg) demonstrou um aumento dos níveis de nitrito semelhante ao grupo tratado apenas com solução salina e etanol ($0,38 \pm 0,02 \mu\text{M}$).

Figura 34 – A avaliação dos níveis de nitrito em camundongos tratados com L-NAME e Glibenclamida



Os animais receberam por via intraperitoneal L-NAME na dose 10mg/Kg e Glibenclamida por via intraperitoneal na dose de 10mg/Kg. Após 30 minutos, os animais foram tratados com Goma Guar e GFD (30mg/Kg, por gavagem) e Omeprazol na dose de 10mg/Kg via oral. Uma hora após foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g) por gavagem. O grupo controle foi tratado com salina ou etanol ou omeprazol + etanol ou GFD/Goma Guar + etanol. A Goma Guar e GFD apresentam envolvimento da via do óxido nítrico e ativação dos canais de KATP na reversão do aumento dos níveis de nitrito causado por etanol na mucosa gástrica. Os resultados foram analisados por ANOVA seguido por Newman Keuls, Diferenças significativas: *P< 0,05 quando comparado ao grupo controle (salina), #P< 0,05 quando comparado ao grupo controle lesivo (etanol).

Fonte: Elaborado pelo autor.

7 DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou o efeito do tratamento com os polissacarídeos Goma Guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e Galactomanana da Fava Danta (*Dimorphandra gardneriana*) na lesão gástrica induzida por etanol 50% entendendo por qual mecanismo de ação o efeito gastroprotetor acontece.

As úlceras induzidas pelo etanol são provocadas por uma heterogeneidade de fatores, incluindo diminuição do fluxo sanguíneo da mucosa, dano ao endotélio capilar, liberação de metabólitos derivados do ácido araquidônico e histamina (JAISWAL; RAO, 2016). A fisiopatologia não é completamente elucidada, mas acredita-se que o etanol promove lesão direta na mucosa, liberando mediadores inflamatórios e elevando os níveis de granulócitos, espécies reativas de oxigênio, citocinas e substâncias vasoativas, levando à inflamação, vasoconstrição e isquemia, que finalmente resulta em morte celular e danos na mucosa (KLEIN-JÚNIOR *et al.*, 2017). Esse estudo demonstrou que as lesões gástricas induzidas pelo etanol podem ser evitadas pela Goma Guar e GFD, protegendo as células dos danos causados pelo estresse oxidativo.

Apesar dos avanços farmacêuticos recentes que melhoram as consequências causadas pelo etanol a maioria das terapias induzem efeitos colaterais adversos, como hipersensibilidade, ginecomastia, impotência, arritmia e alterações hematopoiéticas. Razão pela qual os ingredientes bioativos extraídos de recursos naturais podem fornecer uma abordagem confortável e segura para a prevenção de úlcera gástrica. Muitos compostos químicos naturais têm demonstrado aplicabilidade biológica em diversas doenças, destacando nos últimos anos o potencial anti-inflamatório e antioxidativo de diversos polissacarídeos derivados de plantas (XU *et al.*, 2016).

No presente estudo foram usados de forma inédita dois polissacarídeos em um modelo de lesão gástrica por etanol. A Goma Guar é uma galactomanana proveniente de *Cyamopsis tetragonolobus* onde a mesma demonstrou em modelo experimental de osteoartrite em ratos uma atividade analgésica que pode estar relacionada à farmacologia dos componentes dos carboidratos, provavelmente acoplando-se a receptores específicos presentes na articulação, sendo o possível responsável pela analgesia fornecida (CUNHA, 2008).

O uso atual de polissacarídeos com finalidades terapêuticas se tornou uma ferramenta efetiva em diversas situações fisiológicas, como em casos do uso para gastroproteção. Dentre os benefícios encontrados, podem-se destacar atividades antioxidantes, analgésicas, anti-

hemorrágicas, anti-inflamatórias (ABBOUD *et al.*, 2019; CARLOTTO *et al.*, 2019; LAJILI *et al.*, 2019; LUZ *et al.*, 2019; PINTO *et al.*, 2019). A presente pesquisa demonstrou uma atividade anti-inflamatória e anti-hemorrágica com diminuição dos níveis infiltração neutrofílica e hemoglobina nos animais tratados com as duas Galactomananas.

O efeito gastroprotetor dos produtos naturais pode está relacionado principalmente pela à inibição da migração e infiltração de neutrófilos, assim, podendo servir de base para descoberta e desenvolvimento de novos compostos para tratamento de doenças gástricas (MARQUES *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019).

Em estudos onde foram verificados os efeitos da Goma Guar parcialmente hidrolizada no dano da mucosa do cólon e a resposta inflamatória em um modelo experimental de colite induzida por sulfato de sódio dextrano em ratos foi observado que o tratamento crônico com a GG atenua a inflamação da colite induzida sendo mediado este efeito anti-inflamatório através da diminuição do fator de necrose tumoral alfa (NAITO *et al.*, 2006). O presente estudo apontou uma melhora em diversas situações associadas à presença de citocinas inflamatórias, animais tratados com a Goma Guar e GFD tiveram melhora em parâmetros associados ao estresse oxidativo e ao processo inflamatório.

Na avaliação macroscópica inicial foi verificado que o etanol 50% provocou diversas lesões eritematosas lineares e ulceradas como é descrito na literatura (TARNAWSKI *et al.*, 1992). Os grupos que foram tratados com a GG e GFD, por via oral, diminuíram de forma significativa às lesões gástricas. Tal feito foi observado em todas as doses, porém a dose de 30mg/kg foi escolhida como melhor dose por ter apresentado melhores resultados em uma menor concentração e pela dificuldade de solubilização dos dois polissacarídeos em maiores concentrações.

No estudo histopatológico, a presente pesquisa apontou que o etanol 50% provocou alterações em todos os parâmetros avaliados: hemorragia, edema, perda de células epiteliais e infiltrado inflamatório. Os dados da presente pesquisa estão alinhados com estudos anteriores relatados usando o etanol como agente indutor de ulceração (AWAAD *et al.*, 2013; MONTEIRO *et al.*, 2019; SELMI *et al.*, 2017). Vários mecanismos estão implícitos no surgimento de lesões induzidas pelo etanol nas membranas mucosas. O etanol é considerado um dos principais causadores de lesões ulceradas. Os efeitos do etanol sobre a mucosa gástrica são bastante heterogêneos e podem estar associados com um distúrbio no equilíbrio entre a mucosa gástrica e fatores protetores e agressivos. Causas de injúrias provocadas pelo etanol nas células endoteliais dos vasos induzem distúrbios na microcirculação levando a hipóxia e a uma superprodução de radicais de oxigênio e as espécies reativas de oxigênio são

produzidas dentro do sistema gastrointestinal, mas seus papéis na fisiopatologia e na doença patogênese não foram bem estudados (PARK *et al.*, 2015).

A glutathiona reduzida (GSH) ocorre em ampla concentração na mucosa gástrica sendo apontada como um dos principais fatores de proteção do tecido estomacal atuando de forma eficaz na diminuição do estresse oxidativo através da eliminação de radicais livres, restringir os peróxidos e atuar com compostos eletrofílicos de forma a proteger a estrutura celular proteica, material genético e lipídeos, bem como proteger a célula de outras substâncias tóxicas. Diversas pesquisas mostram que o etanol 50%, entre outras ações, é capaz de restringir as concentrações de GSH (SOUZA *et al.*, 2016). Diversos trabalhos apontam a eficácia de extratos e substâncias individualizadas de plantas com capacidade antioxidante que são eficazes em proteger a mucosa gástrica contra as lesões acarretadas pelo etanol, ação esta bem demonstrada pela presente pesquisa.

O malondialdeído (MDA) como marcador de peroxidação lipídica, é comumente usado como um estado oxidativo e antioxidante nas células (AVERY, 2011; MEDEIROS *et al.*, 2008). O estresse oxidativo tem sido apontado como um passo essencial para a lesão gástrica provocada pelo etanol (LYKKESFELDT, 2007). No presente estudo, verificou-se que os níveis de enzimas antioxidantes (SOD e GSH) foram marcadamente reduzidas e o teor de MDA foi significativamente elevado no grupo de modelo induzido por etanol. No entanto, os grupos pré-tratados com os dois polissacarídeos mostraram efeitos inibidores evidentes sobre a redução induzida por etanol de SOD e os níveis de GSH e aumento do conteúdo de MDA, o que demonstrou que a GG e GFD exibiram um importante potencial antioxidante na úlcera gástrica induzida por etanol 50% em camundongos.

Com base no presente estudo, a administração por gavagem de GFD e GG poderia proteger contra a ulceração gástrica, elevando as atividades SOD e GSH, e diminuindo os níveis de MDA. Os resultados deste estudo corroboram com os resultados relatados por vários que a atividade de SOD e GSH foram aumentadas em grupos tratados com compostos sintéticos em comparação com animais tratados com etanol (HALABI *et al.*, 2014; KETULY *et al.*, 2013; SALGA *et al.*, 2012). Além disso, a redução nos níveis de MDA foi relatada em animais tratados com vários compostos, tais como as batatas *Dioscorea* (BYEON *et al.*, 2018) e o extrato de *Artemisia capillaris* (YEO *et al.*, 2018). É relatado que as EROs, como radicais hidroxila, ânions superóxido e peróxidos lipídicos, são espécies nocivas que são conhecidas por provocar desenvolvimento de úlcera gástrica. O radical livre, em última análise, causa depleção no estado antioxidante do tecido, levando à peroxidação lipídica. Assim, os antioxidantes eliminam a formação de radicais livres que desempenham um papel importante

na proteção do dano celular (DEKANSKI; RISTIĆ; MITROVIĆ, 2009). O tratamento com a GG e GFD aumentou os níveis/atividades das enzimas antioxidantes em comparação com o grupo das úlceras.

