



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS
NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS
LABORATÓRIO DE FARMACOLOGIA DO TRATO
GASTROINTESTINAL**



MATHEUS MARLEY BEZERRA PESSOA

**ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO CARVEOL E DA
HESPERETINA E ANTI-INFLAMATÓRIA INTESTINAL DO CARVEOL
EM MODELOS ANIMAIS**

João Pessoa

2023

MATHEUS MARLEY BEZERRA PESSOA

**ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO CARVEOL E DA
HESPERETINA E ANTI-INFLAMATÓRIA INTESTINAL DO CARVEOL
EM MODELOS ANIMAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, como parte do requisito para a obtenção do título de mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Orientadora: Prof.^a Dr^a. Leônia Maria Batista

João Pessoa

2023

Catálogo na publicação Seção de Catalogação e Classificação

P475a Pessoa, Matheus Marley Bezerra.

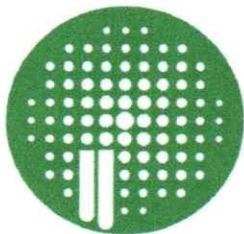
Atividade antiulcerogênica do carveol e da hesperetina e anti-inflamatória intestinal do carveol em modelos animais / Matheus Marley Bezerra Pessoa. - João Pessoa, 2024.
171 f. : il.

Orientação: Leônia Maria Batista. Dissertação
(Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. Carveol. 3. Hesperetina. 4. Atividade cicatrizante gástrica. 5. Atividade antiúlcera duodenal. 6. Atividade anti-inflamatória intestinal. I. Batista, Leônia Maria. II. Título.

UFPB/BC

CDU 547.9(043)



PgPNSB

Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos

Ata da 484ª (quadringentésima octogésima quarta) Dissertação de Mestrado do(a) aluno(a) do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Matheus Marley Bezerra Pessoa**, candidato(a) ao Título de "Mestre" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacologia.

Às nove horas (09h00) do dia seis de setembro do ano de dois mil e vinte e três (06/09/2023), no auditório do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos, da Universidade Federal da Paraíba, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar o(a) discente **Matheus Marley Bezerra Pessoa**, candidato(a) ao Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacologia. Foram componentes da Comissão Examinadora os pesquisadores Islania Giselia Albuquerque Gonçalves, Ph.D em Farmacologia, Marianna Vieira Sobral, Ph.D em Farmacologia, e Leônia Maria Batista, Ph.D em Biologia Funcional e Molecular. Sendo todos integrantes do corpo docente da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o(a) Presidente da Comissão, professor(a) Leônia Maria Batista, após declarar os objetivos da reunião, apresentou o(a) candidato(a) **Matheus Marley Bezerra Pessoa**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO CARVEOL E DA HESPERETINA E ANTI-INFLAMATÓRIA INTESTINAL DO CARVEOL EM MODELOS ANIMAIS". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, o(a) candidato(a) foi arguido(a) pelos examinadores na forma regimental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito APROVADO(A). Em face da aprovação, declarou o(a) Presidente achar-se o(a) examinado(a) **Matheus Marley Bezerra Pessoa** legalmente habilitado(a) a receber o Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na área de concentração Farmacologia, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que o(a) mesmo(a) faz jus. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da Comissão e pelo(a) discente.

Prof.^a Dr.^a *Leônia Maria Batista*
Leônia Maria Batista (Orientadora)
Prof.^a Dr.^a *Islania Giselia Albuquerque Gonçalves*
Islania Giselia Albuquerque Gonçalves (Examinadora)
Prof.^a Dr.^a *Marianna Vieira Sobral*
Marianna Vieira Sobral (Examinadora)
Prof.^a Dr.^a *Matheus Marley Bezerra Pessoa*
Matheus Marley Bezerra Pessoa (Discente)



Dedico este trabalho a todas as mulheres que, com sua força, garra e determinação, inspiram gerações e redefinem limites. Às mulheres que enfrentam desafios com coragem e resiliência, abrindo caminhos onde antes havia obstáculos. Às mães, irmãs, avós, professoras, amigas e colegas, cuja presença e influência enriquecem a minha vida e me motiva a persistir. A todas as mulheres que lutam por igualdade, justiça e mudanças positivas no mundo, moldando um futuro mais brilhante para todos nós.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas e instituições que tornaram possível a realização desta dissertação.

Primeiramente, agradeço à minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Leônia Maria Batista, pela orientação dedicada, insights valiosos e paciência ao longo de todo o processo de pesquisa. Sua orientação foi fundamental para moldar este trabalho e para o meu crescimento acadêmico.

À banca examinadora, composta pela Prof^a. Dr^a. Islania Giselia Albuquerque Gonçalves e pela Prof^a. Dr^a. Marianna Vieira Sobral, agradeço por suas contribuições críticas e sugestões construtivas que ajudaram a aprimorar este trabalho.

Aos alunos do Laboratório de Farmacologia do TGI, em especial a minha grande parceira no Mestrado, Michelle, e aos alunos de iniciação científica: Vitória, Maria Luisa Natan e Ana Clara. E aos que já passaram pelo LFTGI também: Edvaldo e Elaine. Sem a ajuda de vocês, nada disso seria possível.

A professora colaboradora Dra. Aurigena Antunes pela disponibilidade e auxílio para o aprofundamento dos nossos experimentos e resultados. Como também, aos professores Marcelo Sobral e Marianna Sobral, pelo apoio técnico para realização dos experimentos.

Agradeço também aos professores e colegas do PPgPNSB pela troca de conhecimento e pelo ambiente colaborativo que enriqueceram minha jornada acadêmica.

À coordenação e aos funcionários do PPgPNSB pela atenção e cordialidade, em especial às secretárias Caroline Manguiera e Nilmar.

À equipe da Unidade de Produção Animal do IPeFarM, especialmente o bioterista Crispim Duarte e a veterinária Roberta Parentoni, pelo constante apoio e atenção.

Minha gratidão se estende aos meus amigos e familiares, que me apoiaram durante todo esse período, oferecendo palavras de encorajamento e compreensão nos momentos desafiadores, em especial à minha mãe, Elvira Bezerra, e ao meu amor, Diego de Oliveira, por todo o suporte emocional.

A cada um dos animais de laboratório que contribuíram com suas vidas para que este trabalho pudesse ser realizado.

Não posso deixar de agradecer à UFPB, CAPES e CNPq pelo suporte institucional e financeiro fornecido, que possibilitou a realização deste estudo.

Por fim, agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para esta pesquisa e para minha jornada acadêmica, seja com orientação, sugestões, apoio emocional ou inspiração. Este trabalho não teria sido possível sem o esforço coletivo de muitas pessoas e instituições, e por isso sou imensamente grato.

Meu muito obrigado!

"Ninguém educa ninguém, ninguém educa a si mesmo, os homens se educam entre si, mediatizados pelo mundo."

(Paulo Freire)

Resumo

PESSOA, M.M.B. ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DO CARVEOL E DA HESPERETINA E ANTI-INFLAMATÓRIA INTESTINAL DO CARVEOL EM MODELOS ANIMAIS. 2023. 170 p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, CCS/UFPB.

RESUMO

O monoterpene carveol e o flavonoide hesperetina são metabólitos secundários presentes em diversas plantas medicinais, como a *Mentha spicata* (hortelã verde) e *Citrus aurantium* (laranja), respectivamente. Estudos farmacológicos já apontam seus efeitos anti-inflamatório, antioxidante e gastroprotetor. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antiulcerogênica gástrica e duodenal da hesperetina e do carveol e os mecanismos de ação relacionados, bem como, a atividade anti-inflamatória intestinal aguda do carveol em modelos animais. A partir do modelo de úlcera gástrica induzida por ácido acético foi investigada a toxicidade por doses repetidas durante 14 dias do carveol e da hesperetina. Os resultados mostraram que ambos não alteraram ($p > 0,05$) o peso dos órgãos (coração, fígado, baço e rins), nem os parâmetros bioquímicos e hematológicos. Ainda foi observado que as substâncias teste protegem os animais da redução do consumo de água, ração e da perda de peso. Na avaliação da atividade cicatrizante gástrica, o tratamento com o carveol e a hesperetina nas suas melhores doses (100 mg/kg, v.o.) durante 14 dias reduziu ($p < 0,05$) a área de lesão ulcerativa (ALU), quando comparados aos grupos controles. Esses efeitos foram relacionados a um aumento ($p < 0,05$) dos níveis de GSH, SOD e IL-10 e uma diminuição ($p < 0,05$) dos níveis de MDA, MPO, IL-6, IL-1 β e TNF- α . Já a administração oral (v.o) com o carveol e a hesperetina em todas as doses avaliadas (25, 50, 100 e 200 mg/kg) reduziu ($p < 0,05$) a ALU em duodenos de ratos submetidos as lesões induzidas pela cisteamina. Esse efeito pode estar relacionado a um aumento ($p < 0,05$) dos níveis de GSH e SOD e uma diminuição ($p < 0,05$) dos níveis de MDA e MPO. No modelo de indução aguda de inflamação intestinal induzida por TNBS, o carveol em todas as doses (25, 50, 100 e 200 mg/kg, v.o.) promoveu redução ($p < 0,05$) no escore de lesão macroscópica, da ALU, da relação peso/comprimento e do índice diarreico. Em amostras de cólon provenientes desse modelo foi demonstrado que sua melhor dose (100 mg/kg) reduziu ($p < 0,05$) os níveis de MDA e MPO e restauraram os níveis de GSH e SOD. Além disso, a substância teste foi capaz de diminuir ($p < 0,05$) os níveis de IL-6, IL-1 β e TNF- α , bem como, de aumentar ($p < 0,05$) os de IL-10. Dessa forma, estes dados sugerem que o carveol e a hesperetina apresentam baixa toxicidade por doses repetidas, atividade cicatrizante gástrica e atividade anti-úlcera duodenal. Esses efeitos envolvem a participação do sistema antioxidante e da imunomodulação. Além disso, o carveol possui atividade anti-inflamatória intestinal relacionada a atividade antioxidante e imunomoduladora, e que possivelmente essa atividade está relacionada a mecanismos citoprotetores.

Palavras-chave: carveol; hesperetina; atividade cicatrizante gástrica; atividade antiúlcera duodenal; atividade anti-inflamatória intestinal.

Abstract

PESSOA, M.M.B. ANTIULCEROGENIC ACTIVITY OF CARVEOL AND HESPERETIN AND INTESTINAL ANTI-INFLAMMATORY OF CARVEOL IN ANIMAL MODELS. 2023. 170 p. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, CCS/UFPB.

ABSTRACT

The monoterpene carveol and the flavonoid hesperetin are secondary metabolites present in various medicinal plants, such as *Mentha spicata* (spearmint) and *Citrus aurantium* (orange), respectively. Pharmacological studies already indicate their anti-inflammatory, antioxidant, and gastroprotective effects. Thus, the present study aimed to evaluate the gastric and duodenal antiulcerogenic activity of hesperetin and carveol, along with their related mechanisms of action. Additionally, the acute intestinal anti-inflammatory activity of carveol was assessed in animal models. Using the acetic acid-induced gastric ulcer model, the repeated dose toxicity of carveol and hesperetin was investigated over 14 days. The results showed that both substances did not alter ($p > 0.05$) organ weights (heart, liver, spleen, and kidneys), biochemical parameters, or hematological parameters. It was also observed that the test substances protected animals from reduced water and food consumption and weight loss. In the evaluation of gastric healing activity, treatment with carveol and hesperetin at their optimal doses (100 mg/kg, p.o.) for 14 days reduced ($p < 0.05$) the ulcerative lesion area (ULA) compared to control groups. These effects were associated with an increase ($p < 0.05$) in GSH, SOD, and IL-10 levels and a decrease ($p < 0.05$) in MDA, MPO, IL-6, IL-1 β , and TNF- α levels. Furthermore, oral administration (p.o) of carveol and hesperetin at all evaluated doses (25, 50, 100, and 200 mg/kg) reduced ($p < 0.05$) ULA in the duodenum of rats subjected to cisteamine-induced lesions. This effect may be related to an increase ($p < 0.05$) in GSH and SOD levels and a decrease ($p < 0.05$) in MDA and MPO levels. In the acute TNBS-induced intestinal inflammation model, carveol at all doses (25, 50, 100, and 200 mg/kg, p.o.) promoted a reduction ($p < 0.05$) in the macroscopic injury score, ULA, the weight/length ratio, and diarrheal index. In colon samples from this model, its optimal dose (100 mg/kg) reduced ($p < 0.05$) MDA and MPO levels, restored GSH and SOD levels, and decreased ($p < 0.05$) IL-6, IL-1 β , and TNF- α levels, while increasing ($p < 0.05$) IL-10 levels. Thus, these data suggest that carveol and hesperetin exhibit low toxicity with repeated doses, gastric healing activity, and duodenal anti-ulcer activity. These effects involve the participation of the antioxidant system and immunomodulation. Additionally, carveol has intestinal anti-inflammatory activity related to antioxidant and immunomodulatory activity, and this activity is possibly related to cytoprotective mechanisms.

Keywords: carveol; hesperetin; gastric healing activity; duodenal antiulcer activity; intestinal anti-inflammatory activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação Anatômica do TGI Humano	30
Figura 2 - Representação de regiões anatômicas do trato gastrointestinal acometidas pelas úlceras pépticas	34
Figura 3 - Manutenção da Integridade da Mucosa Gástrica	35
Figura 4 - Mecanismos de Proteção da Mucosa Gástrica	36
Figura 5 - Eventos da Cicatrização da Úlcera Gástrica.....	38
Figura 6 - Representação dos processos de reepitelização, migração celular, restauração das glândulas gástricas, formação do tecido de granulação e angiogênese	41
Figura 7 - Representação das características das lesões na Doença de Crohn e Colite Ulcerativa	43
Figura 8 - Disfunção na barreira intestinal em indivíduos com DII.....	48
Figura 9 - Representação esquemática da influência da microbiota e seus metabólitos na função da barreira intestinal e no sistema imunológico	55
Figura 10 - Inflamação do cólon nas DIIs e as alterações na microbiota intestinal	58
Figura 11 - Mecanismos de ação de enzimas antioxidantes sobre espécies	61
Figura 12 - Representação Química da Hesperetina.....	70
Figura 13 - Representação Química do Carveol	71
Figura 14 - Fluxograma experimental do estudo com a Hesperetina e o Carveol. Arquivo LFTGI	77
Figura 15 - Cóloons de ratos referentes ao grupo não colítico (A), grupos tratados (v.o.) com tween 80 5% (B), prednisolona 2 mg/kg (C), carveol 25 mg/kg (D), carveol 50 mg/kg (E), carveol 100 mg/kg (F) e carveol 200 mg/kg (G) submetidos ao modelo de ulcerativa induzida por TNBS.....	110

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol na úlcera gástrica induzida por ácido acético.....	89
Gráfico 2 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol na úlcera gástrica induzida por ácido acético	89
Gráfico 3 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de GSH no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos	90
Gráfico 4 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de GSH no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos	91
Gráfico 5 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre a atividade da enzima SOD no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos.....	92
Gráfico 6 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre a atividade da enzima SOD no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos.....	92
Gráfico 7 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de MDA no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos	93
Gráfico 8 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de MDA no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos	94
Gráfico 9 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de MPO no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos	94
Gráfico 10 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de MPO no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos	95
Gráfico 11 - Efeito da administração oral do carveol sobre os níveis de IL-1 β no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos	96
Gráfico 12 - Efeito da administração oral da hesperetina sobre os níveis de IL-1 β no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos ..	96

Gráfico 13 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de TNF- α no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos	98
Gráfico 14 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de TNF- α no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos	98
Gráfico 15 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de IL-6 no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos	99
Gráfico 16 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de IL-6 no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos	100
Gráfico 17 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de IL-10 no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos	101
Gráfico 18 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de IL-10 no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos	101
Gráfico 19 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol na úlcera duodenal induzida por cisteamina.....	102
Gráfico 20 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol na úlcera duodenal induzida por cisteamina	102
Gráfico 21 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de GSH no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos	103
Gráfico 22 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de GSH no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos	104
Gráfico 23 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre a atividade da enzima SOD no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos.....	105
Gráfico 24 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre a atividade da enzima SOD no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos	105