As espécies reativas de oxigênio (EROs) tais como os ânions superóxido, radicais hidroxila, e peróxido de hidrogênio são gerados de forma permanente durante o processo de respiração em organismos aeróbicos. A geração excessiva de EROs, excedendo a capacidade antioxidante dos organismos, pode causar estresse oxidativo. A superóxido dismutase (SOD) é uma das principais enzimas antioxidantes, cuja função é eliminar o ânion superóxido por acelerar a conversão de peróxido de hidrogênio que, por sua vez, é detoxificado pelas enzimas glutathiona peroxidase e catalase. A administração imediata do etanol leva a resposta imunológica, que libera quantidades enormes de radicais livres, enzimas cáusticas e citocinas inflamatórias (LI *et al.*, 2017). A administração da GG e GFD mostraram-se como substâncias antioxidantes adicionais, pois diminuíram ou mesmo preveniram o dano causado pelo aumento de estresse oxidativo promovido pelo etanol 50% aumentando a atividade de SOD em relação ao grupo tratado com solução salina.

Estima-se que a MPO esteja envolvida no desenvolvimento de lesões agudas da mucosa gástrica e uma redução da ação da MPO é avaliada como uma demonstração da atividade anti-inflamatória (SUO *et al.*, 2015). Como mostrado na Figura 20, o tratamento de camundongos com 50% de etanol causou uma diminuição significativa nas atividades de SOD e GSH juntamente com um aumento significativo na produção de MDA na atividade de MPO comparada com grupo controle. No entanto, o tratamento de ratos com a GG e GFD (30mg/kg) atenuou consideravelmente a infiltração de neutrófilos. Estes dados sugerem que a GG e GFD exibem efeitos anti-inflamatórios e proteção contra o dano ao tecido gástrico induzido por etanol 50% em camundongos, como ocorreria com o uso de omeprazol.

Neste estudo apontou que a administração de etanol 50% induziu uma importante lesão gástrica hemorrágica. Em estudo realizado através da avaliação dos níveis de hemoglobina na mucosa gástrica de ratos tratados com etanol e/ou sildenafil a administração de etanol em alta concentração causou severas lesões na mucosa gástrica, envolvendo extensas hemorragias e destruição de tecido com o aparecimento de hemorragias subepiteliais no estômago resultado este semelhante ao nosso trabalho que na Figura 21 mostra que o etanol 50% aumentou a quantidade de hemoglobina (MEDEIROS *et al.*, 2008). Já com o tratamento na dose 30mg/Kg da GG e GFD reduziu os níveis de hemoglobina de forma significativa evidenciando o efeito antihemorrágico

proporcionado pelas duas gomas.

O nosso estudo também avaliou a adesão do muco gástrico já que o mesmo é um importante parâmetro da fisiologia estomacal. A camada de muco que reveste toda a mucosa gástrica atua como uma barreira física contra o efeito agressivo da acidez do suco gástrico. Além disso, o muco tem uma reconhecida ação antioxidante. Assim, o enfraquecimento da barreira mucosa é diretamente responsável pelo dano gástrico e o etanol é bem conhecido por destilar a camada de muco gástrico (REPETTO; LLESUY, 2002). Em consonância com essa visão, a GG e GFD mostra um conteúdo de muco gástrico conservado, análogo ao controle da úlcera. Assim, pode-se concluir que os dois polissacarídeos protegem a mucosa gástrica através da preservação e manutenção do conteúdo de muco gástrico provavelmente em decorrência da capacidade de mucoadesividade dessas gomas. A barreira de muco gástrico promove uma atividade essencial nos efeitos da proteção contra as ulcerações gástricas, visto que forma um muco ininterrupto idêntico a um gel, essa superfície mucoide sustenta um pH em volta de 6-7, resguardando a mucosa do ambiente ácido (pH 1-2) (CHEN *et al.*, 2015).

O óxido nítrico está envolvido na modulação da integridade da mucosa gástrica e na regulação de secreção ácida e alcalina, secreção de muco e fluxo sanguíneo da mucosa gástrica (KUBES; SUZUKI; GRANGER, 1991). Níveis de NO local são diminuídos em estudos de lesão gástrica induzida por etanol, indicando que a redução da quantidade de NO local pode ser um fator decisivo para promover o dano da mucosa estomacal (KHATTAB; GAD; ABDALLAH, 2001). Agentes que levam a síntese do NO, como a L-arginina, podem prover proteção gástrica. O NO produzido pela NOS constitutiva da L-arginina, tem papel essencial no tono vascular local, atuando como vasodilatador e promovendo, assim, a proteção da mucosa gástrica pelo controle do fluxo sanguíneo gástrico e da microcirculação (UNEYAMA, 2009).

No presente estudo, o etanol 50% diminuiu a quantidade de NO, medido indiretamente pela quantificação de nitrito, produto do metabolismo do NO, reforçando a ideia que a diminuição de NO é um fator importante na formação de úlcera pelo etanol. A terapêutica utilizando o GG e GFD levou a uma redução significativa na quantidade de Nitrito em comparação com os animais Controle. Esse achado foi um resultado norteador para indicação da via de sinalização responsável pela gastroproteção proporcionada pela GG e GFD.

Continuando a elucidação dos mecanismos subjacentes envolvidos na gastroproteção proporcionada pela GG e GFD foi realizado o pré-tratamento com Propargilglicina (PAG,

inibidor da formação do sulfeto de hidrogênio endógeno, 50mg/kg i.p.), N-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME, inibidor da NOS não seletivo, 10mg/kg i.p.) e Glibenclamida (antagonista dos canais de potássio, 10mg/kg, i.p.).

A primeira via estudada foi a do Sulfeto de Hidrogênio (H₂S) onde se verificou na avaliação macroscópica que a administração de PAG não reverteu o efeito gastroprotetor dos dois polissacarídeos, indicando a não participação dessa importante via de sinalização. Foi verificado na literatura que a administração exógena de H₂S por NaHS reverteu o efeito gastroprotetor da PAG em um modelo de lesão gástrica com etanol absoluto em ratos enquanto em outros trabalhos relataram que o PAG previne o efeito gastroprotetor da L-cisteína após a administração de 50% de etanol em camundongos, onde esta oposição de resultados possa ser devido à intensidade do dano induzido por concentrações diferentes de etanol (CHÁVEZ-PIÑA; TAPIA-ÁLVAREZ; NAVARRETE, 2010; MEDEIROS *et al.*, 2009).

Em continuidade aos experimentos o L-NAME e a Glibenclamida de maneira efetiva bloquearam o efeito gastroprotetor das duas gomas (30mg/kg) contra úlceras induzidas por etanol 50%, sugerindo que os polissacarídeos propiciam a gastroproteção por mecanismos complementares, incluindo o envolvimento NO e dos canais de potássio. Os receptores α_2 pré-sinápticos medeiam várias respostas no trato gastrointestinal e estão envolvidos na regulação da secreção ácida gástrica (GYIRES *et al.*, 2000). O NO está envolvido na modulação da integridade da mucosa gástrica e na regulação da secreção ácida e alcalina, secreção de muco e fluxo sanguíneo mucoso gástrico (KUBES; SUZUKI; GRANGER, 1991).

A viscosidade apresentada pela Goma Guar não deve ser o único fator associado ao efeito de diminuição de dor em tratamento da osteoartrite experimental em ratos por viscosuplementação, pois a GG purificada tanto em gel como em solução demonstrou o mesmo efeito analgésico (CUNHA, 2006). A goma de fava danta mostrou maiores valores de viscosidade que a goma de guar (MONTEIRO, 2009) sendo utilizada como solução no presente estudo e comprovando importante efeito como agente gastroprotetor na lesão induzida por etanol. No nosso trabalho a GG e GFD demonstraram seu efeito atuando como mediadores da via NO/KATP (MONTEIRO, 2009).

Nossos resultados mostraram que o etanol causou uma queda significativa no teor de NO, enquanto o L-NAME e a Glibenclamida exibiram efeito inibitório significativo na diminuição do teor de NO induzido pelo etanol nos tecidos gástricos sendo confirmado na avaliação dos níveis de GSH, MDA, MPO e nitrito confirmando a ação antioxidante e anti-inflamatória das duas Gomas.

É bem identificado que o NO é um contribuinte na inflexão da integridade da mucosa gástrica, fluxo sanguíneo na mucosa gástrica e secreção de muco (ANTONISAMY *et al.*, 2016; ANTONISAMY *et al.*, 2015). Nosso trabalho apontou uma manutenção da integridade de muco gástrico bem com uma importante diminuição do quadro hemorrágico através da avaliação dos níveis de hemoglobina confirmando ainda mais a possível participação do NO.

O NO, produzido pela via de ação da NO-sintase, demonstra ser um mediador fundamental no envolvimento da regulação do fluxo sanguíneo e da microcirculação gástrica (WALLACE, 2006). Nesta pesquisa, a gastroproteção por Omeprazol (10mg/Kg), Goma Guar (30mg/Kg) e GFD (30mg/Kg) foi revertida em animais pré-tratados com L-NAME, inibidor não seletivo da NOS, sugerindo que o NO também participa no efeito gastroprotetor das duas Gomas. Nossos achados sobre os níveis de nitrito no tecido gástrico realizados antes da utilização dos inibidores farmacológicos e após o uso do L-NAME e Glibenclamida confirmam e sustentam essa visão. O nitrito total, um marcador de óxido nítrico endógeno que foi marcadamente reduzido pelo tratamento com GG e GFD e apresentando níveis semelhantes ao grupo controle positivo (etanol + salina) quando utilizado o L-NAME e Glibenclamida. O NO possui uma importante ação antioxidante de rompimento de cadeia eficaz na peroxidação lipídica mediada por radicais livres interagindo com prostanoídes e neuropeptídeos sensoriais na regulação do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica e assim influenciando diretamente na microcirculação (WHITTLE, 1993).

A participação dos canais K_{ATP} em vários modelos de proteção gástrica foi previamente descrita (LUNARDI *et al.*, 2006; PESKAR; EHRLICH; PESKAR, 2002; SANTANA *et al.*, 2015). E o presente estudo também investigou o possível papel dos canais K_{ATP} nos efeitos gastroprotetores da GG e GFD contra dano gástrico induzido pelo etanol. Mostrando que a glibenclamida reverteu o efeito protetor dos dois polissacarídeos.

Estudos apontam que os canais de K_{ATP} estão relacionados a diversos papéis fisiopatológicos no estômago tais como: regulação do fluxo sanguíneo, secreção de ácido gástrico e contratilidade da musculatura gástrica. A glibenclamida pode modificar a resposta de algumas drogas o que pode sugerir o envolvimento dos K_{ATP} em eventos biológicos (STANDEN *et al.*, 1989). Em trabalho onde se avaliou o extrato de *Matricaria recutita* e do alfa-bisabolol sobre a lesão da mucosa gástrica na avaliação da mecanística foram examinadas a participação de prostaglandinas, óxido nítrico e canais K_{ATP} . *M. recutita* reduziu dano gástrico em todas as doses testadas. Os pré-tratamentos com o éster metílico de N-nitro-L-arginina, antagonista do óxido nítrico (10mg = kg, ip) ou com

indometacina, um inibidor da ciclooxigenase, não bloquearam eficazmente o efeito gastroprotector do alfa-bisabolol contrario aos nossos resultados, entretanto o efeito do alfa-bisabolol foi significativamente reduzido em ratos pré-tratados com glibenclamida, um inibidor da ativação do canal K_{ATP+} corroborando com os resultados encontrados do presente estudo (BEZERRA *et al.*, 2009).

Na avaliação gastroprotetora do (-) - myrtenol contra lesões gástricas agudas induzidas pelo etanol foi analisado o papel dos canais de NO e K_{ATP} . Pré-tratamento com o inibidor não seletivo de NOS, L-NAME, aboliu a efeito de (-) -myrtenol, bem como de L-arginina, um precursor da síntese endógena de NO, demonstrando assim um papel NO no efeito gastroprotetor de (-) -myrtenol, característica semelhante a encontrada em nossa pesquisa. Contudo, um papel para os canais K_{ATP} no efeito gastroprotetor o (-) -myrtenol é improvável, pois a glibenclamida, um bloqueador dos canais K_{ATP} , não conseguiu reverter a gastroproteção (VIANA *et al.*, 2016) o que difere do nosso estudo.

Os ácidos anacárdicos de caju (*Anacardium occidentale*) em lesão gástrica induzida pelo etanol foram capazes de restaurar os níveis de SOD e óxido nítrico exauridos pelo etanol quase na direção dos níveis normais observados nos controles apresentando como mecanismos complementares a ativação de óxido nítrico, e abertura dos canais de K_{ATP} (MORAIS *et al.*, 2010). Estes efeitos combinados também foram vistos no nosso estudo.

Na investigação da atividade gastroprotetora de uma fração polissacarídica sulfatada extraída da alga marinha vermelha *Gracilaria caudata* e o seu mecanismo subjacente o tratamento com L-NAME ou glibenclamida reverteu esse efeito gastroprotetor. A administração de PAG não influenciou o efeito da fração polissacarídica sulfatada sugerindo que a ação protetora contra o etanol induz danos gástricos através da ativação da via NO/ K_{ATP} (SILVA *et al.*, 2011). Implicações estas que apoiam completamente os resultados da presente pesquisa fortalecendo a participação dessas biomoléculas com potenciais efeitos terapêuticos através de importante papel como eliminadores de radicais livres e antioxidantes na prevenção de danos oxidativos ao tecido estomacal.

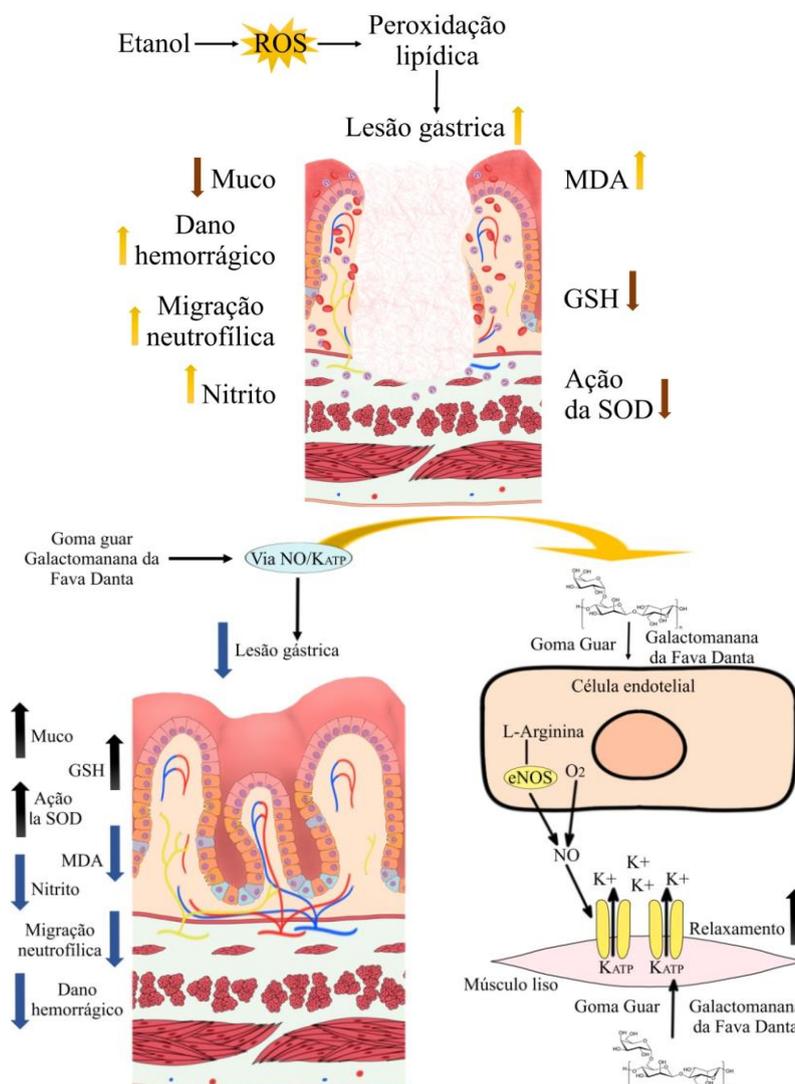
Em pesquisa análoga à fração polissacarídica sulfatada da alga *Hypnea musciformis* foi avaliada em seu efeito gastroprotetor na lesão induzida por etanol 50%. O presente estudo foi bastante semelhante a todo protocolo abortado na nossa pesquisa utilizando um agente polissacarídeo com melhor dose de 30mg/Kg, etanol 50% (0,5mL/25g) e avaliação do efeito do L-NAME (10mg/Kg, i.p.) e glibenclamida (10mg/Kg, i.p.) nas mesmas doses com o objetivo de verificar o envolvimento da via NO/ K_{ATP} no efeito gastroprotetor. Os resultados sugeriram que o mecanismo do efeito gastroprotetor da fração polissacarídica sulfatada é

dependente dos canais NO/KATP que também pode ser mediada, em parte, por um mecanismo envolvendo redução da peroxidação lipídica. Conclusões semelhantes ao presente estudo (DAMASCENO *et al.*, 2013).

A GFD é usada na medicina popular, os frutos da fava danta são utilizados para tratamento de diversas enfermidades. A infusão do fruto verde é aplicada para conter hemorragias e tratar hemorroidas, varizes e hematomas. Com a entrecasca curtida em água fria produz-se chá usado externamente como agente cicatrizante (FILIZOLA, 2013). A Goma Guar purificada demonstrou ação na terapêutica da osteoartrite com efeitos analgésicos (CASTRO *et al.*, 2007). Como citado os dois polissacarídeos usados no presente estudo, já purificados e caracterizados, possuem aplicações biológicas, seja de forma empírica ou baseada em evidências científicas, fomentando a sua possível utilização em outras pesquisas.

Através dos resultados alcançados, pode-se criar o seguinte resumo gráfico (Figura 35):

Figura 35 – Modelo gráfico hipotético para os efeitos protetores da GG e GFD na mucosa gástrica em lesão induzida por etanol 50%



Fonte: Elaborada pelo autor.

Foi o primeiro trabalho a estudar os efeitos da GG e GFD aplicados em camundongos utilizando o modelo de gastrite induzida por etanol 50%, constituindo alvo para estudos posteriores, a fim de contribuir com possíveis implicações na terapêutica aplicada nesse ou em outros modelos experimentais.

8 CONCLUSÕES

A Goma Guar e a GFD foram testados em relação a sua atividade farmacológica em modelos de lesão gástrica induzida por etanol. Os resultados obtidos no presente estudo permitiram elencar as seguintes considerações:

- As Gomas Guar e GFD diminuíram o dano gástrico induzido pelo etanol, análise macroscópica e microscópica;
- Os polissacarídeos preveniram a lesão gástrica, o consumo de glutathione e aumento da peroxidação lipídica na mucosa gástrica induzida pela administração de etanol 50% em camundongos;
- As Gomas Guar e GFD mantiveram a integridade da camada de muco aderido à mucosa gástrica;
- Os dois polissacarídeos aumentaram a ação da enzima superóxido dismutase no tecido gástrico, o que maximizou a dismutação do ânion superóxido, indicando esse evento como um dos mecanismos de atuação dessas substâncias;
- Houve diminuição da migração de neutrófilos na mucosa gástrica bem como do quadro hemorrágico no modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos;
- Os polissacarídeos diminuíram de forma significativa a quantidade de nitrito no estômago dos animais ulcerados sugerindo o possível envolvimento do óxido nítrico no mecanismo de ação;
- Isto posto, demonstramos que o mecanismo de ação gastroprotetor da Goma Guar e GFD é dependente da via NO/KATP. O bloqueio farmacológico com o uso do L-NAME e a Glibenclamida reverteu a gastroproteção dos dois polissacarídeos observado na avaliação do GSH, MDA, MPO e Nitrito.