Gráfico 25 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de MDA no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos	106
Gráfico 26 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de MDA no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos.....	107
Gráfico 27 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de MPO no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos	108
Gráfico 28 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de MPO no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos	108
Gráfico 29 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre os níveis de GSH no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos.....	111
Gráfico 30 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre a atividade da enzima SOD no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos	112
Gráfico 31 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre os níveis de MDA no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos.....	113
Gráfico 32 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre os níveis de MPO no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos.....	114
Gráfico 33 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre os níveis de IL- 1 β no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos.....	115
Gráfico 34 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de TNF- α no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos.....	116
Gráfico 35 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de IL-6 no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos.....	117

Gráfico 36 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de IL-10 no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos.....	118
---	------------

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Critério de determinação de escore de lesão colônica	81
Tabela 2 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre o consumo de água e ração dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético	85
Tabela 3 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre a avaliação ponderal dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético.....	85
Tabela 4 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre o peso relativo dos órgãos dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético	86
Tabela 5 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre os parâmetros bioquímicos dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético	87
Tabela 6 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre os parâmetros hematológicos dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético	88
Tabela 7 - Efeito da administração oral do carveol na fase aguda do processo inflamatório intestinal induzido por ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS) em ratos	110

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Ácido araquidônico
AC	Ciclase de adenilil
ACh	Acetilcolina
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ALU	Área de lesão ulcerativa
AMPc	3',5'- monofosfato de adenosina cíclico
ANOVA	Análise de variância de uma via
Ca ²⁺	Íon cálcio
CaMKII	Proteína quinase II dependente de Ca ²⁺ /calmodulina
CAT	Catalase
Ca _v	Canais de cálcio controlado por voltagem
CCK2	Receptores de colecistocinina do tipo 2
CEUA	Comissão de Ética em Uso Animal
CGRP	Peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
Cl ⁻	Íon cloreto
CO ₂	Dióxido de carbono
COX	Ciclooxigenase
CSPP-28	Fosfoproteína sensível a Ca ²⁺ de 28 kDa
CU	Colite ulcerativa
d.p	desvio padrão da média
DAG	Diacylglicerol
DC	Doença de Crohn
DCA	Ácido desoxicólico hidrofóbico
DII	Doença inflamatória intestinal
DL50	Dose letal 50
e.p.m	erro padrão da média
ECL	Células semelhantes às enterocromafins
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EP ₂	Receptor de prostaglandina da série 2
ER	Retículo endoplasmático
EROs	Espécies reativas de oxigênio
GCs	Ciclase de guanilil solúvel

GDP	Difosfato de guanosina
GI	Gaстрintestinal
GLP-1	Peptídeo tipo 1 semelhante ao glucagon
GMP	monofosfato de guanosina
GMP _c	monofosfato cíclico de guanosina
GPx	Glutathione peroxidase
GSH	Glutathione reduzida
GSSG	Glutathione oxidada
GTP	Trifosfato de guanosina
H ⁺	Íon hidrogênio
H ⁺ /K ⁺ ATPase	Bomba de prótons
H ₂	Receptor de histamina tipo 2
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
H ₂ S	Sulfeto de hidrogênio
HBD	β-defensinas humanas
HCl	Ácido clorídrico
HCO ₃ ⁻	Íon bicarbonato
HE	Hematoxilina e eosina
HGF	Fator de crescimento de hepatócitos
HO ₂	Radical hidroperóxido
HPA	Eixo Hipotalâmico-pituitário-adrenal
HSP	Proteínas de choque térmico
i.p.	Intraperitoneal
IFNγ	Interferon-γ
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à insulina-1
IL-10	Interleucina 10
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
ILU	Índice de lesão ulcerativa
iNOS	Sintase do óxido nítrico induzível
IP ₃	1-4-5 trisfosfato de Inositol
K ⁺	Íon potássio
K _{ATP}	Canais de potássio sensível a ATP

LL-37	Catelicidina humana
L-NAME	N-nitro-L-arginina metil éster
LPO	Peroxidação lipídica
M ₃	Receptor muscarínico tipo 3
MDA	Malondialdeído
MPO	Mieloperoxidase
MUC	Mucina
NFκB	Fator nuclear κB
NK	Natural killer
NLR	Receptor do tipo NOD
NO	Óxido nítrico
NOD	Nucleotide-binding oligomerization domain containing 2
NOS	Sintase do óxido nítrico
NOS _e	NOS endotelial
NOS _n	NOS neuronal
NOX	NADPH oxidases
O ₂	Oxigênio molecular
O ₂ ⁻	Superóxido
ONOO ⁻	Peroxinitrito
PAMP	Padrão molecular associado a patógeno
PG	Prostaglandina
PGD ₂	Prostaglandina da série D ₂
PGE ₂	Prostaglandina da série E ₂
PGEI ₂	Prostaglandina da série EI ₂
PGF _{2α}	Prostaglandina da série F _{2α}
PGI ₂	Prostaciclina
PgPNSB	Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais Sintéticos e Bioativos
PIP ₂	4-5 bifosfato de fosfatidil inositol
PKA	Proteína cinase I dependente de AMPc
PKC	Proteína quinase dependente de Cálcio
PKG	Proteína quinase dependente de GMPc
PLA	Fosfolipase A
PLC-β1	Fosfolipase C do tipo β1

PRR	Receptor de reconhecimento de padrão
RAGE	Receptor de produtos finais de glicação avançada
RNA	Ácido ribonucleico
ROOH	Hidroperóxidos
-SH	Grupamentos sulfidrilas
SH ₃	Resíduos de serina 3
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNAREs	Receptores proteicos solúveis de ligação sensível ao fator N-etilmaleimida
SNC	Sistema nervoso central
SNE	Sistema nervoso entérico
SOD	Superóxido dismutase
SStR ₂	Receptor de somatostatina tipo 2
STAT	Fatores de transcrição ativados por tirosinas quinases
TFF	Fator trefoil
TGF- β	receptor serina-quinase do fator de crescimento transformante β
TGI	Trato gastrointestinal
TLRs	Receptores do tipo Toll
TNBS	Ácido trinitrobenzenosulfônico
TNF α	fator de necrose tumoral- α
TVs	Tubulovesículas
TXA ₂	Tromboxano A ₂
UP	Úlcera péptica
v.o.	Via oral
VAMP2	Proteína associada a vesícula 2
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VIP	Peptídeo intestinal vasoativo

Obs: As abreviaturas, siglas e símbolos utilizados neste trabalho e que não constam nesta relação, encontram-se descritas no texto ou são convenções adotadas universalmente.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
2 REVISÃO DA LITERATURA	30
2.1 Trato Gastrointestinal (TGI)	30
2.2 Úlceras Pépticas	32
2.2.1 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DAS ÚLCERAS PÉPTICAS	33
2.2.2 ÚLCERA GÁSTRICA	34
2.2.2.1 Cicatrização gástrica	38
2.3 Doenças Inflamatórias Intestinais (DIIs)	42
2.3.1 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DAS DIIS	42
2.4 Epidemiologia	49
2.5 Microbiota	52
2.6 Sistema antioxidante	59
2.7 Citocinas	62
2.8 Terapêutica	64
2.9 Produtos Naturais	68
2.9.1 HESPERETINA	70
2.9.2 CARVEOL	70
3 OBJETIVOS	73
3.1 Objetivo geral	73
3.2 Objetivos específicos	73
4 MATERIAL E MÉTODOS	75
4.1 Material	75
4.1.1 LOCAL DE PESQUISA	75
4.1.2 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS	75
4.1.3 ANIMAIS	75
4.1.4 SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS	76
4.2 Métodos	77
4.3 Avaliação da atividade cicatrizante em modelo crônico de úlcera gástrica	77
4.3.1 ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA COM ÁCIDO ACÉTICO (OKABE E AMAGASE, 2005)	77
4.3.2 ÚLCERA DUODENAL INDUZIDA COM CISTEAMINA HIDROCLORÍDRICA (SZABO, 1978)	78

4.3.2.1 Mecanismos de ação envolvidos na atividade antioxidante	78
4.3.2.1.1 Determinação de malondialdeído (MDA).....	78
4.3.2.1.2 Dosagem de grupamentos sulfidrila não proteicos (GSH) (Faure; Lafond, 1995)	79
4.3.2.1.3 Atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) (Krawisz et al., 1984)	79
4.3.3 MODELO AGUDO DE COLITE INDUZIDA COM TRINITROBENZENOSULFÔNICO (TNBS) (MORRIS ET AL., 1989).....	80
4.3.4 AVALIAÇÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO INTESTINAL	80
4.3.5 MECANISMOS IMUNORREGULATÓRIOS	81
4.3.5.1 Determinação das interleucinas (Kendall et al., 1983)	81
4.4 Análise Estatística.....	82
5 RESULTADOS.....	84
5.1 Avaliação da toxicidade por doses repetidas durante 14 dias com a hesperetina ou o carveol no modelo de úlcera gástrica induzida por ácido acético.....	84
5.1.1 AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA E RAÇÃO	84
5.1.2 AVALIAÇÃO PONDERAL	85
5.1.3 AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DOS ÓRGÃOS	86
5.1.4 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS	86
5.1.5 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS.....	87
5.2 Avaliação da atividade cicatrizante do carveol ou da hesperetina em modelo de indução aguda de úlcera gástrica por ácido acético	88
5.2.1 AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS ANTIOXIDANTES ENVOLVIDOS NO EFEITO CICATRIZANTE GÁSTRICO DO CARVEOL E DA HESPERETINA.....	90
5.2.1.1 Determinação dos níveis de glutathione reduzida (GSH) estômagos de ratos	90
5.2.1.2 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) nos estômagos de ratos.....	91
5.2.1.3 Determinação dos níveis de malonaldeído (MDA) nos estômagos de ratos .	92
5.2.1.4 Determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) nos estômagos de ratos	94
5.2.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNORREGULATÓRIA ENVOLVIDA NO EFEITO CICATRIZANTE GÁSTRICO DO CARVEOL E DA HESPERETINA.....	95
5.2.2.1 Determinação dos níveis de IL-1 β nos estômagos de ratos.....	95
5.2.2.2 Determinação dos níveis de TNF- α nos estômagos de ratos.....	97

5.2.2.3 Determinação dos níveis de IL-6 nos estômagos de ratos.....	98
5.2.2.4 Determinação dos níveis de IL-10 nos estômagos de ratos.....	100
5.3 Avaliação da atividade antiulcerogênica do carveol e da hesperetina no modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina	101
5.3.1 AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS ANTIOXIDANTES ENVOLVIDOS NO EFEITO ANTIULCEROGÊNICO DO CARVEOL E DA HESPERETINA	103
5.3.1.1 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) nos duodenos de ratos	103
5.3.1.2 Determinação da atividade da enzima supeóxido dismutase (SOD) nos duodenos de ratos.....	104
5.3.1.3 Determinação dos níveis de malonaldeído (MDA) nos duodenos de ratos .	105
5.3.1.4 Determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) nos duodenos de ratos	107
5.4 Modelo agudo de colite ulcerativa induzida pelo ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS) em ratos	109
5.4.1 AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS ANTIOXIDANTES ENVOLVIDOS NO EFEITO ANTI- INFLAMATÓRIO INTESTINAL DO CARVEOL	111
5.4.1.1 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) em cólon de ratos	111
5.4.1.2 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em cólon de ratos	111
5.4.1.3 Determinação dos níveis de malonaldeído (MDA) em cólon de ratos	112
5.4.1.4 Determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) em cólon de ratos .	113
5.4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNORREGULATÓRIA ENVOLVIDA NO EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO INTESTINAL DO CARVEOL	114
5.4.2.1 Determinação dos níveis de IL-1 β em cólon de ratos	114
5.4.2.2 Determinação dos níveis de TNF- α em cólon de ratos	115
5.4.2.3 Determinação dos níveis de IL-6 em cólon de ratos	116
5.4.2.4 Determinação dos níveis de IL-10 em cólon de ratos	117
6 DISCUSSÃO	120
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	139
8 PERSPECTIVAS FUTURAS	141
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	143

Introdução

1 INTRODUÇÃO

As afecções do trato gastrointestinal abrangem uma variedade de distúrbios, incluindo sintomas como dispepsia, refluxo, inflamação, ulceração, constipação e diarreia. Essas condições têm origens complexas e de múltiplas causas. Entre elas, destacam-se as úlceras pépticas, doenças inflamatórias intestinais e diarreia (Ananthakrishnan; Xavier, 2020).

A úlcera péptica (UP) é uma patologia frequente, embora sua incidência tenha diminuído nos últimos anos, continua sendo uma importante causa de morbidade e mortalidade associada a altos custos de saúde. Os fatores de risco mais importantes são a infecção por *Helicobacter pylori* e o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (Laurica *et al.*, 2023). As úlceras pépticas são caracterizadas por inflamação e oxidação da mucosa esofágica, gástrica ou intestinal, resultando em lesões necróticas e hemorrágicas. A gravidade varia de acordo com a profundidade das camadas afetadas, desde a camada superficial da mucosa até as camadas mais profundas, como a camada epitelial e muscular, prejudicando a integridade das células (Lanas, Chan, 2017; Ananthakrishnan; Xavier, 2020).

As doenças inflamatórias intestinais (DIIs), como colite ulcerativa e doença de Crohn, são distúrbios multifatoriais cujas causas ainda não são totalmente compreendidas. Fatores imunológicos, microbiota alterada, influências ambientais e predisposição genética estão associados a essas doenças (Miele *et al.*, 2018; Sordo *et al.*, 2022).

Apesar da diversidade de tratamentos disponíveis para essas afecções gastrointestinais, há desafios como recorrência da doença, efeitos colaterais diversos, acesso limitado a medicamentos e custos elevados de tratamento (Harbord *et al.*, 2017; Clarke *et al.*, 2022).

Nesse contexto, produtos naturais, incluindo compostos de origem animal, mineral, microrganismos e vegetais, ganham destaque, em especial as plantas medicinais, ricas em metabólitos biologicamente ativos (Boeing *et al.*, 2016). O Brasil, com sua vasta biodiversidade, possui uma tradição de uso de fontes naturais para tratamentos de doenças agudas e crônicas. No entanto, pesquisas e tecnologias adicionais são necessárias para otimizar o uso dessas fontes naturais, isolando componentes ativos e minimizando efeitos colaterais (Dutra *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2018).

Para o presente estudo foi selecionado a hesperetina e o carveol, um flavonoide e um terpeno. Estudos farmacológicos já relataram suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes (Kim *et al.*, 2004; Marques, 2019) e vasorrelaxantes (Chanet *et al.*, 2013; Cardoso-Teixeira, 2018), além de atividade gastroprotetora desses compostos (Da Silva, 2018; De Lima Serafim, *et al.*, 2021).

Deste modo, o presente trabalho se propõe a dar continuidade aos estudos iniciados por nosso grupo, por meio da avaliação da hesperetina e do carveol frente à atividade antiulcerogênica gástrica e duodenal, bem como, avaliar a atividade anti-inflamatória intestinal aguda (colite ulcerativa) do carveol em modelos animais.

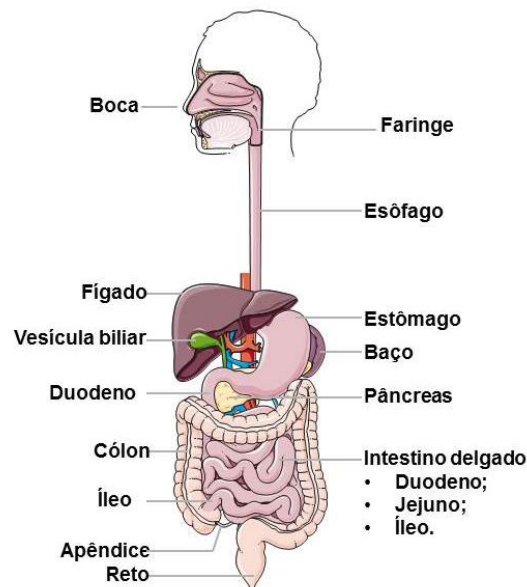
Referencial Teórico

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Trato Gastrointestinal (TGI)

O trato gastrointestinal (TGI) é um sistema tubular longo e oco que se estende da boca ao ânus, com aproximadamente 6 metros de comprimento. Ele é composto por diferentes compartimentos, como o esôfago, estômago, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e intestino grosso (cólon, ceco e reto) (Ashford, 2017; Gokulnath, 2021). Essa estrutura anatômica é predominantemente formada por camadas musculares (músculo liso), vasos sanguíneos, tecido linfóide e conectivo, além de glândulas anexas, conforme disposto na Figura 1 (Campbell, 2015; Iqbal et al., 2022).