A compreensão dos mecanismos pelos quais a goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*) aumentam a gastroproteção poderá ser um alvo importante para o desenvolvimento de novas terapêuticas farmacológicas nas lesões inflamatórias estomacais.

REFERÊNCIAS

- ABBDOUD, Kahlile *et al.* Gastroprotective effect of soluble dietary fibres from yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) peel against ethanol-induced ulcer in rats. **Journal of functional foods**, [S. l.], v. 54, p. 552-558, mar. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1756464619300660>. Acesso em: 10 out. 2019.
- ALCARAZ, Maria Jose; JIMENEZ, Maria Jose. Protective effects of hypolaetin-8-glucoside on the rat gastric mucosa. **Progress in clinical and biological research**, [S. l.], v. 280, p. 183-186, jan. 1988. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/med/3174691>. Acesso em: 19 mai. 2019.
- ALVAREZ-SUAREZ, José M. *et al.* Strawberry polyphenols attenuate ethanol-induced gastric lesions in rats by activation of antioxidant enzymes and attenuation of MDA increase. **PLoS One**, São Francisco, v. 6, n. 10, p. e25878, out. 2011. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0025878>. Acesso em: 15 mai. 2019.
- ANTONISAMY, Paulrayer *et al.* Experimental study on gastroprotective efficacy and mechanisms of luteolin-7-O-glucoside isolated from *Ophiorrhiza mungos* Linn. in different experimental models. **Journal of functional foods**, [S. l.], v. 25, p. 302-313, ago. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464616301451>. Acesso em: 5 mai. 2019.
- ANTONISAMY, Paulrayer *et al.* Protective effects of friedelin isolated from *Azima tetracantha* Lam. against ethanol-induced gastric ulcer in rats and possible underlying mechanisms. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 750, p. 167-175, mar. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299915000370>. Acesso em: 5 mai. 2019.
- AVERY, Simon V. Molecular targets of oxidative stress. **Biochemical Journal**, v. 434, n. 2, p. 201-210, fev. 2011. Disponível em: <http://www.biochemj.org/content/434/2/201.abstract>. Acesso em: 3 mai. 2019.
- AWAAD, Amani S. *et al.* Antiulcerogenic activities of the extracts and isolated flavonoids of *Euphorbia cuneata* Vahl. **Phytotherapy Research**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 126-130, out. 2013. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.4872>. Acesso em: 2 mai. 2019.
- AZERO, Edwin G.; ANDRADE, Cristina T. Testing procedures for galactomannan purification. **Polymer Testing**, [S. l.], v. 21, n. 5, p. 551-556, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142941801001234>. Acesso em: 18 mai. 2019.
- BECK, Paul L. *et al.* Characterization of spontaneous and ethanol-induced gastric damage in cirrhotic rats. **Gastroenterology**, [S. l.], v. 103, n. 3, p. 1048-1055, set. 1992. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/001650859290042W>. Acesso em: 15 mai. 2019.

BEZERRA, S. B. *et al.* Bisabolol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: role of prostaglandins, nitric oxide, and K⁺ ATP channels. **Journal of medicinal food**, New York, v. 12, n. 6, p. 1403-1406, dez. 2009. Disponível em:

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal. Biochem**, [S. l.], v. 72, n. 1-2, p. 248-254, mai. 1976. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269776905273?via%3Dihub>. Acesso em: 2 mai. 2019.

BRADLEY, Peter P.; CHRISTENSEN, Robert D.; ROTHSTEIN, Gerald. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 618-622, 1982. Disponível em: <http://www.bloodjournal.org/content/60/3/618.short?sso-checked=true>. Acesso em: 12 mai. 2019.

BREDT, David S.; SNYDER, Solomon H. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 87, n. 2, p. 682-685, jan. 1990. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/87/2/682.short>. Acesso em: 12 mai. 2019.

BRUNE, Kay; BICKEL, Daniela; PESKAR, Bernhard A. Gastro-Protective Effects by Extracts of *Petasites hybridus*: The Role of Inhibition of Peptido-Leukotriene Synthesis. **Planta Medica**, [S. l.], v. 59, n. 06, p. 494-496, 1993. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-2006-959746>. Acesso em: 15 mai. 2019.

BRZOZOWSKI, T. *et al.* Exogenous and endogenous ghrelin in gastroprotection against stress-induced gastric damage. **Regulatory peptides**, [S. l.], v. 120, n. 1-3, p. 39-51, ago. 2004. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167011504000503>. Acesso em: 15 mai. 2019.

BUCKLEY, James F.; SINGER, Mervyn; CLAPP, Lucie H. Role of KATP channels in sepsis. **Cardiovascular research**, [S. l.], v. 72, n. 2, p. 220-230, nov. 2006. Disponível em: <https://academic.oup.com/cardiovasces/article/72/2/220/277302>. Acesso em: 13 mai. 2019.

BYEON, Siyul *et al.* Protective Effects of *Dioscorea batatas* Flesh and Peel Extracts against Ethanol-Induced Gastric Ulcer in Mice. **Nutrients**, Basel, v. 10, n. 11, p. 1680, nov. 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/10/11/1680>. Acesso em: 3 mai. 2019.

CARLOTTO, Juliane *et al.* A polysaccharide fraction from “ipê-roxo” (*Handroanthus heptaphyllus*) leaves with gastroprotective activity. **Carbohydrate polymers**, [S. l.], v. 226, p. 115239, 2019. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861719309063>. Acesso em: 10 out. 2019.

CASTRO, R. R. *et al.* A quantitative approach to measure joint pain in experimental osteoarthritis—evidence of a role for nitric oxide. **Osteoarthritis and cartilage**, [S. l.], v. 14, n. 8, p. 769-776, ago. 2006. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1063458406000148>. Acesso em: 11 mai. 2019.

CASTRO, Rondinelle Ribeiro *et al.* Analgesic activity of a polysaccharide in experimental osteoarthritis in rats. **Clinical rheumatology**, [S. l.], v. 26, n. 8, p. 1312-1319, jan. 2007. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/s10067-006-0506-9>. Acesso em: 8 mai. 2019.

CHAMBERLAIN, J. A tendency to pay more attention to what something is called rather than what it is. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, [S. l.], v. 45, n. 9, p. 769, set. 1993. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7903361>. Acesso em 8 mai. 2019.

CHÁVEZ-PIÑA, Aracely Evangelina; TAPIA-ÁLVAREZ, Gabriela Rubí; NAVARRETE, Andrés. Inhibition of endogenous hydrogen sulfide synthesis by PAG protects against ethanol-induced gastric damage in the rat. **European journal of pharmacology**, [S. l.], v. 630, n. 1-3, p. 131-136, mar. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299909011388>. Acesso em: 5 mai. 2019.

CHEN, Haiming *et al.* Protective effects of pogostone from *Pogostemonis Herba* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **Fitoterapia**, [S. l.], v. 100, p. 110-117, jan. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X14003153>. Acesso em: 4 mai. 2019.

CHO, C. H. *et al.* Study of the gastrointestinal protective effects of polysaccharides from *Angelica sinensis* in rats. **Planta Medica**, [S. l.], v. 66, n. 04, p. 348-351, 2000. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-2000-8552>. Acesso em: 15 mai. 2019.

CHO, Chi Hin; OGLE, Clive W. The pharmacological differences and similarities between stress-and ethanol-induced gastric mucosal damage. **Life Sciences**, [S. l.], v. 51, n. 24, p. 1833-1842, 1992. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/002432059290034M>. Acesso em: 15 mai. 2019.

COLLIN, Solène *et al.* Vascular ATP-sensitive potassium channels are over-expressed and partially regulated by nitric oxide in experimental septic shock. **Intensive care medicine**, [S. l.], v. 37, n. 5, p. 861-869, mar. 2011. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/s00134-011-2169-5>. Acesso em: 20 mai. 2019.

CORDEIRO, Kátia Wolff *et al.* Antiulcerogenic effect of *Croton urucurana* Baillon bark. **Journal of ethnopharmacology**, [S. l.], v. 143, n. 1, p. 331-337, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874112004448>. Acesso em: 15 mai. 2019.

CORNE, S. J.; MORRISSEY, S. M.; WOODS, R. J. Proceedings: A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. **The Journal of physiology**, London v. 242, n. 2, p. 116P-117P, out. 1974. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4142046>. Acesso em: 13 mai. 2019.

CRISTONI, A.; MAGISTRETTI, M. J. Antiulcer and healing activity of *Vaccinium myrtillus*

anthocyanosides. **II Farmaco; edição prática**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 29, fev. 1987. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3582621>. Acesso em: 19 mai. 2019.

CUNHA, Pablyana L. R. *et al.* Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* Tul. seeds as a potential guar gum substitute. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 880-885, mai. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X08001148>. Acesso em 10 mai. 2019.

CUNHA, Pablyana L. R. *et al.* Oxidation of cashew tree gum exudate polysaccharide with TEMPO reagent. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 85-92, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-50532007000100009&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 9 mai. 2019.

CUNHA, Pablyana L. R.; PAULA, Regina C. M.; FEITOSA, Judith P. A. Purification of guar gum for biological applications. **International journal of biological macromolecules**, [S. l.], v. 41, n. 3, p. 324-331, ago. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813007001067>. Acesso em: 10 mai. 2019.

CUNHA, Pablyana L.R. *et al.* Hydrogel of guar gum in experimental osteoarthritis in rats. **Macromolecular Symposia**, [S. l.], v. 266, n. 1, p. 48-52, jun. 2008. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/masy.200850609>. Acesso em: 2 mai. 2019.

CUNHA, Pablyana Leila Rodrigues. **Desenvolvimento de polissacarídeos com ação terapêutica em osteoartrites**. 2006. 209 f. Tese (Doutor em Química Inorgânica) – Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

DAMASCENO, Samara R. B. *et al.* Role of the NO/KATP pathway in the protective effect of a sulfated-polysaccharide fraction from the algae *Hypnea musciformis* against ethanol-induced gastric damage in mice. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 320-328, mar. /abr. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0102695X13700425>. Acesso em 8 mai. 2019.