Figura 1 - Representação Anatômica do TGI Humano



Fonte: Adaptado de Digestive System (2017).

Legenda: O TGI consiste em um tubo muscular oco a partir da cavidade oral, continuando pela faringe, esôfago, estômago e intestinos até o reto e ânus. Existem vários órgãos acessórios que auxiliam o TGI secretando enzimas para ajudar a decompor os alimentos e absorver os nutrientes.

A fisiologia do TGI é ampla e complexa que abrange o estudo das funções dos órgãos envolvidos na digestão, absorção de nutrientes e eliminação de resíduos, mas também desempenha um papel além da sua função digestiva, sendo objeto de estudos em diversas áreas do conhecimento. Por meio das células especializadas presentes em seu revestimento e da microbiota intestinal, o TGI promove uma série

de processos fisiológicos que contribuem para o equilíbrio gastrointestinal (Oteiza; Cremonini; Fraga, 2022).

Dentre os processos biológicos que ocorrem no TGI, destacam-se a absorção de nutrientes e bioativos provenientes da alimentação, a secreção de hormônios e peptídeos bioativos que coordenam ações locais e sistêmicas e o metabolismo de lipídios e carboidratos (Iqbal *et al.*, 2022). Além disso, o TGI atua como uma barreira física que impede a entrada de bactérias, toxinas e patógenos na corrente sanguínea, regula a tolerância aos componentes alimentares e às bactérias comensais, e desempenha um papel importante no sistema imunológico (Wells *et al.*, 2017; Oteiza; Cremonini; Fraga, 2022).

O controle neuromuscular do TGI é mediado por uma rede complexa de nervos e células especializadas. O sistema nervoso entérico é considerado o "cérebro" do intestino e controla a maioria das funções digestivas. Ele coordena a motilidade intestinal, a secreção de enzimas digestivas e a regulação do fluxo sanguíneo (Fontoura, Lacerda, 2022). Além disso, o sistema nervoso autônomo, composto pelo sistema nervoso simpático e parassimpático, também desempenha um papel importante no controle do TGI. O sistema nervoso simpático inibe a atividade do TGI, enquanto o sistema nervoso parassimpático estimula a motilidade e a secreção (Ferreira *et al.*, 2022).

Os mecanismos regulatórios da fisiologia do TGI são influenciados por uma variedade de fatores, incluindo hormônios, neurotransmissores e fatores locais (Ferreira *et al.*, 2022).

Hormônios como a gastrina, secretina, colecistocinina e grelina desempenham papéis importantes na regulação da secreção de ácido estomacal, produção de enzimas pancreáticas, contração da vesícula biliar e regulação do apetite (De Figueiredo *et al.*, 2020). Os neurotransmissores, como a acetilcolina, noradrenalina e serotonina também desempenham um papel crucial na comunicação entre as células nervosas do TGI (Medeiros, Costa, 2020). Além disso, fatores locais, como a distensão do intestino e a presença de alimentos no trato digestivo, desencadeiam respostas reflexas que regulam a motilidade e a secreção (Oteiza; Cremonini; Fraga, 2022). O entendimento desses processos é essencial para compreender as alterações fisiopatológicas associadas a distúrbios gastrointestinais e desenvolver estratégias terapêuticas adequadas.

Dessa forma, o desequilíbrio desses processos biológicos no TGI pode estar associado a afecções sistêmicas, como doenças cardiovasculares, *Diabetes Mellitus* tipo II, doença do fígado gorduroso não alcoólico e distúrbios neurológicos (Odenwald; Turner, 2017; Burcelin *et al.*, 2022; Damms-Machado *et al.*, 2017; Brown, 2019). Além disso, o TGI também desempenha um papel na ocorrência de úlceras pépticas e doenças inflamatórias intestinais (DIIIs) (SORDO *et al.*, 2022).

2.2 Úlceras Pépticas

As úlceras pépticas compreendem um conjunto heterogêneo de distúrbios caracterizados pela presença de inflamação, lesões na mucosa, e consequentemente, afetando a submucosa. Essas úlceras, em geral, se localizam no estômago ou no duodeno proximal, embora também possam ocorrer no esôfago e no divertículo de Meckel (Dornelas, 2023).

Elas são caracterizadas por uma perda localizada da camada superficial do revestimento do trato gastrointestinal, expondo as camadas mais profundas, como a submucosa, muscular e serosa, como também pelo aparecimento de pontos necróticos e lesões hemorrágicas que podem afetar o esôfago, estômago ou duodeno (Pasha *et al.*, 2022).

Inicialmente, ambientes excessivamente ácidos devido a fatores dietéticos ou estresse eram considerados as principais causas da maioria das úlceras pépticas. No entanto, a partir da segunda metade do século 20, a infecção pela bactéria *H. pylori* e o uso disseminado de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) se tornaram as causas mais prevalentes dessa condição (Chan FKL, *et al.*, 2017; Bjarnason *et al.*, 2018; Kavitt *et al.*, 2019).

Existem diferentes classificações para as úlceras pépticas: quanto ao seu local de acometimento: esofágica, gástrica e duodenal (Dornelas, 2023). E quanto a profundidade da lesão, que podem ser classificadas como superficiais (atingindo a submucosa), profundas (afetando a camada muscular externa), perfurantes (atingindo a cavidade peritoneal) e penetrantes (envolvendo órgãos vizinhos) (Taha *et al.*, 2005; Prasoon *et al.*, 2022).

2.2.1 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DAS ÚLCERAS PÉPTICAS

A secreção ácida gástrica, em condições de homeostase, é uma solução isotônica de 150 mmol/L com pH abaixo de 1. É composta principalmente pelo ácido clorídrico (HCl), pepsina, íons e pelo fator antianêmico intrínseco, que é responsável pela absorção de vitamina B12, ferro e cálcio. Essa secreção é realizada pelas células parietais do estômago (Brownlee, 2014; Schubert, 2015).

O processo de regulação da secreção ácida gástrica ocorre em quatro fases distintas: basal, cefálica, gástrica e intestinal (Schubert, 2016; Feher, 2017; Landa *et al.*, 2019). Na fase basal a secreção ácida ocorre de forma contínua mesmo sem estimulação da célula parietal (Feher, 2017). Na fase cefálica a secreção gástrica é modulada pelo nervo vago integralmente, que se conecta diretamente as funções superiores do sistema nervoso central sob diversos estímulos sensoriais, tais como visão, olfato e paladar, com estimulação da secreção salivar, ácido gástrico e secreção pancreática além de inibição da motilidade fásica do TGI superior (Ribeiro, 2017; Landa *et al.*, 2019).

A fase gástrica inicia-se com a chegada do alimento no lúmen estomacal, onde a secreção ácida é amplificada tanto por estímulos físicos, quanto por estímulos mecânicos, acionando as principais vias de secreção ácida (acetilcolina, gastrina e histamina) (Feher, 2017; Wilson; Stevenson, 2019).

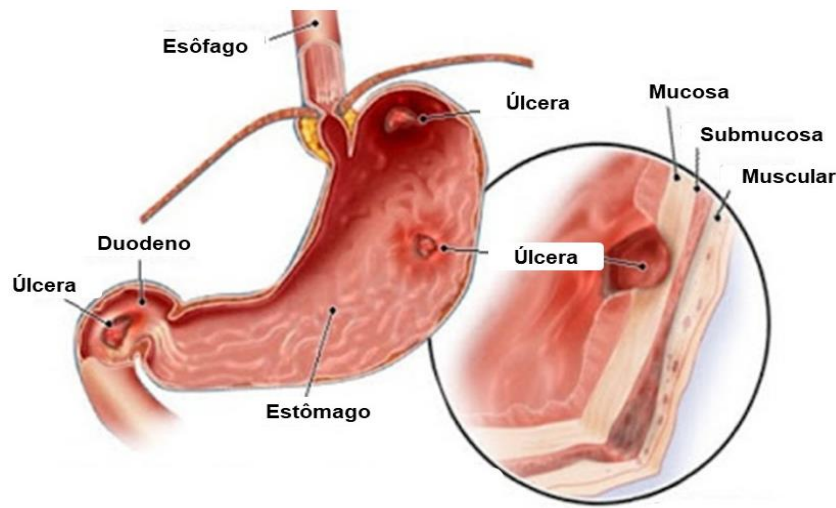
Com a entrada do alimento no duodeno, a mucosa gástrica fica exposta ao baixo pH promovido pela secreção ácida das células parietais (Schubert, 2016). Nesta condição inicia-se a fase intestinal, com estímulo e liberação de hormônios como a secretina e a colecistocinina (CCK) que auxiliam a regulação da secreção ácida gástrica, garantindo que o intestino delgado esteja preparado para a digestão e absorção de nutrientes (Landa *et al.*, 2019; Wilson; Stevenson, 2019).

As úlceras pépticas surgem quando o sistema de defesa da mucosa do trato digestivo é subjugado por agentes nocivos, como o HCl, pepsina, bile, isquemia, infecção por *H. pylori*, hipergastrinemia, condições de estresse, tabagismo, deficiências nutricionais e uso crônico de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (Sepulveda *et al.*, 2016; Da Silva *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2022).

As úlceras pépticas podem variar em gravidade, afetando desde a camada mais superficial da mucosa até as camadas mais profundas, como a muscular. A denominação da úlcera péptica varia de acordo com o órgão afetado, podendo ser

úlceras esofágica, gástrica ou duodenal, quando o esôfago, estômago ou duodeno são lesionados, respectivamente (Lanas, Chan, 2017; Elshazly *et al.*, 2018; Kavitt *et al.*, 2019).

Figura 2 - Representação de regiões anatômicas do trato gastrointestinal acometidas pelas úlceras pépticas



Fonte: LFTGI - Adaptado de Tarnawski, 2013.

2.2.2 ÚLCERA GÁSTRICA

As úlceras gástricas ocorrem devido a um desequilíbrio entre fatores protetores e agressores da mucosa gástrica, resultando em lesão nas camadas mucosa e muscular. Entre os fatores protetores estão a manutenção do muco e bicarbonato, prostaglandina E₂, óxido nítrico e fluxo sanguíneo adequado. Já os fatores agressores podem ser classificados como endógenos: ácido clorídrico e pepsina; ou exógenos: uso crônico e indiscriminado de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), tabagismo, etilismo e infecção por *Helicobacter pylori* (Sharifi-Rad *et al.*, 2018; Xing *et al.*, 2020).

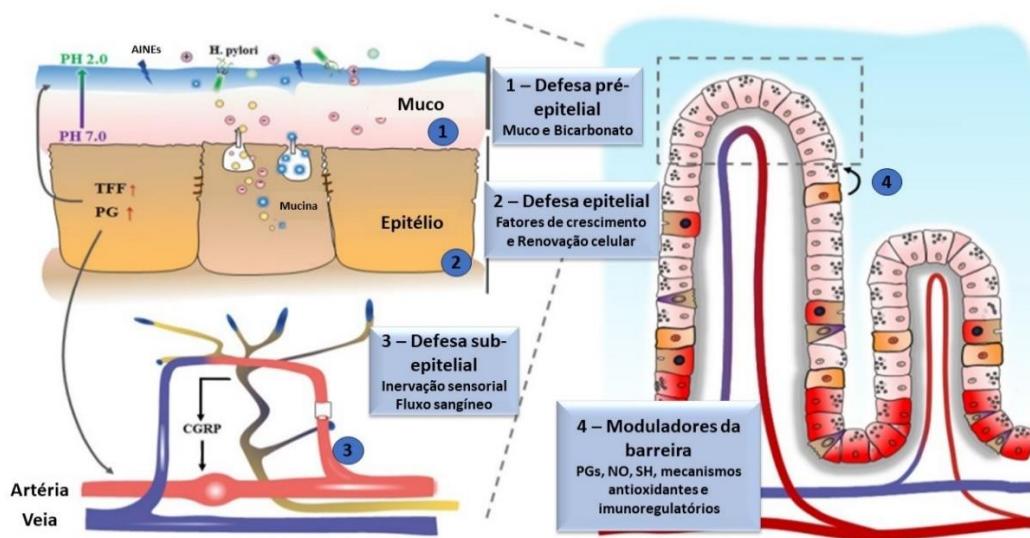
As lesões na mucosa gástrica podem ser causadas por fatores agressivos endógenos, como ácido, pepsina e ácidos biliares, associados a fatores exógenos, como o uso de AINEs, tabagismo, consumo de álcool, estresse emocional e a presença da bactéria *H. pylori*. Esses fatores comprometem a integridade da mucosa gástrica e inibem a produção de fatores protetores, como muco, bicarbonato e prostaglandinas (Da Silva *et al.*, 2018; Malfertheiner; Schulz, 2020).

As úlceras gástricas são caracterizadas por lesões arredondadas ou ovais, com bordas regulares ou levemente elevadas, e apresentam uma cavidade contendo

mediadores inflamatórios. Essas úlceras podem se manifestar de forma aguda e/ou crônica (Da Silva *et al.*, 2018).

Os processos de hemostasia e defesa do epitélio estomacal envolvem sistemas locais e neuro-humorais, que incluem os fatores pré-epiteliais, epiteliais e sub-epiteliais, como descrito na figura 3 (Quintana-Hayashi *et al.*, 2018; Kavitt *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2021).

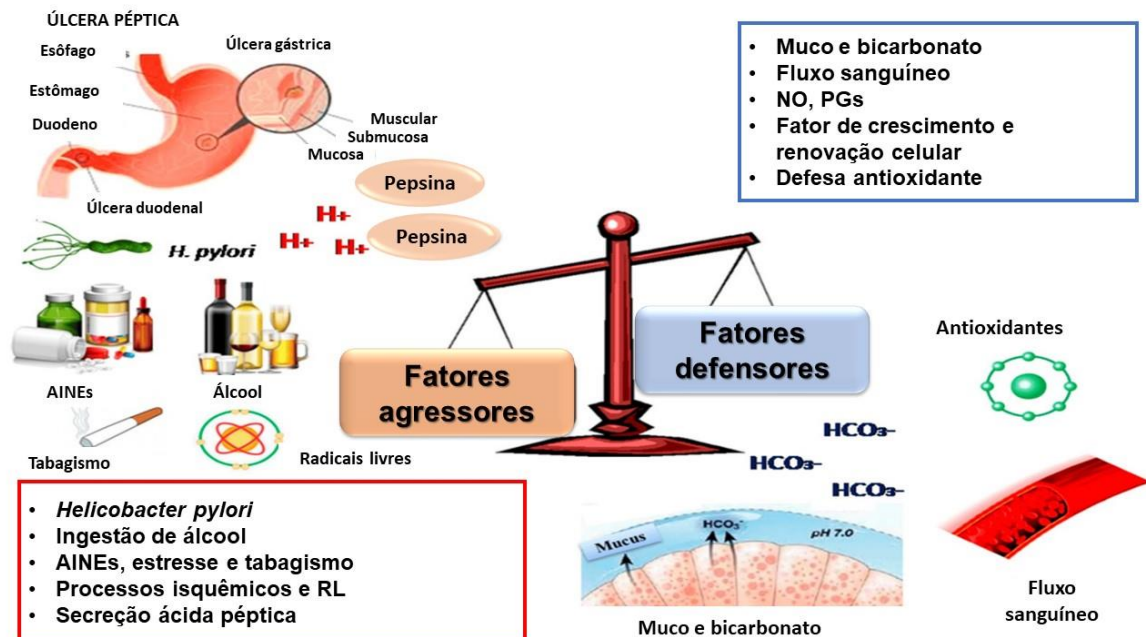
Figura 3 - Manutenção da Integridade da Mucosa Gástrica



Fonte: adaptada de Xu *et al.*, (2021).

A primeira linha de defesa da mucosa gástrica é composta pelos fatores pré-epiteliais, como o muco, fosfolipídios de membrana e o ácido clorídrico (HCl). Os fatores epiteliais representam a segunda linha de defesa e incluem as células epiteliais, fatores de crescimento e renovação celular. Já os fatores sub-epiteliais englobam a inervação sensorial, o fluxo sanguíneo, os fatores de reconstrução do epitélio e os reguladores da barreira gástrica, como as prostaglandinas (PG) e prostaciclina, óxido nítrico, além do sistema antioxidante e imunoregulatório, como descrito na figura 4 (Yandrapu; Sarosiek, 2015; Ribeiro, 2017; Magierowska *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2021).

Figura 4 - Mecanismos de Proteção da Mucosa Gástrica



Fonte: adaptada de Serafim *et al.*, (2020).

O etanol é um dos principais agentes agressores da mucosa gástrica. Ele exerce uma ação local por meio da infiltração de mediadores inflamatórios e liberação de radicais livres. Além disso, possui uma ação sistêmica, ao penetrar rapidamente na mucosa gástrica, sendo convertido em acetaldeído na corrente sanguínea. Isso resulta na redução dos níveis de antioxidantes e prostaglandinas endógenas, além do aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias e produção de radicais livres, causando estresse oxidativo e aumento dos níveis de malondialdeído (MDA) (Boutemine *et al.*, 2018; Da Silva *et al.*, 2018; Yun *et al.*, 2017; Hui; Fangyu, 2017; Kumadoh *et al.*, 2021).

Os AINEs são amplamente utilizados na prática clínica devido à sua ação anti-inflamatória e antipirética, entretanto podem causar lesões na mucosa gástrica. Quando em contato com o pH neutro da célula epitelial, a molécula do fármaco se ioniza e libera metabólitos lesivos, causando retrodifusão de íons H^+ e formação de lesões superficiais agudas na mucosa do estômago. A perda da integridade da mucosa é seguida pela reação tecidual amplificada pelo conteúdo luminal, como ácido, pepsina, alimento, bile e *H. pylori* (Athaydes *et al.*, 2018; Hijos-Mallada *et al.*, 2021).

A inibição das prostaglandinas derivadas das ciclooxygenases (COX) reduz os níveis de prostaglandinas, o que diminui a secreção de muco e bicarbonato, inibe a

proliferação celular e diminui o fluxo sanguíneo da mucosa, eventos essenciais para a manutenção da integridade da barreira epitelial. Além disso, a inibição da COX resulta no aumento de mediadores inflamatórios e biomarcadores apoptóticos, danos epiteliais resultantes da alteração das estruturas microvasculares e aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (Lanas; Chan, 2017; Bjarnason *et al.*, 2018; Karampour *et al.*, 2019).

A bactéria *Helicobacter pylori*, presente em cerca de 50% da população mundial, está associada a úlceras pépticas e pode evoluir para câncer gástrico em casos mais graves. O *H. pylori* possui atividade intrínseca de urease, que neutraliza o ácido gástrico, além de estimular processos inflamatórios, como a produção de citocinas pró-inflamatórias. A presença dessa bactéria também inibe a secreção ácida gástrica, interrompendo a atividade da subunidade α -H⁺/K⁺-ATPase e rompendo a barreira da camada de muco e bicarbonato. Além disso, diminui a produção de somatostatina, inibindo a liberação de secretagogos como gastrina e histamina (Woods; Carey, 2017; Shindler-Itskovitch *et al.*, 2018; Shah, *et al.*, 2022).

Fatores ambientais, como condições de estresse, também desempenham um papel importante no desenvolvimento de úlceras gástricas, pois oferecem risco à integridade da função de barreira da mucosa. O estresse leva à liberação de catecolaminas, que ativam o eixo hipotálamo-adrenal e resultam em alterações na microcirculação sanguínea gástrica, acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), liberação de grânulos de células inflamatórias contendo histamina, aumento da secreção ácida gástrica e surgimento de úlceras (Ahmad *et al.*, 2019; Clarke *et al.*, 2022).

A endoscopia digestiva alta é um procedimento utilizado para diagnosticar úlceras gástricas e é particularmente urgente em indivíduos com sintomas de alarme, como idade acima de 60 anos, história familiar de malignidade do trato gastrointestinal superior, perda de peso, saciedade precoce, disfagia, sangramento gastrointestinal, anemia por deficiência de ferro ou vômitos (Shell, 2021).

Um estudo prospectivo realizado em pacientes submetidos à endoscopia digestiva alta como parte da rotina de manutenção da saúde constatou que aproximadamente dois terços das pessoas com úlcera gástricas são assintomáticas. Entre os pacientes sintomáticos, a dor epigástrica é um sintoma comum e pode estar associada a dispepsia, distensão abdominal, plenitude abdominal, náusea e

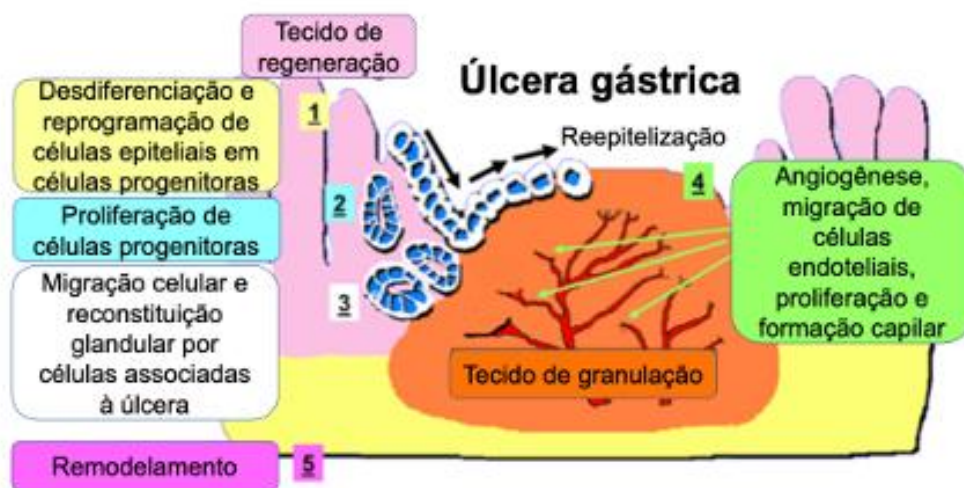
saciedade precoce. Esses sintomas podem ser intermitentes (Gupta *et al.*, 2021; Kumadoh *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2022).

2.2.2.1 Cicatrização gástrica

A cicatrização gástrica é um processo complexo que ocorre para reparar a mucosa gastrointestinal lesionada, incluindo as úlceras gástricas. A capacidade de cicatrização do estômago é essencial para restaurar a integridade da mucosa e prevenir complicações a longo prazo. O processo de cicatrização e reparo da úlcera gástrica envolve a interação de vias moleculares e fatores fisiológicos (Tarnawski, Ahluwalia, 2021).

O processo de cicatrização gástrica envolve várias etapas coordenadas, que incluem a inflamação inicial, proliferação celular, formação de tecido de granulação, reepitelização e remodelação do tecido como descrito na figura 5 (Takeuchi, Amagase, 2018)

Figura 5 - Eventos da Cicatrização da Úlcera Gástrica



Fonte: Adaptado Tarnawski, Ahluwalia, (2021); Ohara (2022).

Legenda: Diagrama de representação de eventos da cicatrização: Migração e proliferação celular, reconstituição glandular e angiogênese

A inflamação desencadeada pela lesão estimula a liberação de citocinas e fatores de crescimento, como fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento transformador α e β (TGF- α e TGF- β), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), fatores de crescimento derivados de plaquetas (PDGF), fator de

crescimento de hepatócitos (HGF), fator de crescimento endotelial vascular A (VEGFA), anexina-1, fator de crescimento induzido por hipóxia (HIF)-1 α e interleucina 10 (IL-10), que desempenham papéis importantes nesse processo (Seiwerth *et al.*, 2018). Além disso, a atividade dos neurônios sensoriais aferentes e as prostaglandinas endógenas contribuem para a cicatrização da úlcera gástrica ao aumentar o fluxo sanguíneo gástrico na margem da úlcera (Magierowska *et al.*, 2019).

A cicatrização da úlcera gástrica é influenciada pela interconexão entre os componentes do sistema de defesa da mucosa gástrica, bem como por fatores de crescimento, produtos derivados do metabolismo das ciclooxygenases COX-1 e COX-2 e neuropeptídeos sensoriais, como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) (Fornai *et al.*, 2011; Magierowska *et al.*, 2019).

O processo de cicatrização ocorre em três etapas: inflamatória, proliferativa e remodelação. Na etapa inflamatória, ocorre a contenção dos danos, remoção de agentes patogênicos e a migração de células inflamatórias, principalmente neutrófilos e monócitos para a área lesionada (Magierowska *et al.*, 2019). A etapa proliferativa é caracterizada pela vasodilatação e aumento da permeabilidade da microcirculação local, permitindo a chegada de células leucocitárias. Na etapa de remodelação, as células mononucleares se diferenciam em macrófagos, fagocitam restos teciduais, produzem fatores de crescimento e facilitam a migração e proliferação celular. Células epiteliais, queratinócitos e fibroblastos desempenham papéis importantes na migração e reparo do tecido (Han; Ceilley, 2017; Da Luz *et al.*, 2021).

As células epiteliais gástricas possuem uma alta taxa de renovação celular, que é necessária para a manutenção da homeostase e integridade da mucosa gástrica. As células progenitoras substituem as células epiteliais danificadas ou envelhecidas, e esse processo é controlado por fatores de crescimento que promovem a proliferação celular e a migração para reepitelizar a área da lesão (Zhang *et al.*, 2022). A reparação tecidual é geralmente eficiente, mas quando há interrupções nesse processo, o tecido não recupera sua estrutura e funcionalidade, resultando em lesões crônicas (Zhang *et al.*, 2022).

Macroscopicamente, as úlceras gástricas são divididas em duas regiões: a borda da úlcera, que consiste na mucosa adjacente sem área necrótica, com formato regular e levemente elevada, e o fundo da úlcera, que geralmente está limpo, mas pode apresentar material necrótico, tecido de granulação avermelhado ou tecido fibroso (Ramos, 2017; Ohara, 2022). Microscopicamente, as úlceras gástricas podem

ser classificadas como ativas, quando apresentam material necrótico, infiltrado inflamatório (neutrófilos), tecido de granulação e tecido fibrótico cicatricial, ou inativas, quando ocorre redução da necrose, do infiltrado neutrofílico e formação da cicatriz tecidual (El-Dakrouy *et al.*, 2022).

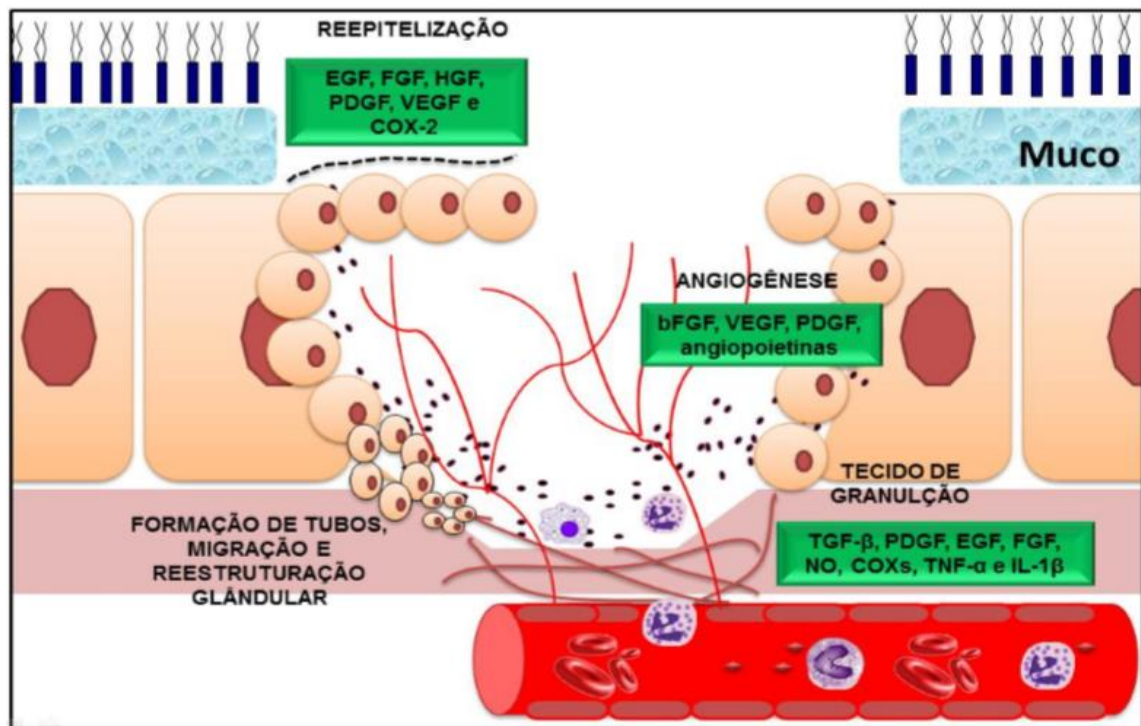
O processo de cicatrização da úlcera gástrica pode ser caracterizado de acordo com o curso fisiológico e o perfil de expressão dos fatores envolvidos em diferentes fases, como a fase inicial durante o desenvolvimento da úlcera, há predominância de fatores inflamatórios indicado por células inflamatórias, aumento de COX-1 e COX-2, hipóxia, necrose tecidual e formação de tecido de granulação e margem da úlcera a intermediária a cicatrização é caracterizada pela migração de células epiteliais, reepitelização da úlcera e angiogênese da base da úlcera. E por último, na fase tardia, ocorre ativação do fator de crescimento de hepatócitos (HGF) (Tarnawski *et al.*, 2021; Ohara, 2022).

Os fatores de crescimento desempenham um papel crucial na cicatrização, incluindo a proliferação e migração celular, a síntese de colágeno e fibronectina, e a formação de novos microvasos (Tarnawski *et al.*, 2012; Ahluwalia *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2019).

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são enzimas que desempenham um papel importante no processo de remodelação tecidual da úlcera gástrica. Elas estão envolvidas na síntese e degradação da matriz extracelular, e suas expressões, especialmente das MMP-2 e MMP-9, estão associadas à instalação e continuidade da úlcera gástrica (Minyaylo *et al.*, 2022). O equilíbrio funcional na degradação da matriz tecidual, juntamente com o aumento na expressão de colágeno tipo I, III e IV, facilita a cicatrização e o remodelamento tecidual (Formiga *et al.*, 2021; Shipa *et al.*, 2022; Efthymakis; Neri, 2022).

A vascularização gástrica é ampliada pelos microvasos sanguíneos, como capilares e vênulas coletoras, que são compostos por células endoteliais aderentes à membrana basal. Essas células possuem função proliferativa, formam anastomoses e uma rede capilar, em resposta a estímulos angiogênicos (Lee; Katz, 2021), conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6 - Representação dos processos de reepitelização, migração celular, restauração das glândulas gástricas, formação do tecido de granulação e angiogênese



Abreviações – EGF: fator de crescimento epidérmico; FGF: fator de crescimento de fibroblastos; HGF: fator de crescimento de hepatócitos; PDGF: fator de crescimento derivado de plaquetas; VEGF: fator de crescimento do endotélio vascular; TGF: fator transformador do crescimento; NO: óxido nítrico; COX: ciclooxygenase; IL: interleucina; TNF: fator de necrose tumoral. Fonte: LFTGI - Adaptado de Tarnawski, 2005; Tarnawski, 2012.

Em resumo, a cicatrização da úlcera gástrica envolve uma série de vias moleculares e fatores fisiológicos, como fatores de crescimento, produtos derivados das ciclooxygenases, neuropeptídeos sensoriais e células envolvidas no processo inflamatório e de reparo tecidual. O equilíbrio entre esses fatores é essencial para a efetiva cicatrização da úlcera, resultando na restauração da integridade e função da mucosa gástrica (Santos, 2022).

Com a lesão na mucosa gástrica, ocorre uma interrupção no fornecimento de oxigênio, levando a uma mudança no fenótipo celular para um estado angiogênico. Isso resulta na ativação dos genes responsáveis pela produção de fatores de crescimento angiogênicos, como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (Tarnawski; Ahluwalia, 2012).

A angiogênese desempenha um papel fundamental na restauração da microcirculação sanguínea na mucosa gástrica, fornecendo oxigênio e nutrientes necessários para a homeostase do tecido lesionado (Seiwerth *et al.*, 2018; Lee; Katz 2021).