DAS, Dipak; BANERJEE, Ranajit K. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. **Molecular and cellular biochemistry**, [S. l.], v. 125, n. 2, p. 115-125, ago. 1993. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/BF00936440>. Acesso em: 3 mai. 2019.

DE LA LASTRA, Alarcon; MARTIN, M. J.; MOTILVA, V. Antiulcer and gastroprotective effects of quercetin: a gross and histologic study. **Pharmacology**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 56-62, 1994. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Abstract/139162>. Acesso em: 5 mai. 2019.

DE MILITO, Angelo *et al.* A atividade antitumoral dependente do pH dos inibidores da bomba de prótons contra o melanoma humano é mediada pela inibição da acidez do tumor. **Revista internacional de câncer**, [S. l.], v. 127, n. 1, p. 207-219, abr. 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.25009>. Acesso em: 15 mai. 2019.

DEKANSKI, D.; RISTIĆ, S.; MITROVIĆ, D. M. Antioxidant effect of dry olive (*Olea europaea* L.) leaf extract on ethanol-induced gastric lesions in rats. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, [S. l.], v. 2, n. 3, p. 205-211, out. 2009. Disponível em: <https://content.iospress.com/articles/mediterranean-journal-of-nutrition-and-metabolism/mnm2-3-07>. Acesso em: 4 mai. 2019.

DI CARLO, G. *et al.* Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 45, n. 12, p. 1054-1059, dez. 1993. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.2042-7158.1993.tb07180.x>. Acesso em: 19 mai. 2019.

DINIZ, Polyana Borges França. **Efeitos gastroprotetores do timol em úlceras agudas e crônicas em ratos: evidências do envolvimento das prostaglandinas, canais para potássio sensíveis a ATP e secreção do muco gástrico**. 2016. 100 f. Tese (Doutor em Ciências Fisiológicas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2016. Disponível em: <https://www.monografias.ufs.br/handle/riufs/3963>. Acesso 10 out. 2019.

EBERHART, Charles E.; DUBOIS, Raymond N. Eicosanoids and the gastrointestinal tract. **Gastroenterology**, [S. l.], v. 109, n. 1, p. 285-301, jul. 1995. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0016508595902961>. Acesso em: 15 mai. 2019.

ENGEN, Phillip A. *et al.* The gastrointestinal microbiome: alcohol effects on the composition of intestinal microbiota. **Alcohol research: current reviews**, [S. l.], v. 37, n. 2, p. 223, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4590619/>. Acesso em: 17 mai. 2019.

FÉRES, C. A. O. *et al.* Acute and chronic toxicological studies of *Dimorphandra mollis* in experimental animals. **Journal of ethnopharmacology**, [S. l.], v. 108, n. 3, p. 450-456, dez. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106003163>. Acesso em: 17 mai. 2019.

FILIZOLA, Bruno de Carvalho. **Boas Práticas de Manejo para o Extrativismo Sustentável da Fava d'anta**. Brasília. 2013. 76 p.

GISBERT, Javier P. Potent gastric acid inhibition in *Helicobacter pylori* eradication. **Drugs**, [S. l.], v. 65, n. 1, p. 83-96, nov. 2005. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.2165/00003495-200565001-00012>. Acesso em: 9 mai. 2019.

GOMES, Antoniella S. *et al.* Gastroprotective effect of heme-oxygenase 1/biliverdin/CO pathway in ethanol-induced gastric damage in mice. **European journal of pharmacology**, [S. l.], v. 642, n. 1-3, p. 140-145, set. 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014299910004735>. Acesso em 15 mai. 2019.

GONG, Jingwen *et al.* Effects and possible mechanisms of *Alpinia officinarum* ethanol extract on indomethacin-induced gastric injury in rats. **Pharmaceutical biology**, [S. l.], v. 56, n. 1, p. 294-301, mai. 2018. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13880209.2018.1450426>. Acesso em: 16 mai. 2019.

GRAZIANI, G. *et al.* Apple polyphenol extracts prevent damage to human gastric epithelial cells in vitro and to rat gastric mucosa in vivo. **Gut**, [S. l.], v. 54, n. 2, p. 193-200, jan. 2005. Disponível em: <https://gut.bmj.com/content/54/2/193.short>. Acesso em: 15 mai. 2019.

GREEN, L. C.; GOLDMAN, P. Nitrate synthesis in Parkinson's disease using the model of the 6-hydroxydopamine and MPTP. **Ann. NY Acad. Sci**, New York v. 899, p. 262-273, 2000. Disponível em: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/loi/17496632/year/2000>. Acesso em: 1 mai. 2019.

GYIRES, Klara *et al.* Alpha-2 adrenergic and opioid receptor-mediated gastroprotection. **Journal of Physiology-Paris**, Paris, v. 94, n. 2, p. 117-121, mar. 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928425700001510>. Acesso em: 5 mai. 2019.

HALABI, Mohammed Farouq *et al.* Gastroprotective activity of ethyl-4-[(3, 5-di-tert-butyl-2-hydroxybenzylidene) amino] benzoate against ethanol-induced gastric mucosal ulcer in rats. **PloS one**, São Francisco, v. 9, n. 5, p. e95908, mai. 2014. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0095908>. Acesso em: 2 mai. 2019.
<https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jmf.2008.0290>. Acesso em 6 mai. 2019.

ITO, S. *et al.* Rapid repair of injured gastric mucosa. **Scand J Gastroenterol Suppl.**, [S. l.], v. 101, p. 85-87. 1984. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6336239>. Acesso em: 19 mai. 2019.

JAISWAL, Sunil Kumar; RAO, CH. V. Evaluation of standardized fractions of Basella alba leaves as gastroprotective activity on ulcerated rats. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, [S. l.], v. 16, n. 4, p. 339-347, dez. 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13596-016-0244-8>. Acesso em: 2 mai. 2019.

JEONG, Choon Sik. Effect of Butanol Fraction of Panax ginseng Head on Gastric Lesion and Ulcer. **Archives of pharmacal research**, [S. l.], v. 25, n. 1, p. 61, 2002. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/BF02975263>. Acesso em: 15 mai. 2019.

JOO, Moon Kyung; PARK, Jong-Jae; CHUN, Hoon Jai. Proton pump inhibitor: The dual role in gastric cancer. **World journal of gastroenterology**, [S. l.], v. 25, n. 17, p. 2058, mai. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6506576/>. Acesso em: 19 mai. 2019.

JOO, Moon Kyung; PARK, Jong-Jae; CHUN, Hoon Jai. Proton pump inhibitor: The dual role in gastric cancer. **World journal of gastroenterology**, [S. l.], v. 25, n. 17, p. 2058-2070, mai. 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6506576/>. Acesso em: 20 mai. 2019.

KAHRAMAN, Ahmet *et al.* The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. **Toxicology**, [S. l.], v. 183, n. 1-3, p. 133-142, fev. 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X02005140>.

Acesso em: 15 mai. 2019.

KANTER, Mehmet; COSKUN, Omer; UYSAL, Hamdi. The antioxidative and antihistaminic effect of *Nigella sativa* and its major constituent, thymoquinone on ethanol-induced gastric mucosal damage. **Archives of toxicology**, [S. l.], v. 80, n. 4, p. 217-224, abr. 2006.

Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/s00204-005-0037-1>. Acesso em: 15 mai. 2019.

KATO, Shinichi *et al.* Role of nitric oxide in regulation of gastric acid secretion in rats: effects of NO donors and NO synthase inhibitor. **British journal of pharmacology**, [S. l.], v. 123, n. 5, p. 839-846, fev. 1998. Disponível em:

<https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1038/sj.bjp.0701691>. Acesso em: 12 mai. 2019.

KATO, Sosuke *et al.* High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. **International journal of cancer**, [S. l.], v. 119, n. 7, p. 1558-1566, jul. 2006. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ijc.21810>. Acesso em: 15 mai. 2019.

KATZUNG, Bertram G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 9^o ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2005. p. 43-44.

KETULY, Kamal A. *et al.* Acute toxicity and gastroprotection studies with a newly synthesized steroid. **PloS one**, São Francisco, v. 8, n. 3, p. e59296, mar. 2013. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0059296>. Acesso em: 3 mai. 2019.

KEYES, Katherine M. *et al.* Alcohol consumption in later life and mortality in the United States: results from 9 waves of the Health and Retirement Study. **Alcoholism: clinical and experimental research**, jul. 2019. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/acer.14125>. Acesso em: 17 mai. 2019.

KHATTAB, Mahmoud M.; GAD, Mohamed Z.; ABDALLAH, Dalaal. Protective role of nitric oxide in indomethacin-induced gastric ulceration by a mechanism independent of gastric acid secretion. **Pharmacological research**, [S. l.], v. 43, n. 5, p. 463-467, mai. 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661801908011>. Acesso em: 4 mai. 2019.

KIM, Sangwon F. The nitric oxide-mediated regulation of prostaglandin signaling in medicine. In: **Vitamins & Hormones**, [S. l.], v. 96, p. 211-245. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012800254400009X>. Acesso em: 10 mai. 2019.

KLEINE, Andreas; KLUGE, Stefan; PESKAR, Brigitta M. Stimulation of prostaglandin biosynthesis mediates gastroprotective effect of rebamipide in rats. **Digestive diseases and sciences**, [S. l.], v. 38, n. 8, p. 1441-1449, ago. 1993. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/BF01308601>. Acesso em: 10 mai. 2019.

KLEIN-JÚNIOR, Luiz C. *et al.* The protective potential of *Phyllanthus niruri* and corilagin on

gastric lesions induced in rodents by different harmful agents. **Planta medica**, New York, v. 83, n. 01/02, p. 30-39, jan. 2017. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0042-107356>. Acesso em: 2 mai. 2019.