O VEGF é o principal regulador da angiogênese e um potente estimulador do crescimento endotelial. Ele exerce seus efeitos por meio da interação com os receptores VEGF-R1 e VEGF-R2. Diversos fatores, como hipóxia, PDGF, TGF- β 1, bFGF, citocinas, óxido nítrico e prostaglandinas da série E2, induzem a liberação do VEGF (Seiwerth *et al.*, 2018; Longo *et al.*, 2021; Martinino *et al.*, 2022).

A mucosa gástrica reepitelizada após lesões ulcerativas apresenta alterações histológicas, como redução da altura, dilatação das glândulas gástricas, aumento da conectividade do tecido, desorganização da rede microvascular e maior permeabilidade capilar. Essas alterações podem comprometer a defesa da mucosa e aumentar o risco de recorrência de úlceras. Portanto, a qualidade da restauração estrutural da mucosa desempenha um papel crucial na prevenção da recorrência das lesões (Tarnawski, 2012; Luz *et al.*, 2021).

2.3 Doenças Inflamatórias Intestinais (DIIs)

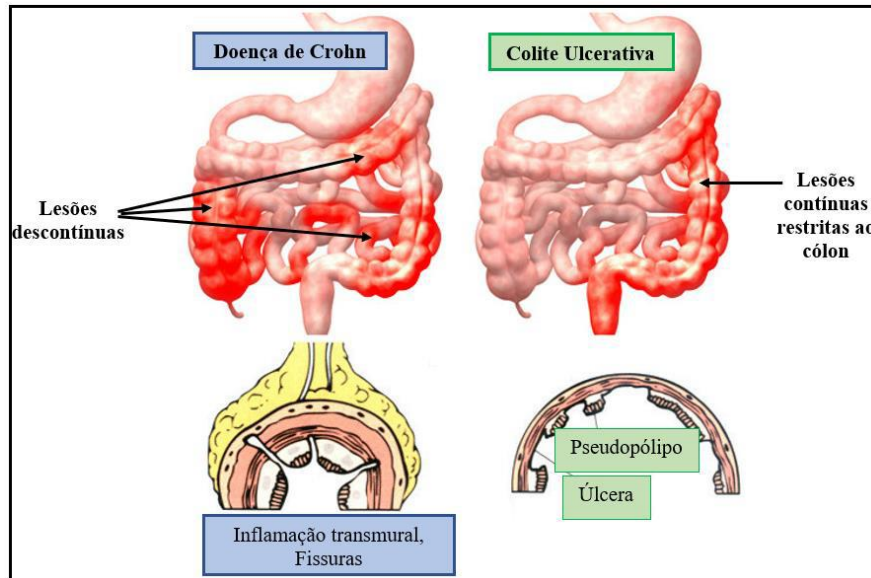
As doenças inflamatórias intestinais (DIIs) são distúrbios inflamatórios crônicos que afetam o trato gastrointestinal de etiologia multifatorial e caráter recorrente e debilitante. Fatores genéticos, imunológicos, ambientais e microbiológicos estão envolvidos no seu desenvolvimento (Baumgart *et al.*, 2012; Ungaro *et al.*, 2017).

A resposta imune anormal, a disbiose intestinal e a disfunção da barreira intestinal desempenham papéis fundamentais na fisiopatologia das DIIs, resultando em inflamação crônica e danos no tecido intestinal. Nessas condições, ocorre uma ativação contínua do sistema imunológico, resultando na liberação de fatores pró-inflamatórios e no desenvolvimento de lesões crônicas (Souza; Fiocchi, 2016).

2.3.1 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA DAS DIIS

As doenças inflamatórias intestinais (DIIs) são classificadas em dois tipos: Colite Ulcerativa (CU) e Doença de Crohn (DC). Embora essas condições compartilhem algumas características, como ativação do sistema imunológico, comprometimento da barreira epitelial e inflamação crônica, elas diferem em termos de localização, distribuição das lesões e perfil inflamatório ativado (Figura 7) (Souza; Fiocchi, 2016).

Figura 7 - Representação das características das lesões na Doença de Crohn e Colite Ulcerativa



Fonte: LFTGI - Adaptado de Agrawal; Colombel, 2019; Fan *et al.*, 2021.

A Doença de Crohn (DC) é uma condição inflamatória crônica que pode afetar qualquer parte do trato gastrointestinal de forma descontínua, mas geralmente acomete o íleo e o cólon. As lesões caracterizam-se por serem transmuralis, envolvendo desde a camada mucosa até as camadas musculares (Ungaro *et al.*, 2017). Os sintomas comuns da DC incluem dor abdominal, febre, obstrução intestinal, diarreia com presença de sangue ou muco, ou ambos. A inflamação inicial é superficial e pode progredir para formação de fístulas e, em casos mais graves, abscessos e estenose, o que leva à classificação da doença como estenosante ou fistulizante (Ananthakrishnan *et al.*, 2022).

A Colite Ulcerativa (CU) é uma doença inflamatória crônica que afeta especificamente o cólon. Caracteriza-se por inflamação recorrente e remitante da mucosa, começando no reto e estendendo-se para segmentos proximais do cólon (Ungaro *et al.*, 2017). A principal característica da CU é que as lesões são restritas à camada mucosa, sem infiltração nas camadas mais profundas da parede intestinal. As lesões apresentam-se de forma contínua, difusa e simétrica. Dependendo da localização, a CU pode ser classificada como pancolite (afetando todo o cólon), colite distal (limitada ao lado esquerdo), proctostigmoidite (afetando o cólon distal e o reto) ou proctite (restrita ao reto). Uma das complicações mais comuns da CU é o sangramento retal (Chen *et al.*, 2022; Hamid *et al.*, 2023).

Os sintomas mais comuns em indivíduos com DC incluem a presença de granulomas intestinais, aumento de macrófagos, eosinófilos e linfócitos teciduais, estenose, espessamento da parede intestinal, lesões aftosas, fístulas, abscessos e fibrose. Os principais sintomas incluem diarreia, dor abdominal, sangramento, febre e perda de peso (Marton *et al.*, 2019). Na CU, os sintomas principais são a dor abdominal, incontinência, fadiga, aumento da frequência de evacuações e secreção de muco, sangramento retal e febre. É importante ressaltar que cerca da metade dos indivíduos com CU também podem apresentar manifestações extra intestinais, principalmente nos olhos, pele e articulações (Thomas *et al.*, 2022).

As DIIs também diferem em relação ao perfil inflamatório ativado. Na DC, a maioria dos linfócitos T expressa os fenótipos TH1 e TH17, induzidos por um microambiente com presença das citocinas IL-12, IL-6, IL-23 e TGF β , resultando na síntese e liberação de IL-17, IL-22 e IFN- γ . Já na CU, o fenótipo predominante é o TH2 e as células T natural killer (NKT), com envolvimento direto das citocinas IL-4 e IL-13 (Zeng *et al.*, 2022; Kaneko *et al.*, 2023).

Embora as DIIs tenham uma etiologia complexa, multifatorial e não é completamente compreendida, alguns fatores podem favorecer o seu desenvolvimento, incluindo fatores ambientais, predisposição genética, disfunções na resposta imune inata e adaptativa e alterações na microbiota intestinal (Souza; Fiocchi, 2016; Kim; Cheon, 2017; Kaneko *et al.*, 2023).

- **Fatores genéticos**

A predisposição genética desempenha um papel importante no desenvolvimento das DIIs. Vários genes estão associados a um maior risco de desenvolver a doença, incluindo genes relacionados à resposta imune, à barreira intestinal e à regulação da inflamação. A decodificação genética revela alterações na simbiose entre microrganismos comensais e o hospedeiro, resultando em modificações na função de barreira intestinal, processo de reparo tecidual, apoptose, autofagia, sistema imunológico e resposta a fatores agressores (Alharbi *et al.*, 2022).

A imunidade inata desempenha um papel crucial no início do processo inflamatório intestinal. Estudos indicam que mutações no gene NOD2 (*nucleotide-binding oligomerization domain containing 2*), um receptor de reconhecimento padrão encontrado na superfície de macrófagos e monócitos, aumentam a suscetibilidade às

DIIs. Essas mutações levam a um desequilíbrio na interação entre microrganismos comensais e o início de uma resposta inflamatória. A expressão do gene NOD2 também está relacionada à microbiota, pois sua presença aumenta a expressão do NOD2 (Alharbi *et al.*, 2022; Di'narzo *et al.*, 2022).

Os primeiros genes associados à predisposição para DIIs foram os genes IL-10 (IL-10RA e IL-10RB), que estão envolvidos na inibição da secreção de citocinas pró-inflamatórias. A ausência desses genes está associada a um aumento da resposta inflamatória (Martin *et al.*, 2021).

As citocinas pró-inflamatórias propagam sinais que resultam em danos e cronicidade nas DIIs. A expressão dos genes do receptor de IL-23 (IL-23R) e dos genes de autofagia ATG16L1 e IRGM também está envolvida nas DIIs, contribuindo para a exacerbação da resposta TH17 e mutações nos genes de autofagia, resultando em uma redução da eliminação de produtos de degradação celular e bacterianos, o que atrai o sistema imunológico para o local da inflamação e amplifica a inflamação local (Zhu *et al.*, 2022). No entanto, a influência genética sozinha não explica completamente o surgimento das DIIs, indicando a importância de fatores ambientais na sua patogênese (Zhu *et al.*, 2022).

- **Fatores ambientais**

A exposição a fatores ambientais desempenha um papel significativo no desenvolvimento das doenças inflamatórias intestinais. Estudos têm demonstrado a relação entre certos hábitos de vida e a patogênese das DIIs. Alguns desses fatores incluem tabagismo, dieta, uso de medicamentos, estresse e infecções por patógenos entéricos (Kotze *et al.*, 2022).

Inicialmente, o tabagismo foi associado à maior predisposição às DIIs devido à geração de estresse oxidativo e radicais livres. No entanto, estudos mais recentes também mostraram que o tabagismo pode afetar as alterações imunológicas e da microbiota intestinal, agravando essas condições, especialmente na Doença de Crohn. Curiosamente, em relação à Colite Ulcerativa, o tabagismo parece exercer um efeito protetor, estimulando a redução de citocinas pró-inflamatórias (IL-8), aumento da produção de muco e redução da permeabilidade epitelial intestinal (Yadav *et al.*, 2017; Marques, Patrício 2019).

A alimentação também desempenha um papel importante no desenvolvimento das DIIs. O consumo elevado de gorduras saturadas, carnes vermelhas, carboidratos e aditivos, juntamente com a baixa ingestão de fibras alimentares, frutas e vegetais, tem sido associado ao aumento do risco de DIIs. Esse desequilíbrio dietético está relacionado ao aumento de infecções, desencadeamento de processos inflamatórios e disbiose, resultando na redução da função de barreira da mucosa intestinal (Ananthakrishnan *et al.*, 2022).

Certos medicamentos que reduzem os mecanismos de defesa da mucosa intestinal também estão associados a um maior risco de DIIs. Por exemplo, o uso contínuo de AINES inibe a ciclooxigenase (COX) e a síntese de prostaglandinas citoprotetoras, levando ao aumento de leucotrienos e danos à mucosa, aumentando a permeabilidade e desencadeando uma resposta inflamatória local (Limketkai *et al.*, 2022). Além disso, antimicrobianos podem causar desequilíbrio entre microrganismos comensais e patogênicos, levando à produção de metabólitos ativos que iniciam uma resposta inflamatória (Corridoni *et al.*, 2014; Michaels; Madsen, 2023).

O estilo de vida também desempenha um papel importante no desenvolvimento e na atividade das DIIs. Embora os mecanismos ainda não estejam completamente elucidados, estudos têm mostrado que o estresse crônico e condições psicossociais, como a depressão, estão relacionados ao aumento da atividade da doença. Acredita-se que a depressão esteja associada ao aumento da suscetibilidade a doenças mediadas pelo sistema imunológico, por meio do eixo hipotálamo-hipófise e da ativação do sistema nervoso autônomo, resultando na liberação excessiva de cortisol e citocinas pró-inflamatórias na corrente sanguínea. Além disso, condições crônicas de estresse afetam a microbiota intestinal e levam à ativação do sistema imunológico (Gao *et al.*, 2018; Limketkai *et al.*, 2022; Aswani-Omprakash; Shah, 2022).

- **Barreira epitelial**

A barreira intestinal desempenha um papel crucial na regulação das interações entre a microbiota e o sistema de defesa do organismo. É composta por células epiteliais interconectadas, fatores antimicrobianos e uma camada de muco que separa o lúmen intestinal das células do sistema imunológico interno (Zhu *et al.*, 2022; Tan *et al.*, 2023). Essa barreira física é responsável por permitir a absorção de nutrientes e

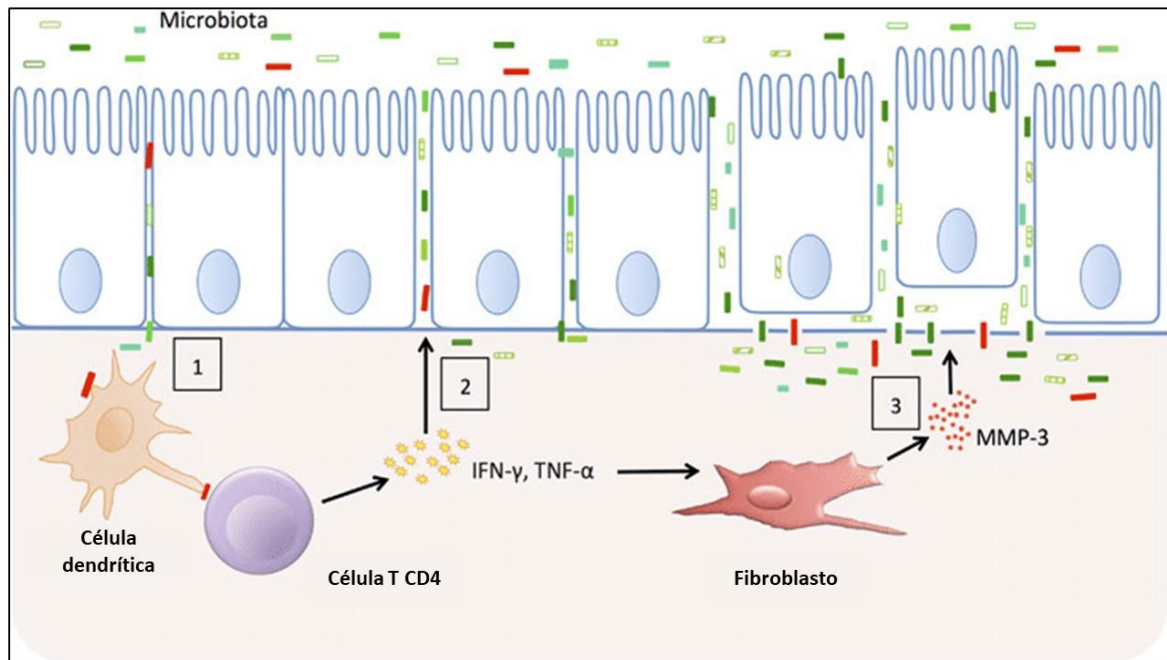
solutos essenciais, ao mesmo tempo em que impede a entrada de microrganismos patogênicos e seus metabólitos.

O epitélio intestinal é formado por uma única camada de células epiteliais colunares que são unidas por junções de oclusão. Na superfície do epitélio, há uma camada protetora de muco composta por mucinas glicosiladas secretadas pelas células caliciformes, além da liberação de defensinas pelas células de Paneth e células epiteliais. A desregulação da homeostase dessa barreira em indivíduos com DIIs, resulta no influxo de patógenos e seus metabólitos através da barreira, desencadeando uma resposta imunológica e inflamação da mucosa (Cheng *et al.*, 2022). No entanto, ainda não está totalmente esclarecido se as alterações na barreira epitelial são uma das origens das DIIs, ou se ocorrem como consequência dos processos inflamatórios locais. No entanto, é amplamente aceito que essa desregulação desempenha um papel importante na fisiopatologia, tanto da Doença de Crohn, quanto da Colite Ulcerativa (Yang *et al.*, 2022).

Um dos fatores que pode levar à desregulação da junção apical na barreira intestinal é a presença de bactérias aderentes invasivas, como a *Escherichia coli* enteropatogênica. Essas bactérias contêm lipopolissacarídeos (LPS) que podem ativar os receptores TLR4, desencadeando a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o IFN- γ e o TNF- α . Esses mediadores inflamatórios podem afetar as proteínas de junção, resultando em uma desregulação da função de barreira nas DIIs, como descrito na figura 8 (Abraham *et al.*, 2022).