KONTUREK, P. Ch. *et al.* Involvement of nitric oxide and prostaglandins in gastroprotection induced by bacterial lipopolysaccharide. **Scandinavian journal of gastroenterology**, Scadinavian v. 33, n. 7, p. 691-700, 1998. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00365529850171611>. Acesso em: 9 mai. 2019.

KONTUREK, S. J. *et al.* Gastric protection by meciadanol. A new synthetic flavonoid inhibiting histidine decarboxylase. **Dig Dis Sci**, [S. l.], v. 31, n. 8, p. 847-852, ago. 1986. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3525045>. Acesso em: 18 mai. 2019.

KONTUREK, S. J. *et al.* Transforming growth factor alpha and epidermal growth factor in protection and healing of gastric mucosal injury. **Scandinavian journal of gastroenterology**, Scandinavian, v. 27, n. 8, p. 649-655, mar. 1992. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/00365529209000134>. Acesso em: 10 mai. 2019.

KUBES, P.; SUZUKI, M.; GRANGER, D. N. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 88, n. 11, p. 4651-4655, jun. 1991. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/88/11/4651.short>. Acesso em: 4 mai. 2019.

LAINE, Loren; WEINSTEIN, Wilfred M. Histology of alcoholic hemorrhagic “gastritis”: a prospective evaluation. **Gastroenterology**, [S. l.], v. 94, n. 6, p. 1254-1262, jun. 1988. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0016508588906610>. Acesso em: 11 mai. 2019.

LAJILI, Sirene *et al.* Characterization of sulfated polysaccharide from *Laurencia obtusa* and its apoptotic, gastroprotective and antioxidant activities. **International journal of biological macromolecules**, [S. l.], v. 126, p. 326-336, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014181301832909X>. Acesso em: 10 out. 2019.

LANDIM, Leonardo P.; DA COSTA, José Galberto Martins. *Dimorphandra Gardneriana* Tulasne (Fava d’anta)-Uma abordagem etnobotânica e riscos de extinção. **Revista da Biologia**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 6-11, abr. 2018. Disponível em: <http://www.periodicos.usp.br/revbiologia/article/view/108726>. Acesso em: 17 mai. 2019.

LEE, Jeong-Sang *et al.* Protective effects of green tea polyphenol extracts against ethanol-induced gastric mucosal damages in rats: stress-responsive transcription factors and MAP kinases as potential targets. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, [S. l.], v. 579, n. 1-2, p. 214-224, nov. 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0027510705002563>. Acesso em: 17 mai. 2019.

LEE, Seulah *et al.* Antigastritis effects of *Armillariella tabescens* (Scop.) Sing. and the identification of its anti-inflammatory metabolites. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 70, n. 3, p. 404-412, jan. 2018. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jphp.12871>. Acesso em: 15 mai. 2019.

LEEDHAM, Simon; JANKOWSKI, Janusz. The evidence base of proton pump inhibitor chemopreventative agents in Barrett's esophagus-: The good, the bad, and the flawed!. **The American journal of gastroenterology**, [S. l.], v. 102, n. 1, p. 21-23, jan. 2007. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/med/17266685>. Acesso em: 12 mai. 2019.

LI, Gang *et al.* A New Participant in the Pathogenesis of Alcoholic Gastritis: Pyroptosis. **Cellular Physiology and Biochemistry**, Basileia, v. 49, n. 1, p. 406-418, set. 2018. Disponível em: <https://www.karger.com/Article/Abstract/492902>. Acesso em: 17 mai. 2019.

LI, Jiankuan *et al.* Structure Features and Anti-Gastric Ulcer Effects of Inulin-Type Fructan CP-A from the Roots of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. **Molecules**, [S. l.], v. 22, n. 12, p. 2258, dez. 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/12/2258>. Acesso em: 3 mai. 2019.

LUNARDI, C. N. *et al.* Cytosolic calcium concentration is reduced by photolysis of a nitrosyl ruthenium complex in vascular smooth muscle cells. **Nitric Oxide**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 252-258, nov. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1089860306000310>. Acesso em: 5 mai. 2019.

LUZ, Bruna Barbosa da *et al.* Chemical composition, antioxidant and gastrointestinal properties of *Sedum dendroideum* Moc & Sessé ex DC leaves tea infusion. **Journal of ethnopharmacology**, [S. l.], v. 231, p. 141-151, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874118330964>. Acesso em 10 out. 2019.

LYKKESFELDT, Jens. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. **Clinica chimica acta**, [S. l.], v. 380, n. 1-2, p. 50-58, mai. 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898107000587>. Acesso em: 3 mai. 2019.

MARLETTA, Michael A. Nitric oxide synthase structure and mechanism. **J. Biol. Chem.**, [S. l.], v. 268, n. 17, p. 12231-12234, jun. 1993. Disponível em: <http://www.jbc.org/content/268/17/12231.full.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2019.

MARTINS, Anita Oliveira Brito Pereira Bezerra *et al.* Antimicrobial, Gastroprotective and Healing Effect of the Hydroalcoholic Extract of *Astronium fraxinifolium*. **Letters in Drug Design & Discovery**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 325-334, mar. 2018. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/150074>. Acesso em: 15 mai. 2019.

MEDEIROS, J. V. R. *et al.* Role of the NO/cGMP/KATP pathway in the protective effects of sildenafil against ethanol induced gastric damage in rats. **British Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 153, n. 4, p. 721-727, jan. 2008. Disponível em: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1038/sj.bjp.0707605>. Acesso em: 3 mai. 2019.

MEDEIROS, Jand Venes R. *et al.* Hydrogen sulfide prevents ethanol-induced gastric damage

in mice: role of ATP-sensitive potassium channels and capsaicin-sensitive primary afferent neurons. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [S. l.], v. 330, n. 3, p. 764-770, set. 2009. Disponível em: <http://jpet.aspetjournals.org/content/330/3/764.short>. Acesso em: 5 mai. 2019.

MEDEIROS, Jand-Venes Rolim. **Efeito gastroprotetor do sildenafil (viagra®) na lesão gástrica induzida por álcool em ratos : papel do óxido nítrico, do cGMP e dos canais de potássio sensíveis ao ATP** 2006. 121 f. Dissertação (Mestre em Farmacologia) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2006.

MEDEIROS, Jand-Venes Rolim. **Efeitos Gastroprotetor e Procinético do Sulfeto de Hidrogênio (H₂S) em Camundongos - Papel dos Neurônios Aferentes Sensíveis à Capsaicina, Receptores de Vanilóides do tipo 1 (TRPV1) e Canais de K ATP-Dependentes (KATP)**. 2009. 122 f. Tese (Doutor em Farmacologia) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2009.

MIZUI, Takuji *et al.* Effect of antiperoxidative drugs on gastric damage induced by ethanol in rats. **Life sciences**, [S. l.], v. 41, n. 6, p. 755-763, ago. 1987. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0024320587904565>. Acesso em: 15 mai. 2019.

MIZUI, Takuji; DOTEUCHI, Masami. Lipid peroxidation: a possible role in gastric damage induced by ethanol in rats. **Life sciences**, [S. l.], v. 38, n. 23, p. 2163-2167, jun. 1986. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/002432058690216X>. Acesso em: 15 mai. 2019.

MOHARRAM, Fatma Abd-elkader *et al.* Phenolic profile, anti-inflammatory, antinociceptive, anti-ulcerogenic and hepatoprotective activities of *Pimenta racemosa* leaves. **BMC complementary and alternative medicine**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 208, jul. 2018. Disponível em: <https://bmccomplementalmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-018-2260-3>. Acesso em: 17 mai. 2019.

MONCADA, S. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. **Pharmacol rev**, [S. l.], v. 43, p. 109-142, 1991. Disponível em: <https://ci.nii.ac.jp/naid/10009922604/>. Acesso em: 15 mai. 2019.

MONTEIRO, Aliny Abreu de Sousa Monteiro. **Síntese e caracterização de géis de galactomanana de Fava Danta (*Dimorphandra gardneriana*) para aplicação biológica**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestre) – Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.

MONTEIRO, Carlos Eduardo da Silva *et al.* Gastroprotective effects of N-acylarylhydrazone derivatives on ethanol-induced gastric lesions in mice are dependent on the NO/cGMP/KATP pathway. **Biochemical pharmacology**, [S. l.], v. 169, p. 113629, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295219303284>. Acesso em: 15 mai. 2019.

MORAIS, Talita C. *et al.* Protective effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. **Chemico-biological interactions**, [S. l.], v. 183, n. 1, p. 264-269, jan. 2010. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279709004372>. Acesso em 6 mai. 2019.

MORONEY, M-A. *et al.* Selectivity of neutrophil 5 lipoxygenase and cyclooxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 40, n. 11, p. 787-792, nov. 1988. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.2042-7158.1988.tb05173.x>. Acesso em: 18 mai. 2019.

MOTILVA, V. *et al.* Effects of naringenin and quercetin on experimental chronic gastric ulcer in rat. Studies on the histological findings. **Phytotherapy Research**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 168-170, jun. 1992. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.2650060317>. Acesso em: 18 mai. 2019.

NA, Hye-Kyung; LEE, Ja Young. Molecular basis of alcohol-related gastric and colon cancer. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 18, n. 6, p. 1116, mai. 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/18/6/1116>. Acesso em: 15 mai. 2019.

NAITO, Yuji *et al.* Partially hydrolyzed guar gum down-regulates colonic inflammatory response in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. **The Journal of nutritional biochemistry**, [S. l.], v. 17, n. 6, p. 402-409, jun. 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955286305002202>. Acesso em: 2 mai. 2019.

NETO, E. Moura *et al.* Chemically sulfated galactomannan from *Dimorphandra gardneriana* seed: Characterization and toxicity evaluation. **Carbohydrate polymers**, [S. l.], v. 101, p. 1013-1017, jan. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861713010473>. Acesso em: 17 mai. 2019.

NISHIDA, K. *et al.* Molecular cloning and characterization of the constitutive bovine aortic endothelial cell nitric oxide synthase. **The Journal of clinical investigation**, [S. l.], v. 90, n. 5, p. 2092-2096, nov. 1992. Disponível em: <https://www.jci.org/articles/view/116092>. Acesso em: 15 mai. 2019.

NUNES, P. H. M. *et al.* Antiulcerogenic activity of *Combretum leprosum*. **Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 64, n. 1, p. 58-62, 2009. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/content/govi/pharmaz/2009/00000064/00000001/art00011>. Acesso em: 15 mai. 2019.

O'SULLIVAN, Laurie *et al.* Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. **Marine drugs**, Basel, v. 8, n. 7, p. 2038-2064, jul. 2010. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/8/7/2038>. Acesso em: 10 mai. 2019.

OATES, Peter J.; HAKKINEN, John P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, [S. l.], v. 94, n. 1, p. 10-21, jan. 1988. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/001650858890604X>. Acesso em: 10 mai. 2019.

PAIVA, L. A. F. *et al.* Gastroprotective effect of *Copaifera langsdorffii* oleo-resin on experimental gastric ulcer models in rats. **Journal of ethnopharmacology**, [S. l.], v. 62, n. 1, p. 73-78, 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874198000580>. Acesso em: 15 mai. 2019.

PANEGASSI, Valéria Regina; SERRA, Gil Eduardo; BUCKERIDGE, Marcos Silveira. Potencial tecnológico do galactomanano de sementes de faveiro (*Dimorphandra mollis*) para uso na indústria de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v. 20, n. 3, p. 406-415, 2000. Disponível em: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=SCBR.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=010588>. Acesso em: 18 mai. 2019.

PANTOJA, Patrícia da Silva *et al.* The polysaccharide-rich tea of *Ximenia americana* barks prevents indomethacin-induced gastrointestinal damage via neutrophil inhibition. **Journal of ethnopharmacology**, [S. l.], v. 224, p. 195-201, out. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874118304860>. Acesso em: 17 mai. 2019.

PARK, J. *et al.* Clinical efficacy and follow-up outcomes of endoscopic resection for early gastric cancer with liver cirrhosis, comparison with EGC without LC. **Helicobacter**, [S. l.], v. 23, n. suppl1, p. e12525, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/hel.12525>. Acesso em: 1 mai. 2019.

PARK, Jae-Heung *et al.* Ganoderma lucidum pharmacopuncture for treating ethanol-induced chronic gastric ulcers in rats. **Journal of pharmacopuncture**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 72, mar. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4379478/>. Acesso em: 3 mai. 2019.

PARK, So-Young; SONG, In-Hwan; CHO, Young-Je. Elicitor treatment potentiates the preventive effect of *Saururus chinensis* leaves on stress-induced gastritis. **Applied Biological Chemistry**, [S. l.], v. 61, n. 4, p. 423-431, ago. 2018. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/s13765-018-0375-3>. Acesso em: 17 mai. 2019.

PARSONS, Bryony N. *et al.* Comparison of the human gastric microbiota in hypochlorhydric states arising as a result of *Helicobacter pylori*-induced atrophic gastritis, autoimmune atrophic gastritis and proton pump inhibitor use. **PLOS Pathogens**, San Francisco, v. 13, n. 11, p. e1006653, nov. 2017. Disponível em: <https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1006653>. Acesso em: 1 mai. 2019.

PESKAR, Brigitta M.; EHRLICH, Karlheinz; PESKAR, Bernhard A. Role of ATP-sensitive potassium channels in prostaglandin-mediated gastroprotection in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, [S. l.], v. 301, n. 3, p. 969-974, jun. 2002. Disponível em: <http://jpet.aspetjournals.org/content/301/3/969.short>. Acesso em: 6 mai. 2019.

PIANO, Mariann R. Alcohol's effects on the cardiovascular system. **Alcohol research: current reviews**, [S. l.], v. 38, n. 2, p. 219, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5513687/>. Acesso em: 17 mai. 2019.

PINTO, A. *et al.* Time course of PAF formation by gastrointestinal tissue in rats after castor oil challenge. **The Journal of pharmacy and pharmacology**, [S. l.], v. 44, n. 3, p. 224-226, mar. 1992. Disponível em: <https://europepmc.org/abstract/med/1354728>. Acesso em: 19 mai. 2019.

PINTO, I. R. *et al.* Antiulcer and Antioxidant Activity of a Lectin from *Mucuna pruriens* Seeds on Ethanol- induced Gastropathy: Involvement of Alpha-2 Adrenoceptors and Prostaglandins. *Curr Pharm Des.*, [S. l.], v. 25, n. 12, p. 1430-1439, 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31124421>. Acesso em: 10 out. 2019.

PRAJAPATI, Vipul D. *et al.* Galactomannan: a versatile biodegradable seed polysaccharide. **International journal of biological macromolecules**, [S. l.], v. 60, p. 83-92, set. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813013002808>. Acesso em: 17 mai. 2019.

RADOMSKI, M. W.; PALMER, R. M.; MONCADA, S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [S. l.], v. 87, n. 13, p. 5193-5197, 1990. Disponível em: <https://www.pnas.org/content/87/13/5193.short>. Acesso em: 12 mai. 2019.

RAJESHKUMAR, N. V.; THERESE, Marie; KUTTAN, Ramadasan. Emblica officinalis Fruits Afford Protection Against Experimental Gastric Ulcers in Rats. **Pharmaceutical Biology**, [S. l.], v. 39, n. 5, p. 375–380. 2001. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1076/phbi.39.5.375.5902>. Acesso em: 15 mai. 2019.

REPETTO, M. G.; LLESUY, S. F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian journal of medical and biological research**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 5, p. 523-534, mai. 2002. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-879X2002000500003&script=sci_arttext&tlng=es. Acesso em: 3 mai. 2019.

ROCCO, Alba *et al.* Alcoholic disease: liver and beyond. **World journal of gastroenterology: WJG**, [S. l.], v. 20, n. 40, p. 14652-14659, out. 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4209531/>. Acesso em: 17 mai. 2019.

ROSENKRANZ, S. Alcohol consumption and arterial hypertension. **Dtsch Med Wochenschr**, [S. l.], v. 128, n. 47, p. 2497-2502, dez. 2003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14628259>. Acesso em: 18 mai. 2019.

SALGA, Muhammad Saleh *et al.* Acute oral toxicity evaluations of some zinc (II) complexes derived from 1-(2-Salicylaldiminoethyl) piperazine schiff bases in rats. **International journal of molecular sciences**, Basel, v. 13, n. 2, p. 1393-1404, jan. 2012. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/13/2/1393>. Acesso em: 3 mai. 2019.

SALVALAGGIO, Marina de Oliveira. **Galactomananas de sementes de espécies brasileiras: otimização da extração, caracterização físico-química e por espalhamento de luz**. 2010. 113 f. Dissertação (Mestre em Ciências-Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2010.

SAMONINA, G. E. *et al.* Antiulcer effects of amylin: a review. **Pathophysiology**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 1-6, jul. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0928468003000488>. Acesso em: 18 mai. 2019.

SANTANA, Ana Paula M. *et al.* The nitric oxide donor cis-[Ru (bpy) 2 (SO3) NO](PF6) increases gastric mucosa protection in mice—Involvement of the soluble guanylate cyclase/KATP pathway. **Nitric Oxide**, [S. l.], v. 45, p. 35-42, fev. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1089860315000191>. Acesso em: 5 mai. 2019.

SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N. 1, 8-cineol, a food flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric injury in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 331-337, fev. 2001. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1023/A:1005604932760>. Acesso em: 17 mai. 2019.

SAVARINGAL, Jayan Pariyani; SANALKUMAR, K. B. Gastroprotective effect of curcuma longa linn. Against ethanol induced gastric ulcer in rats. **Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 332-337, jan. 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/323938690_GASTROPROTECTIVE_EFFECT_OF_CURCUMA_LONGA_LINN_AGAINST_ETHANOL_INDUCED_GASTRIC_ULCER_IN_RATS. Acesso em: 15 mai. 2019.

SEDLAK, Jozef; LINDSAY, Raymond H. Estimativa dos grupos sulfidril totais, proteicos e não-proteicos no tecido com o reagente de Ellman. **Bioquímica Analítica**, [S. l.], v. 25, p. 192-205, 1968. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Shimin_Liu5/post/GSH_estimation_by_DTNB_method/attachment/59d63d0579197b8077999e7d/AS:418110562684928@1476696734169/download/Sedlak+1968+Estimation+of+total%2C+protein-bound%2C+and+nonprotein+sulfhydryl+groups+in+tissue+with+ellman%27s+reagent.pdf. Acesso em: 10 mai. 2019.

SELMİ, Slimen *et al.* Protective effects of orange (*Citrus sinensis* L.) peel aqueous extract and hesperidin on oxidative stress and peptic ulcer induced by alcohol in rat. **Lipids in health and disease**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 152, ago. 2017. Disponível em: <https://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12944-017-0546-y>. Acesso em: 2 mai. 2019.

SILVA, Renan Oliveira *et al.* Sulfated-polysaccharide fraction from red algae *Gracilaria caudata* protects mice gut against ethanol-induced damage. **Marine drugs**, Basel, v. 9, n. 11, p. 2188-2200, nov. 2011. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/9/11/2188>. Acesso em: 7 mai. 2019.

SO, Hae Min *et al.* Bioactivity evaluations of betulin identified from the bark of *Betula platyphylla* var. *japonica* for cancer therapy. **Archives of pharmacal research**, [S. l.], v. 41, n. 8, p. 815-822, ago. 2018. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/s12272-018-1064-9>. Acesso em: 17 mai. 2019.

SORENSEN, Charlotte Mehlin *et al.* Closure of multiple types of K⁺ channels is necessary to induce changes in renal vascular resistance in vivo in rats. **Pflügers Archiv-European**

Journal of Physiology, [S. l.], v. 462, n. 5, p. 655, ago. 2011. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/s00424-011-1018-2>. Acesso em: 13 mai. 2019.