As mucinas são glicoproteínas protetoras presentes na barreira epitelial intestinal. Sua produção é controlada por duas vias, a via basal, que está constantemente ativa nos processos fisiológicos, e a via estimulada, que é ativada em resposta a fatores bioativos ou epigenéticos, como microrganismos, metabólitos microbianos, citocinas pró-inflamatórias, neuropeptídeos e fatores de crescimento. Esses estímulos podem levar a uma hiperprodução e glicosilação anormal das mucinas, o que é comum na Doença de Crohn (Yang *et al.*, 2022; Tan *et al.*, 2023).

Figura 8 - Disfunção na barreira intestinal em indivíduos com DII



Fonte: Adaptado de Yu *et al.*, (2018).

Entre as diferentes isoformas de mucina, a MUC2 é a predominante na camada de muco e é expressa por células caliciformes no cólon. Nas DIIs, a síntese de MUC2 é reduzida, e essa redução está correlacionada com a gravidade da inflamação intestinal (Yang *et al.*, 2022).

Em relação à Colite Ulcerativa, estudos recentes têm se concentrado nos fatores imunológicos subjacentes à resposta inflamatória. Tradicionalmente, a CU é considerada como tendo um perfil TH2, com níveis elevados de citocinas IL-4 e IL-5. A presença de células T (NKT) natural killer não invariáveis na lâmina própria, conhecidas como tipo II, tem sido associada à produção de IL-13 e à citotoxicidade das células epiteliais (Yang *et al.*, 2022). O glicolípido em si tem sido sugerido como um gatilho para a ativação das células NKT. Além disso, certos padrões moleculares associados a danos pró-inflamatórios (DAMPs), como a calprotectina e a proteína de alta mobilidade do grupo 1 (HMGB1), são altamente prevalentes na fase ativa da CU, e sua liberação descontrolada pode contribuir para a perpetuação da inflamação. Em geral, a disfunção epitelial continua sendo um elemento crítico na patogênese da Colite Ulcerativa (Yang *et al.*, 2022; Tan *et al.*, 2023).

2.4 Epidemiologia

A epidemiologia das afecções que afetam o trato gastrointestinal apresenta um caráter dinâmico, tornando difícil uma estimativa precisa da prevalência devido à subjetividade dos sintomas e à semelhança clínica com outras doenças (Havens *et al.*, 2018).

A úlcera péptica é uma afecção do trato gastrointestinal (TGI) com uma alta prevalência global. Estima-se que cerca de 10% da população mundial seja afetada pelas úlceras pépticas em algum momento de suas vidas, com uma incidência anual de 0,1 a 0,3%, equivalente a 4 milhões de pessoas (Beiranvand, 2022; Park *et al.*, 2019).

Estudos epidemiológicos globais indicam que houve um aumento na prevalência da úlcera péptica ao longo do tempo. Em 2019, aproximadamente 8,09 milhões de casos prevalentes de úlcera péptica foram registrados, representando um aumento de 25,82% em relação a 1990. Além disso, a prevalência da úlcera péptica é maior em homens do que em mulheres em todos os anos estudados (Xie *et al.*, 2022).

As complicações mais comuns da úlcera péptica incluem sangramento, perfuração e obstrução da saída gástrica. O sangramento pode ocorrer em cerca de 50% dos casos sem sintomas de alerta. Essas complicações são responsáveis por um grande número de hospitalizações anuais nos Estados Unidos, com cerca de 150.000 casos (Kempenich; Sirinek, 2018). Embora as internações hospitalares relacionadas a úlceras pépticas tenham diminuído globalmente, a taxa de letalidade permanece estável em torno de 5 a 10%. Dependendo de fatores como idade e comorbidades, a taxa de mortalidade pode chegar a 20% dos casos (Min; Min, 2018). A incidência anual de hemorragia digestiva alta devido à úlcera péptica é estimada entre 19 e 57 casos por 100.000 indivíduos, sendo mais comum em pessoas acima de 60 anos (Lau *et al.*, 2011; Stern *et al.*, 2022).

No Brasil, a escassez de dados atualizados sobre a prevalência da úlcera péptica dificulta uma estimativa precisa da sua ocorrência. No entanto, um estudo realizado por Oliveira *et al.* (2015) relatou uma prevalência de úlcera de 0,1% em mulheres e 0,2% em homens nos últimos 10 anos.

A taxa de mortalidade nacional é de 3,0 por 100.000 habitantes, sendo maior em homens (3,6 por 100.000) do que em mulheres (2,3 por 100.000). O Nordeste do

Brasil apresentou taxas de mortalidade superiores às taxas nacionais, com 3,8 por 100.000 habitantes (4,7 por 100.000 homens e 2,9 por 100.000 mulheres) (Oliveira *et al.*, 2015; Beiranvand, 2022).

Em relação aos tipos de úlcera péptica, a úlcera duodenal é relatada como sendo de 2 a 4 vezes mais prevalente que a úlcera gástrica (Barazandeh *et al.*, 2012; Malik *et al.*, 2023). A doença afeta principalmente adultos de meia-idade e idosos, embora também possa ser diagnosticada em jovens. Em relação ao sexo, os homens são mais acometidos pelas úlceras pépticas do que as mulheres, na proporção de 3,5:1 para úlceras duodenais e 2,5:1 para úlceras gástricas, sendo as mulheres mais acometidas durante ou após a menopausa (Lanas, Chan, 2017).

A úlcera duodenal é mais comum em indivíduos mais jovens (20-50 anos), enquanto a úlcera gástrica é mais prevalente em idosos (a partir dos 55 anos). Nas últimas décadas, observou-se uma redução na incidência de úlceras duodenais, mas a incidência de úlceras gástricas permaneceu quase inalterada (Lanas, Chan, 2017).

A redução nas internações pelo acometimento de úlceras gástricas e duodenais está relacionada ao uso de medicamentos gastroprotetores e/ou inibidores da secreção ácida, além de uma terapia mais eficaz para erradicação da bactéria *Helicobacter pylori*. Estudos em países da América Latina identificaram a presença da infecção pelo *H. pylori* em úlceras gástricas e duodenais, com prevalência de 55% e 74%, respectivamente (Min; Min, 2018).

No entanto, devido à subnotificação, ainda há uma falta de dados epidemiológicos que reflitam verdadeiramente os casos de úlcera gástrica e duodenal no país, destacando a necessidade de pesquisas adicionais para estimar sua ocorrência de forma mais precisa.

As doenças inflamatórias intestinais (DII) atingem mais de 5 milhões de pessoas em todo o mundo, e no Brasil tem sido observado aumento no número de novos casos, nos últimos anos. A prevalência global das DIIs aumentou de 68,6 casos por 100 mil habitantes em 1990 para 89,6 casos por 100 mil habitantes em 2017, representando um aumento de 31% em 27 anos (Piovani *et al.*, 2020; Machado *et al.*, 2021; Park *et al.*, 2023).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Coloproctologia (SBCEP), no nosso país a prevalência das doenças inflamatórias intestinais varia de 12 até próximo a 55 em cada 100 mil habitantes, dependendo da região e do estudo epidemiológico. Observa-se uma maior concentração principalmente no Sudeste e no Sul,

relacionando-se com o índice de desenvolvimento humano e a urbanização. No Brasil, a incidência média, ou seja, a ocorrência de novos casos, de doença de Crohn e retocolite fica em torno de 7 para cada 100 mil habitantes. Nos países desenvolvidos, incluindo EUA, Canadá e alguns países europeus, a prevalência pode chegar próxima a 120/130 para cada 100 mil habitantes.

Estudo publicado em 2018 e conduzido por Gasparini *et al.* analisou 22.638 pacientes do SUS no estado de São Paulo, com uma média de 42,6 anos, diagnosticados com DII (sendo 10.451 com Crohn e 12.187 com retocolite). A incidência de DII era de 13,30 novos casos para cada 100 mil habitantes por ano, enquanto a prevalência média era de 52,6 casos em cada 100 mil habitantes. Os pesquisadores concluíram que houve aumento da prevalência de DII em SP entre os anos de 2012 e 2015 e que os índices de incidência e prevalência são compatíveis com os da Europa, com uma maior ocorrência entre mulheres.

Já revisão conduzida por Quaresma *et al.* publicada em 2019 teve como objetivo analisar a incidência e prevalência de DII no Brasil a partir de poucos estudos disponíveis sobre o assunto. Os pesquisadores encontraram quatro únicos estudos de base populacional, sendo dois em São Paulo, um no Espírito Santo e outro no Piauí. A pesquisa apontou crescimento na incidência e prevalência estimada de DII no Brasil, com maior número de casos nas regiões mais desenvolvidas.

As doenças inflamatórias crônicas do intestino (DIIs), Colite Ulcerativa e Doença de Crohn têm um impacto significativo na qualidade de vida da população, sendo caracterizadas por um curso crônico com fases de remissão e recidiva. Dados recentes indicam um aumento na incidência e prevalência das DIIs ao longo do tempo e em diferentes regiões geográficas (Park *et al.*, 2023). A colite ulcerativa apresenta uma incidência relatada de 24 por 100 mil habitantes no norte da Europa, 19 por 100 mil habitantes no Canadá e 17 por 100 mil habitantes na Austrália (Park *et al.*, 2023). No entanto, as taxas de prevalência são mais altas na Europa (505 por 100 mil habitantes), Canadá (248 por 100 mil habitantes) e Estados Unidos (214 por 100 mil habitantes).

Em relação à colite ulcerativa, de acordo com um estudo epidemiológico, estima-se que a prevalência global seja de aproximadamente 6 a 26,5 casos por 100.000 pessoas (Park *et al.*, 2023). No entanto, esses números podem ser subestimados, uma vez que muitos casos de colite ulcerativa podem passar despercebidos ou não serem diagnosticados corretamente.

Estudos mais recentes relatam um aumento da sua ocorrência em países subdesenvolvidos na América do Sul, África e Ásia (Bai *et al.*, 2020; Park *et al.*, 2023). Esse aumento tem sido associado a mudanças no estilo de vida e hábitos alimentares (Windsor; Kaplan, 2019; Machado *et al.*, 2021).

Em termos de características demográficas, a colite ulcerativa afeta igualmente homens e mulheres e geralmente se desenvolve em adultos jovens, com uma idade média de início entre 18 e 35 anos. No entanto, também pode ocorrer em idosos e em crianças (Ng *et al.*, 2013). A prevalência das DIIs está aumentando em nível global. Embora tenham sido feitos avanços na farmacoterapia, mais de 20% dos indivíduos com doença de Crohn são submetidos a cirurgia, e mais de 10% dos afetados por colite ulcerativa ainda necessitam de colectomia (Yuksel *et al.*, 2017; Piovani *et al.*, 2020).

2.5 Microbiota

A microbiota é composta por uma comunidade de microrganismos, incluindo bactérias, fungos, protozoários e vírus, que colonizam o hospedeiro de forma simbiótica. Ela desempenha diversas funções importantes, como a metabolização de nutrientes, a regulação do sistema imunológico e a função de barreira que impede a colonização de microrganismos patogênicos (Pessoa *et al.*, 2022).

A microbiota humana é composta majoritariamente por bactérias, mas inclui fungos, protozoários e vírus, dispostos em diferentes localizações do organismo (pele, vias respiratórias e trato gastrointestinal). A composição da microbiota humana difere em cada indivíduo, devido a fatores intrínsecos e extrínsecos como hábitos alimentares, idade, o ambiente em que a pessoa vive, o uso de antimicrobianos e intervenções clínicas e cirúrgicas (Chang, 2020).

O trato gastrointestinal (TGI), especialmente o intestino, abriga uma vasta quantidade de microrganismos, estimados em $1-4 \times 10^{15}$, que coexistem em uma relação equilibrada (Schulz *et al.*, 2015). A composição bacteriana predominante no intestino dos adultos é composta por bactérias dos gêneros *Bacteroides* e *Parabacteroides* (Sgambato *et al.*, 2017).

O ambiente anaeróbio do lúmen intestinal não facilita a colonização e o desenvolvimento de patógenos aeróbios em condições normais, embora espécies

patogênicas anaeróbicas e facultativas possam invadi-lo e promover doenças (Martinez, 2020).

O trato intestinal de pessoas saudáveis apresenta uma microbiota variada e mecanismos de salvaguarda contra influências externas. Tais mecanismos incluem a junção de oclusão entre as células, conhecida como barreira de oclusão (Lin *et al.*, 2019), assim como os receptores *Toll-Like* (TLR), e o muco protetor. Os TLR são proteínas altamente conservadas presentes na membrana celular de macrófagos, células dendríticas e células epiteliais intestinais, constituindo a primeira linha de defesa do intestino (Lin *et al.*, 2019).

Os TLR desempenham um papel essencial na detecção e no reconhecimento de patógenos microbianos, dando início à transdução de sinais em resposta a padrões moleculares associados a danos (DAMP, do inglês *damage-associated molecular patterns*) e a patógenos (PAMP, do inglês *pathogen-associated molecular patterns*) (Moresco *et al.*, 2011). Esses sinais desencadeiam a produção de proteínas e citocinas pró-inflamatórias (Lin *et al.*, 2019).

A barreira mucosa gastrointestinal desempenha diversas funções, entre elas a capacidade de discernir entre antígenos benéficos e prejudiciais, o que ajuda a evitar infecções causadas por patógenos transmitidos por alimentos. Isso ocorre por meio de interações locais e sistêmicas (Machado *et al.*, 2015), contribuindo para a integridade e saúde do sistema gastrointestinal.

O TGI é uma barreira seletiva constituída por células epiteliais, que limita o contato direto de microrganismos residentes ou transitórios com células imunológicas especializadas da lâmina própria e sua propagação sistêmica, contribuindo para a homeostase imunológica (Figura 9). Essa barreira inclui enterócitos (90-95%), células enteroendócrinas, células caliciformes, células M envolvidas na captura de antígenos e células de *Paneth*. As células caliciformes secretam glicoproteínas mucinas, que no intestino grosso se unem para gerar 2 camadas de muco e, através da mais externa, grande número de microrganismos são aprisionados, impedindo seu acesso ao epitélio e facilitando sua eliminação nas fezes (Johansson *et al.*, 2008; Álvarez *et al.*, 2021).

No intestino delgado estão as células de Paneth responsáveis pela secreção de peptídeos antimicrobianos (defensinas e Reg-gama), que inibem o crescimento de certas bactérias e evitam seu contato direto com o epitélio. Por sua vez, bactérias comensais regulam a expressão de genes codificadores de mucina (MUC-2, MUC-3)

e modificam seu padrão de glicosilação, bem como a produção de peptídeos antimicrobianos, auxiliando na regulação da adesão, colonização e invasão microbiana (Vaishnava *et al.*, 2011; Álvarez *et al.*, 2021).

A microbiota comensal também tem efeito trófico, influenciando a proliferação de células epiteliais e a manutenção de junções intercelulares estreitas, contribuindo para fortalecer a função do epitélio como barreira física contra a entrada de agentes exógenos (Soderholm, Pedicord, 2019).