SOUZA, Luan Kelves M. *et al.* Diminazene acetate, an angiotensin-converting enzyme II activator, prevents gastric mucosal damage in mice: Role of the angiotensin-(1-7)/Mas receptor axis. **Biochemical pharmacology**, [S. l.], v. 112, p. 50-59, jul. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295216301034>. Acesso em: 10 mai. 2019.

STANDEN, N. B. *et al.* Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K⁺ channels in arterial smooth muscle. **Science**, [S. l.], v. 245, n. 4914, p. 177-180, jul. 1989. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/245/4914/177>. Acesso em: 5 mai. 2019.

STRAND, Daniel S.; KIM, Daejin; PEURA, David A. 25 anos de inibidores da bomba de prótons: uma revisão abrangente. **Intestino e fígado**, [S. l.], v. 11, n. 1, p. 27-37, jan. 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5221858/>. Acesso em: 2 mai. 2019.

SÜLEYMAN, H. *et al.* Anti-inflammatory and antiulcerogenic effects of the aqueous extract of *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. **Phytomedicine**, [S. l.], v. 10, n. 6/7, p. 552, 2003. Disponível em: <https://search.proquest.com/openview/8f3c2ce3066f57b83662e94afbfc7c6b/1?pq-origsite=gscholar&cbl=32055>. Acesso em: 15 mai. 2019.

SUN, Yi; OBERLEY, Larry W.; LI, Ying. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. **Clinical chemistry**, v. 34, n. 3, p. 497-500, mar. 1988. Disponível em: <http://clinchem.aaccjnls.org/content/34/3/497.short>. Acesso em: 5 mai. 2019.

SUO, Huayi *et al.* Shuidouchi (fermented soybean) fermented in different vessels attenuates HCl/ethanol-induced gastric mucosal injury. **Molecules**, Basel, v. 20, n. 11, p. 19748-19763, nov. 2015. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/20/11/19654>. Acesso em: 3 mai. 2019.

TAKEUCHI, K. Gastric cytoprotection by prostaglandin E₂ and prostacyclin: relationship to EP1 and IP receptors. **J Physiol Pharmacol**, [S. l.], v. 65, p. 3-14, 2011. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/26eb/af87b8b1a57e3bddc18a0ecf31b62187575b.pdf>. Acesso em: 15 mai. 2019.

TARNAWSKI, A. *et al.* Adaptation of gastric mucosa to chronic alcohol administration is associated with increased mucosal expression of growth factors and their receptor. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, Scadinavian, v. 27, n. sup193, p. 59-63, 1992. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/00365529209096007>. Acesso: 2 mai. 2019.

UCHIYAMA, Mitsuru; MIHARA, Midori. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Analytical biochemistry**, [S. l.], v. 86, n. 1, p. 271-278, mai. 1978. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003269778903421>. Acesso em: 10 mai. 2019.

UNEYAMA, Hisayuki *et al.* Existence of NO-triggered vagal afferent activation in the rat gastric mucosa. **Life sciences**, [S. l.], v. 85, n. 23-26, p. 782-787, dez. 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320509004251>. Acesso em: 5 mai. 2019.

VASCONCELOS, Andreanne Gomes; ARAÚJO, Karla Vasconcelos; SANTANA, Lucas de Araújo Bastos. Polissacarídeos extraídos de algas marinhas e suas aplicações biotecnológicas: uma revisão. **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde**, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 27-51, set. 2015. Disponível em: <https://periodicos.ufrn.br/reb/article/view/5898>. Acesso em: 15 mai. 2019.

VIANA, Ana Flávia Seraine Custódio *et al.* Gastroprotective effect of (-)-myrtenol against ethanol-induced acute gastric lesions: possible mechanisms. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 68, n. 8, p. 1085-1092, jun. 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jphp.12583>. Acesso em: 6 mai. 2019.

VIGNERI, Sergio *et al.* A comparison of five maintenance therapies for reflux esophagitis. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 333, n. 17, p. 1106-1110, out. 1995. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199510263331703>. Acesso em: 15 mai. 2019.

WALLACE, John L. Nitric oxide, aspirin-triggered lipoxins and NO-aspirin in gastric protection. **Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy)**, [S. l.], v. 5, n. 2, p. 133-137, abr. 2006. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/iadt/2006/00000005/00000002/art00007>. Acesso em 7 mai. 2019.

WALLACE, John L.; MA, Li. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. **Experimental Biology and Medicine**, [S. l.], v. 226, n. 11, p. 1003-1015, dez. 2001. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/153537020122601107>. Acesso em: 10 mai. 2019.

WHITTLE, Brendan JR. Neuronal and endothelium-derived mediators in the modulation of the gastric microcirculation: integrity in the balance. **British journal of pharmacology**, [S. l.], v. 110, n. 1, p. 3-17, set. 1993. Disponível em: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1476-5381.1993.tb13763.x>. Acesso em: 7 mai. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Alcohol. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/alcohol>. Acesso em: 18 mai. 2019.

XU, Chen *et al.* A polysaccharide from Aloe vera L. var. chinensis (Haw.) Berger prevents damage to human gastric epithelial cells in vitro and to rat gastric mucosa in vivo. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 24, p. 501-512, jun. 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464616301104>. Acesso em: 2 mai. 2019.

YANDRAPU, Harathi; SAROSIEK, Jerzy. Protective factors of the gastric and duodenal mucosa: an overview. **Current gastroenterology reports**, [S. l.], v. 17, n. 6, p. 24, jun. 2015. Disponível em: <https://rd.springer.com/article/10.1007/s11894-015-0452-2>. Acesso em: 15

mai. 2019.

YANG, H. *et al.* Alveolar bone regeneration potential of a traditional Chinese medicine, Bu-Shen-Gu-Ci-Wan, in experimental periodontitis. **Journal of periodontal research**, v. 49, n. 3, p. 382-389, ago. 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jre.12117>. Acesso em: 10 mai. 2019.

YANG, Yu-Xiao *et al.* Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. **Jama**, [S. l.], v. 296, n. 24, p. 2947-2953, dez. 2006. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/204783>. Acesso em: 10 mai. 2019.

YEO, Dahee *et al.* The aqueous extract from *Artemisia capillaris* inhibits acute gastric mucosal injury by inhibition of ROS and NF- κ B. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 99, p. 681-687, mar. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332217344967>. Acesso em: 4 mai. 2019.

ZHANG, Chen *et al.* Chemical characterization and gastroprotective effect of an isolated polysaccharide fraction from *Bletilla striata* against ethanol-induced acute gastric ulcer. **Food and Chemical Toxicology**, [S. l.], v. 131, p. 1-10, set. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S027869151930314X>. Acesso em: 10 out. 2019.

ZHANG, Yi *et al.* Protective effects of polysaccharide from *Dendrobium nobile* against ethanol-induced gastric damage in rats. **International journal of biological macromolecules**, [S. l.], v. 107, part. A, p. 230-235, fev. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813017333263>. Acesso em: 2 mai. 2019.

ZHOU, Jianfang *et al.* Epidemiology and outcome of severe sepsis and septic shock in intensive care units in mainland China. **PloS one**, [S. l.], v. 9, n. 9, p. e107181, set. 2014. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0107181>. Acesso em: 20 mai. 2019.

ZHU, M. *et al.* Cytoprotective Effects of *Cyperus rotundus* against Ethanol Induced Gastric Ulceration in Rats. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Medical and Scientific Research on Plants and Plant Products**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. 392-394, 1997. Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199708\)11:5%3C392::AID-PTR113%3E3.0.CO;2-1](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/(SICI)1099-1573(199708)11:5%3C392::AID-PTR113%3E3.0.CO;2-1). Acesso em: 15 mai. 2019.

ANEXOS

ANEXO A – CADASTRO DA PESQUISA



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A95D22E

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A95D22E**
 Usuário: **Universidade Federal do Ceará**
 CPF/CNPJ: **07.272.636/0001-31**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Anacardium occidentale
Dimorphandra gardneriana
Caesalpinia pulcherrima
Panaeus brasiliensis

Título da Atividade: **Extração, caracterização e aplicações de polissacarídeos regionais no desenvolvimento de biomaterias e nanopartículas**

Equipe

PABLYANA LEILA RODRIGUES DA CUNHA	Universidade Federal do Ceará
Judith Pessoa de Andrade Feitosa	Universidade Federal do Ceará
Regina Célia Monteiro de Paula	Universidade Federal do Ceará
Jeanny da Silva Maciel	Universidade Federal do Ceará
Rayane Rodrigues de Sousa	Universidade Federal do Ceará
Agda Maria dos Santos Freitas	Universidade Federal do Ceará

Natália Rocha Pires	Universidade Federal do Ceará
Francisco Vagnaldo Fachine Jamararu	Universidade Federal do Ceará
Manoel Odorico de Moraes Filho	Universidade Federal do Ceará
Telma Leda Gomes de Lemos	Universidade Federal do Ceará
Juliana Maria Oliveira de Souza	Universidade Federal do Ceará
Ricardy Leonam Pontes Mesquita	Universidade Federal do Ceará
Aliny Abreu de Souza Monteiro	Universidade Federal do Ceará
RODRIGO COSTA DA SILVA	Universidade Federal do Ceará
Elano Nery Ferreira	Universidade Federal do Ceará
Sabrina Matias dos Santos	Universidade Federal do Ceará
Carlos Pinheiro Chagas de Lima	Universidade Federal do Ceará
José Rubens de Souza Angelotto	Universidade Federal do Ceará
Samile Bezerra de Aguiar	Universidade Federal do Ceará
Alysson Lira Angelim	Universidade Federal do Ceará
Vânia Maria Maciel Melo	Universidade Federal do Ceará

Resultados Obtidos

Divulgação de resultados em meios científicos ou de comunicação

Identificação do meio onde foi divulgado: **Trabalhos publicados em revistas científicas; T**

Data do Cadastro: **05/11/2018 18:14:57**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **16:11** de **15/10/2019**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
ASSOCIADO - **SISGEN**