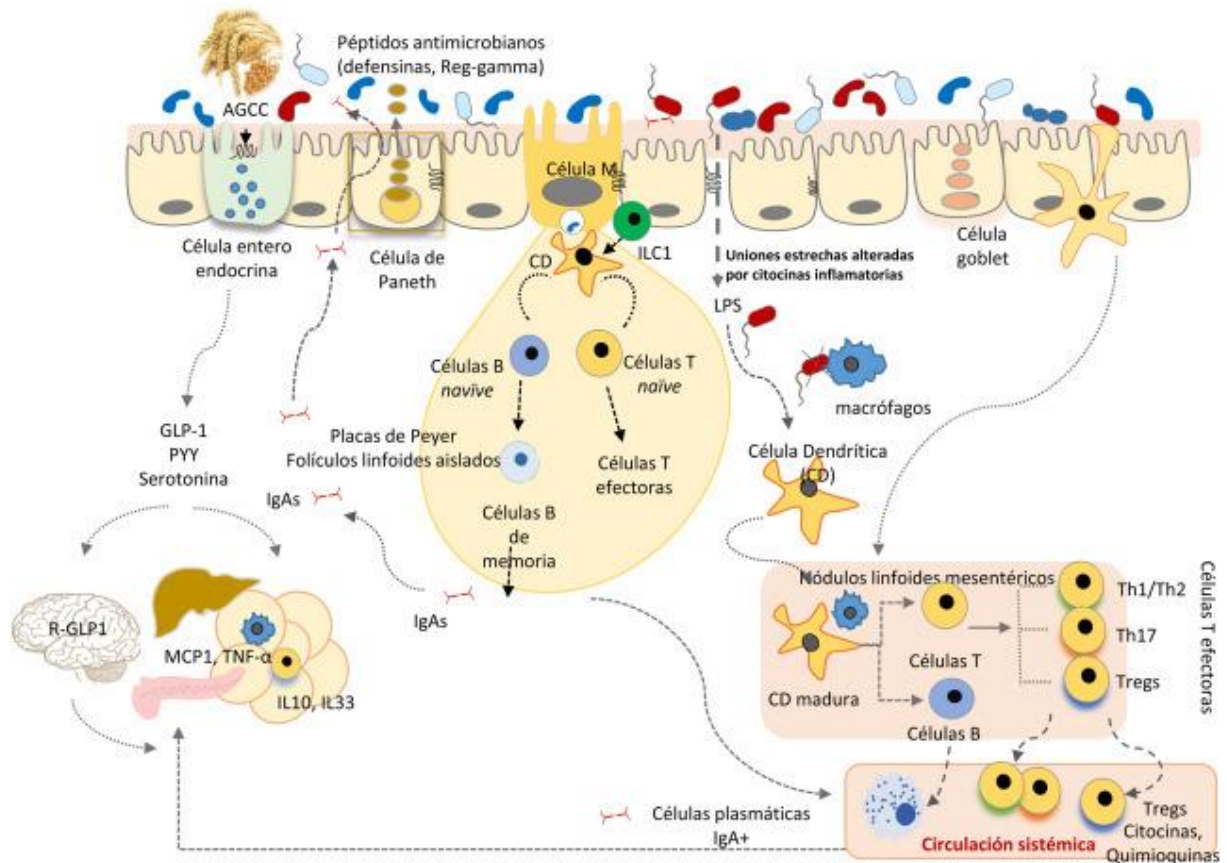
Produção de imunoglobulina A secretora (IgA) constitui outro mecanismo de defesa que limita o acesso de bactérias à mucosa. As células dendríticas reconhecem e capturam um pequeno número de bactérias e interagem com as células B e T das placas de Peyer, ativando a produção de IgA específica. Essas IgAs são transportadas pelo epitélio e, uma vez no lúmen, ligam-se às bactérias intestinais, contribuindo para o controle de patógenos, neutralizando toxinas e favorecendo sua eliminação. Na lâmina própria, os macrófagos fagocitam e eliminam os microorganismos que penetraram no epitélio intestinal (Pabst, Slack, 2020).

As células dendríticas parecem estar mais envolvidas na coordenação entre a imunidade inata e a adaptativa. Bactérias ou outros antígenos capturados pelas células dendríticas são carregados para os linfonodos mesentéricos, onde podem influenciar a diferenciação dos linfócitos T em células efetoras ou reguladoras, dependendo do tipo de estímulo antigênico e do tônus inflamatório. A homeostase intestinal é mantida por um sistema de verificações e equilíbrios entre células T efetoras inflamatórias, incluindo células Th1 (CD4⁺ e CD8⁺ que migram para o epitélio tornando-se linfócitos intraepiteliais), células Th17 e células T reguladoras Foxp3⁺ anti-inflamatórias Tregs envolvidas no desenvolvimento da tolerância. As bactérias comensais estão envolvidas no desenvolvimento das células Treg, na ausência de resposta das células T efetoras e na indução de apoptose ou anergia das células T, evitando a inflamação crônica e os fenômenos autoimunes. Além disso, as células dendríticas ativadas interagem com as células B e T das placas de Peyer, induzindo a produção de imunoglobulinas, tanto secretoras quanto aquelas que exercem proteção sistêmica (Vaishnava *et al.*, 2011; Álvarez *et al.*, 2021).

As células linfóides inatas (ILCs) estão localizadas no epitélio intestinal e na lâmina própria e estão envolvidas na manutenção de respostas imunes adequadas a diferentes microorganismos, aumentando a imunidade adaptativa e regulando a

inflamação e reparo tecidual na mucosa intestinal. As funções do ILC também são reguladas pela microbiota comensal (Sonnenberg *et al.*, 2012; Sanz *et al.*, 2018).

Figura 9 - Representação esquemática da influência da microbiota e seus metabólitos na função da barreira intestinal e no sistema imunológico



Fonte: Adaptado de Álvarez *et al.*, 2021.

Cada sítio do TGI tem uma distribuição única de microbiota. Quando comparada com o estômago e duodeno, a densidade de bactérias aumenta no jejuno/íleo e cólon. Para produzir as condições ideais para sua interação e sobrevivência comuns, o hospedeiro e os microrganismos desenvolveram mecanismos específicos. A interrupção desses mecanismos desencadeia um desequilíbrio das espécies microbianas, denominada disbiose, que gera uma disfunção da barreira intestinal e indução de resposta inflamatória (Liatsos *et al.*, 2022), incluindo redução na diversidade e na abundância de taxa bacteriana nos filos Firmicutes e Bacteroidetes, e aumentos nos membros do filo *Proteobacteria*, como *Enterobacteriaceae* (Knox *et al.*, 2019).

Mudanças na microbiota podem exercer influência indireta sobre a imunidade da mucosa por meio da desregulação do equilíbrio energético, estimulando o estresse oxidativo. O sulfeto de hidrogênio (H₂S), por exemplo, o qual é produzido por algumas bactérias durante a respiração anaeróbica, está associado com a disfunção mitocondrial, o dano epitelial e o aumento da inflamação intestinal (Beaumont *et al.*, 2016; Lombardi, 2018).

A elevação dos níveis de ácido láctico resultante da atividade bacteriana de microrganismos como *Enterococcus* e *Streptococcus spp.* pode também ter um papel significativo no desencadeamento de distúrbios gastrointestinais. Essa elevação de ácido láctico está associada à disfunção das mitocôndrias e ao aumento do estresse oxidativo. Isso indica que as bactérias comensais desempenham um papel crucial não apenas na manutenção da saúde do trato gastrointestinal, mas também no desenvolvimento adequado da resposta imunológica do organismo (Lombardi, 2018). *Bacteroides fragilis*, juntamente com certos membros do gênero *Clostridia*, desempenham um papel na promoção de um estado anti-inflamatório, através da produção de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e IL-13. Esses são exemplos de interações benéficas para o hospedeiro. Em contraste, bactérias patogênicas, como *Salmonella typhimurium* e *C. difficile*, tendem a estimular a produção de citocinas inflamatórias (Martinez, 2020).

Estudos recentes em modelos animais e testes em humanos sugerem que a microbiota intestinal patogênica e a expressão aumentada de citocinas pró-inflamatórias nas DIIs desempenham um papel fundamental no desenvolvimento e manutenção da doença (Dalcin *et al.*, 2019), mas também na diarreia infecciosa, na síndrome do intestino irritável e nas úlceras pépticas (Bamola *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2023).

No caso da colite ulcerativa (CU), as influências microbianas estão relacionadas aos seus efeitos metabólicos na homeostase e função do epitélio intestinal. O cólon abriga aproximadamente 106 espécies de bactérias, predominantemente anaeróbicas, que são responsáveis pela fermentação dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs), os quais representam 70% da energia utilizada pelo epitélio colônico (LI *et al.*, 2022). Alterações na microbiota "saudável", como a redução de *Bifidobacterium* e *Bacteroides*, juntamente com um aumento de bactérias redutoras de sulfato (SRB) do gênero *Desulfovibrio*, têm sido descritas. As SRBs convertem sulfato em sulfeto, que inibe a oxidação do butirato, principal AGCC, e é tóxico para

as células epiteliais do cólon. Além disso, os AGCCs podem induzir a expansão de células T reguladoras no cólon (Dargahi *et al.*, 2019; Serafim *et al.*, 2020; Niu *et al.*, 2022).

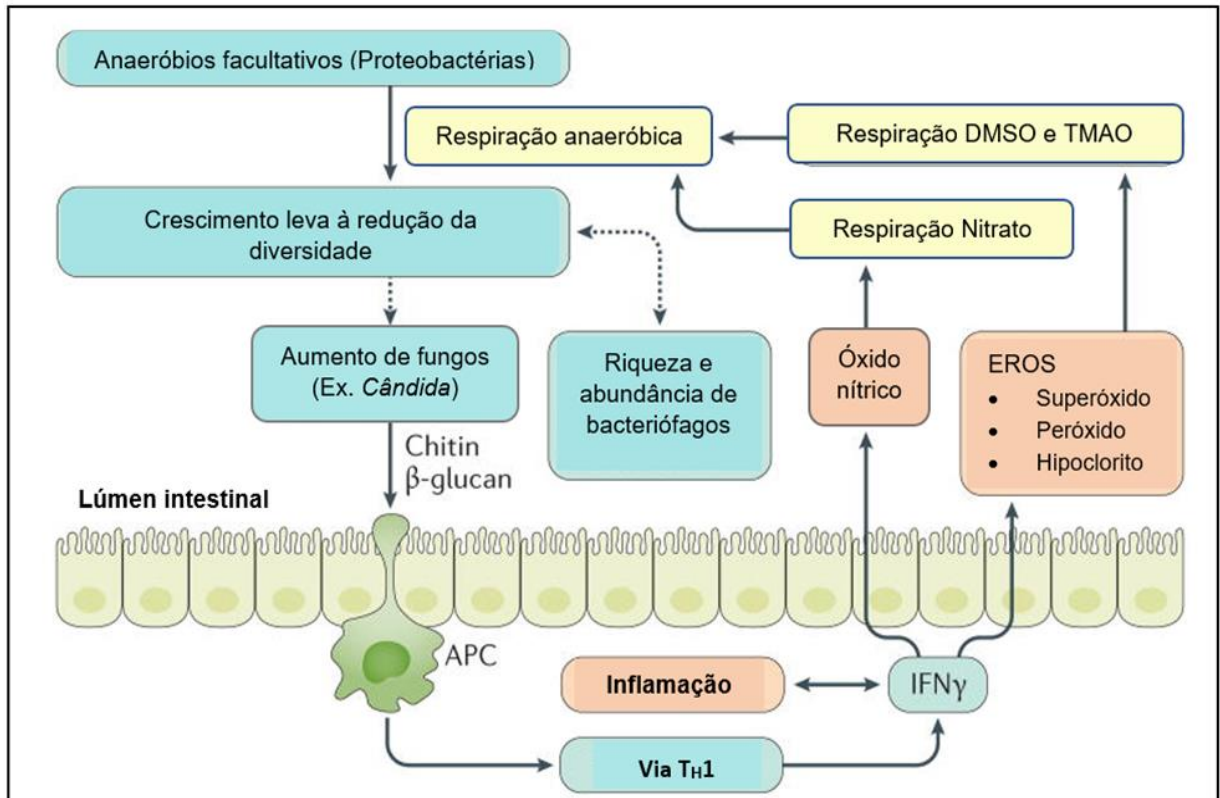
Pesquisas pré-clínicas e clínicas indicam que a microbiota intestinal patogênica e a expressão aumentada de citocinas pró-inflamatórias desempenham um papel central no desenvolvimento e na manutenção das doenças inflamatórias intestinais (Serafim *et al.*, 2020).

Aproximadamente um terço dos indivíduos com Doença de Crohn (DC) apresenta um aumento de *Escherichia coli* invasiva e aderente à mucosa intestinal. Essas bactérias atravessam a barreira epitelial da mucosa, aderem e invadem as células epiteliais do intestino, sobrevivem e se replicam no interior dos macrófagos, provocando a secreção de grandes quantidades de TNF- α . Além disso, sua permanência intracelular suprime a autofagia, o que intensifica a gravidade da infecção (Axelrad *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2023).

O processo inflamatório no cólon promove a ativação dos linfócitos do subgrupo TH1, que induzem a liberação de IFN γ e aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) pelas células imunes fagocíticas da imunidade inata. Esses radicais formam produtos da respiração anaeróbica que favorecem a replicação de microrganismos anaeróbios facultativos, resultando em uma redução da diversidade bacteriana (Figura 10) (Ni *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2022). Portanto, a caracterização do perfil da microbiota tem se tornado uma ferramenta importante no diagnóstico e monitoramento das doenças inflamatórias intestinais (Zhou *et al.*, 2022).

O desequilíbrio na composição da microbiota intestinal, conhecido como disbiose, tem um impacto direto na modulação do sistema imunológico e está associado ao desenvolvimento de doenças inflamatórias, autoimunes ou atópicas (Serafim *et al.*, 2020; Pessoa *et al.*, 2022).

Figura 10 - Inflamação do cólon nas DIIs e as alterações na microbiota intestinal



Fonte: Adaptado de Ni *et al.*, 2017.

Os avanços na tecnologia de sequenciamento de DNA permitiram análises mais detalhadas do microbioma intestinal, independentemente da cultura bacteriana. O projeto MetaHIT (Metagenômica do Trato Intestinal Humano) estimou a existência de 3,3 milhões de genes bacterianos não redundantes na microbiota intestinal. Nesse estudo, a abundância relativa de 155 espécies bacterianas foi capaz de diferenciar indivíduos saudáveis, aqueles com colite ulcerativa (CU) e doença de Crohn (DC) (Dargahi *et al.*, 2019; Peng *et al.*, 2021).

Com base na relação entre microbiota intestinal, fatores genéticos e resposta inflamatória do hospedeiro, têm surgido abordagens terapêuticas alternativas para a prevenção e tratamento das doenças inflamatórias intestinais (DIIs), como o uso de prebióticos, probióticos e transplante de microbiota fecal.

O processo pelo qual bactérias patogênicas se ligam às células epiteliais do intestino desempenha um papel crucial na sua colonização e subsequente desencadeamento de infecções intestinais (Do Carmo *et al.*, 2020). Por contraste, a presença predominante de bactérias probióticas nas superfícies do trato gastrointestinal pode dificultar a aderência e a subsequente infecção causada por

patógenos. Isso ocorre ao bloquear receptores específicos através de mecanismos competitivos de exclusão, resultando em benefícios para a saúde do hospedeiro (Do Carmo *et al.*, 2020).

Dessa forma, os probióticos frequentemente utilizados são cepas de bactérias produtoras de ácido láctico, como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus*. Estudos têm demonstrado que bactérias desses gêneros têm a capacidade de inibir o crescimento de patógenos entéricos, como *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Clostridium difficile*, *in vitro* (Huang *et al.*, 2022; Holman *et al.*, 2023).

Os prebióticos por sua vez têm recebido cada vez mais atenção devido às suas propriedades benéficas para a saúde. Os mecanismos pelos quais eles atuam incluem a inibição de patógenos, a produção de metabólitos e a modulação da imunidade. É importante ressaltar que evidências crescentes têm revelado sua influência na microbiota intestinal, sugerindo que eles podem ter um potencial terapêutico em doenças relacionadas à microbiota, como as DIIs (Xia *et al.*, 2023).

O transplante de microbiota fecal consiste na transferência da microbiota intestinal funcional de indivíduos saudáveis para o intestino de pacientes. Essa técnica tem sido utilizada no tratamento de doenças intestinais e extraintestinais, por meio da restauração da microbiota intestinal. Existem diversas vias de administração para o transplante, como endoscopia, tubo nasojejunal, tubo de gastrostomia, tubo de jejunostomia, infusão colônica sob colonoscopia, enema, cápsulas e sonda nasogástrica. O uso dessa terapia alternativa para CU e DC foi relatado, porém os achados clínicos baseados em diferentes métodos variam consideravelmente. Além disso, na maioria dos estudos clínicos, os materiais fecais são preparados manualmente. Essa abordagem tem sido recebida com algumas preocupações, como questões estéticas, psicológicas e médicas (como a transmissão de patógenos), por parte de pacientes, profissionais de saúde e candidatos a doadores (Ding *et al.*, 2020).

2.6 Sistema antioxidante

O sistema antioxidante é composto por um conjunto de moléculas e enzimas que atuam na inativação das espécies reativas de oxigênio (EROs) para prevenir o estresse oxidativo (Sies; Jones, 2020). As EROs são produzidas principalmente pelo metabolismo celular, como o metabolismo mitocondrial e de outras organelas,

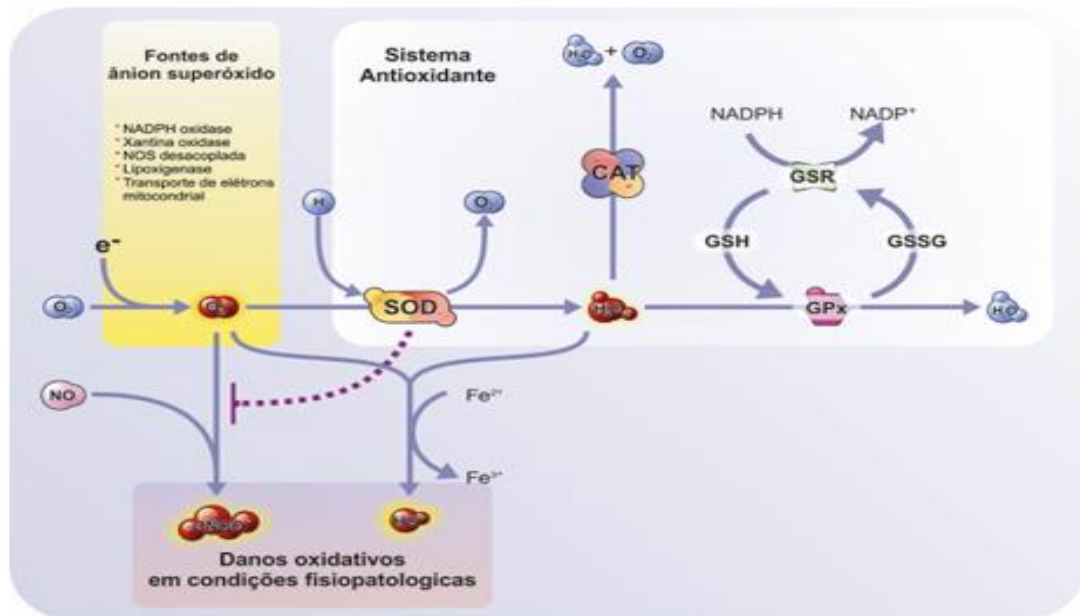
resultando na formação de íons e peróxidos de oxigênio reativos. Em altas concentrações, essas EROs podem causar danos às biomoléculas, como DNA, RNA, proteínas e lipídios, levando a um desequilíbrio homeostático (Sies; Jones, 2020; Truong; Jeong, 2022).

O organismo possui um sistema de defesa antioxidante, que pode ser dividido em enzimático e não enzimático. O sistema enzimático é composto por enzimas, como catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) e glutathione S-transferase (GST), que atuam na primeira linha de defesa contra o superóxido e o peróxido de hidrogênio. Já o sistema não enzimático corresponde à segunda linha de defesa e inclui antioxidantes endógenos, como glutathione reduzida (GSH), tioredoxinas, ácido úrico e bilirrubina, e antioxidantes exógenos, como ácido ascórbico, tocoferóis, vitaminas E e C, carotenoides e compostos fenólicos (Asakura; Kitahora, 2018; Sies; Jones, 2020; Truong; Jeong, 2022).

A reação entre o superóxido (O_2^-) e o óxido nítrico (NO) forma o peroxinitrito ($ONOO^-$), uma espécie altamente reativa que desencadeia o estresse oxidativo. O superóxido é produzido pela enzima NADPH oxidase (NOX) e pelas mitocôndrias, enquanto o óxido nítrico é gerado pelas óxido nítrico sintases (NOS) e o peróxido de hidrogênio pode ser formado por diversas oxidases (Jaeschke; Ramachandran, 2018).

Os mecanismos de defesa antioxidante celular incluem enzimas para o metabolismo rápido das EROs, proteínas de ligação a metais de transição (como a ferritina) e antioxidantes que quebram as reações em cadeia (como a vitamina E), a fim de prevenir a peroxidação lipídica. O superóxido é metabolizado pela superóxido dismutase-1 (Cu/Zn-SOD) e superóxido dismutase-2 (Mn-SOD), enquanto o peroxinitrito é eliminado pela glutathione (GSH) e o peróxido de hidrogênio é reduzido pela glutathione peroxidase-1 (GPx1) ou pela catalase (CAT) como descrito na figura 11 (Jaeschke; Ramachandran, 2018; Pu *et al.*, 2023).

Figura 11 - Mecanismos de ação de enzimas antioxidantes sobre espécies



Fonte: Silva; Delgado (2020).

Legenda: Formação do ânion superóxido e sua degradação a outros compostos reativos e inócuos pela ação das enzimas antioxidante. A adição de um elétron ao oxigênio é o princípio da formação do ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) em diferentes fontes, que em associação com o óxido nítrico (NO) forma moléculas de peroxinitrito ($ONOO^{\bullet-}$), altamente nocivas. A enzima superóxido dismutase (SOD) inibe a formação de $ONOO^{\bullet-}$ ao converter o $O_2^{\bullet-}$ em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), no entanto esta moléculapode ser degradado em radical hidroxila ($HO^{\bullet}$) nas reações com metais de transição, incrementando as lesões. Por sua vez a catalase (CAT) degrada H_2O_2 em água (H_2O) e oxigênio (O_2). O H_2O_2 também pode ser convertido em H_2O através do ciclo de oxirredução da glutatona (GSH), onde a glutatona peroxidase (GPx) ao oxidar a GSH (GSSG) libera H_2O e posteriormente é restabelecida à sua forma reduzida pela ação da glutatona redutase (GSR), via nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH).

A glutatona (GSH), que está predominantemente presente na mucosa gástrica, desempenha um papel importante na proteção contra as EROs. A glutatona contém um grupo sulfidríla (-SH) facilmente oxidável, o que ajuda a proteger o organismo contra lesões oxidativas. Além disso, ela contribui para a integridade e permeabilidade da membrana celular, promove a montagem de oligômeros de mucina para manter a fluidez do muco, auxilia na manutenção da função imunológica, regula a síntese e degradação de proteínas e mantém a estrutura proteica (Shahinfar *et al.*, 2021; Pu *et al.*, 2023).

O estresse oxidativo desempenha um papel importante na fisiopatologia dos processos inflamatórios, uma vez que a peroxidação lipídica pode levar à liberação de mediadores inflamatórios e ativar células do sistema imunológico, como os neutrófilos. Nesse contexto, ocorre um aumento da atividade da mieloperoxidase (MPO), uma

enzima importante nas atividades inflamatórias mediadas por citocinas inflamatórias (Shahinfar *et al.*, 2021).

Tanto a inflamação crônica quanto a hiperativação do sistema imunológico levam ao aumento dos níveis de EROs e à redução dos antioxidantes endógenos. Esse processo contribui para danos na camada mucosa e invasão bacteriana, estimulando a resposta imunológica e favorecendo a progressão das DIIs (Wang *et al.*, 2022).

As EROs também atuam como segundos mensageiros na ativação de vias de sinalização inflamatória, como a cascata de sinalização de proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs) e o fator nuclear kappa B (NF- κ B). Antígenos bacterianos, como lipopolissacarídeos (LPS), ativam macrófagos por meio do receptor Toll-like 4 (TLR4), desencadeando a ativação da MAPK e desempenhando um papel crucial na ativação da resposta imunológica inata e adaptativa, assim como na via do NF- κ B (Tabari *et al.*, 2022; Michaels; Madsen, 2023). Além disso, as EROs também são responsáveis pela ativação da I κ B quinase, resultando na quebra da proteína I κ B α pelo proteassoma e liberando o fator de transcrição NF- κ B ativo, que se liga a promotores de genes-alvo e promove a transcrição de citocinas inflamatórias e quimiocinas (Tan *et al.*, 2023).

O fator 2 relacionado ao fator nuclear eritróide 2 (Nrf2) regula a expressão de mais de 300 genes envolvidos na modulação do estresse oxidativo e da inflamação. Sua ativação suprime a via do NF- κ B e melhora o estresse oxidativo observado nas DIIs (Bourgonje *et al.*, 2023).

O estresse oxidativo sistêmico observado na doença de Crohn pode contribuir para o desenvolvimento de manifestações extraintestinais, como fístulas perianais, doenças dermatológicas e artrite, que são comumente observadas em indivíduos afetados pela doença (Bourgonje *et al.*, 2023).

2.7 Citocinas

As citocinas são proteínas solúveis de baixo peso molecular (6 a 70 kDa) produzidas por células do sistema imunológico, que atuam como moléculas sinalizadoras em diferentes órgãos e tecidos inflamados, por meio das vias autócrina, parácrina e endócrina. Elas desempenham um papel importante na manutenção da homeostase da mucosa intestinal e têm efeitos significativos nas doenças

inflamatórias do trato gastrointestinal, além de desempenhar funções relevantes no controle e na função de células imunes e não imunes, regulando a resposta imunológica, a patogênese e a modulação de doenças mediadas pelo sistema imunológico (Leonard *et al.*, 2019).

A inflamação é uma resposta biológica de defesa contra estímulos e infecções, que envolve a produção de mediadores inflamatórios para combater o fator desencadeador do estímulo. No entanto, quando a inflamação se prolonga, ocorre uma indução de danos aos tecidos, desencadeando uma nova cascata de sinalização e tornando o processo inflamatório crônico. A sinalização do sistema imunológico ocorre por meio das citocinas, que se ligam aos seus receptores e iniciam uma transdução de sinais que aumenta a resposta inflamatória (Pavlidis *et al.*, 2022).

No início da inflamação, a infecção ou dano tecidual é detectado pelos receptores de reconhecimento de padrões, como os receptores do tipo Toll (TLR), receptores do tipo NOD (NLR) e receptor de produtos de glicação avançada (RAGE). Esses receptores são ativados após a ligação com moléculas conhecidas como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Em resposta a esses estímulos, são desencadeadas sinalizações que ativam fatores de transcrição, como o fator nuclear kappa B (NF- κ B), que se transloca para o núcleo e ativa vias inflamatórias, como a proteína 1 (AP-1) (Abraham *et al.*, 2022).

A sinalização via NF- κ B desempenha um papel fundamental na regulação dos genes relacionados à reação inflamatória aguda. Na sua forma inativa, o NF- κ B está localizado no citoplasma, ligado à proteína quinase I κ B. Quando a enzima quinase I κ B é ativada, ocorre a fosforilação da proteína I κ B e posterior degradação do complexo I κ B. Essa sinalização resulta na ativação do NF- κ B, que se transloca para o núcleo e promove a ativação transcricional de outras citocinas inflamatórias (Potdar, 2021).

Algumas citocinas exacerbam as respostas inflamatórias, induzindo e intensificando o processo inflamatório (como IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7 e TNF- α), enquanto outras citocinas regulam esse processo, suprimindo a resposta inflamatória (como IL-10, IL-11 e IL-13), modulando assim a resposta imunológica. Nas úlceras gástricas, as principais citocinas pró-inflamatórias envolvidas são o TNF- α , IL-1 β e IL-6. Essas citocinas estão principalmente associadas à resposta aguda da inflamação, e é característico o infiltrado de neutrófilos na mucosa gástrica, com liberação de EROs, causando lesões na mucosa, além do aumento de moléculas de adesão em células endoteliais e leucócitos (Thomas *et al.*, 2022).

A IL-1 β está associada a uma inflamação acentuada na mucosa gástrica, atuando por meio de um feedback positivo para induzir a expressão de IL-8 (uma citocina envolvida na regulação do NF- κ B). A IL-8 promove o recrutamento, influxo e ativação de neutrófilos na mucosa gástrica, resultando na produção massiva de EROs e na potencialização da via de sinalização do NF- κ B. Por sua vez, o TNF- α pode estimular a expressão de ICAM-1, uma molécula de adesão de leucócitos ao endotélio, promovendo a diapedese para locais inflamados nas células endoteliais vasculares. Além de causar aumento da permeabilidade e edema vascular, o TNF- α também desencadeia a expressão da COX-2, potencializando os efeitos inflamatórios (Pawlik *et al.*, 2016; Aziz *et al.*, 2019).

A IL-6, além de regular a inflamação aguda e crônica, estimula as células T e B, neutrófilos, macrófagos e linfócitos. A ativação do receptor de IL-6 desencadeia uma via de sinalização que ativa o fator de transcrição STAT3, resultando na diferenciação de células T produtoras de IL-17, que são responsáveis por promover estímulos de diversos produtos nocivos, radicais reativos ao oxigênio e enzimas lisossômicas que causam danos aos tecidos da úlcera gástrica (Aziz *et al.*, 2019).

As células TH22 desempenham um papel fundamental e complexo na geração de proteção imunológica ou respostas patológicas, secretando IL-22. O fator determinante para a sinalização é a presença ou ausência de IL-17A, sendo que a IL-22 pode ter uma função protetora na ausência de IL-17A, enquanto a sinergia dessas duas citocinas pode levar ao aumento da inflamação (Potdar, 2021).

A resposta anti-inflamatória desempenha um papel essencial na modulação do processo inflamatório, bem como em sua duração. A ativação das células T regulatórias (Treg) e a secreção de citocinas como TGF- β e IL-10 são fundamentais nesse processo. A IL-10 é secretada por monócitos, macrófagos, células do perfil Th1, Th2, Treg e linfócitos B, e sua produção aumenta após o início da inflamação, reduzindo a inflamação gástrica por meio da inibição do feedback do TNF- α em monócitos e macrófagos, resultando na diminuição das inflamações no tecido gástrico (Leonard *et al.*, 2019).

2.8 Terapêutica

A terapia para úlcera péptica envolve o uso de medidas farmacológicas e não farmacológicas. O tratamento farmacológico tem como objetivo restaurar o equilíbrio

entre os fatores citoprotetores e os fatores agressores, reduzindo ou neutralizando a secreção ácida e/ou estimulando o sistema de proteção gástrica. Durante muito tempo, o foco do tratamento estava na redução da secreção ácida gástrica, utilizando antiácidos, anticolinérgicos, antagonistas dos receptores H_2 de histamina e inibidores da bomba de prótons (IBPs) (Boeing *et al.*, 2016).

Os antiácidos têm um efeito local e imediato, proporcionando alívio imediato dos sintomas, mas não agem diretamente na causa da doença, como a secreção ácida gástrica. Além disso, esses medicamentos têm efeitos terapêuticos de curta duração e podem causar efeitos colaterais, como alterações na absorção, metabolismo e excreção de outros medicamentos, constipação ou diarreia, hipercalcemia, insuficiência renal, alcalose metabólica e hipermagnesemia (Singh; Bhimji, 2018; Paliwal *et al.*, 2018).

Uma segunda classe de medicamentos, os antagonistas dos receptores M_3 , foi proposta com base na importância da secreção de acetilcolina pela inervação vagal. Esses medicamentos foram utilizados na tentativa de diminuir a secreção ácida gástrica, bloqueando uma de suas vias, a via neuronal. No entanto, eles foram substituídos devido à baixa eficácia e aos vários efeitos colaterais, como taquicardia, cefaleia, visão turva, constipação severa e confusão mental. Portanto, o uso desses antagonistas tornou-se obsoleto (Boeing *et al.*, 2016). Isso levou ao desenvolvimento de outra classe de medicamentos, os antagonistas dos receptores H_2 , como cimetidina, ranitidina, famotidina, nizatidina e roxatidina. Esses medicamentos se ligam ao receptor H_2 e bloqueiam a ligação da histamina, impedindo o estímulo da secreção ácida gástrica, o que leva à redução do volume de suco gástrico e, conseqüentemente, à diminuição da concentração de íons H^+ (Hsu *et al.*, 2016; Rang; Dale, 2016).

Na tentativa de aumentar a eficácia do tratamento, foram desenvolvidos medicamentos direcionados à $H^+/K^+-ATPase$, uma enzima envolvida na secreção ácida. Esses medicamentos, conhecidos como inibidores da bomba de prótons (IBPs), inibem a secreção ácida no final da cascata de produção de ácido. Eles são baseados em uma estrutura com anel benzimidazol substituído e um anel de piridina ligados por uma cadeia de metilsulfonilo. Os IBPs bloqueiam covalentemente a $H^+/K^+-ATPase$, inibindo a produção de ácido no estômago. Exemplos de IBPs incluem omeprazol, esomeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol e dexlansoprazol (Spechler, 2018). Embora sejam amplamente utilizados atualmente, os IBPs podem causar efeitos

colaterais que dificultam a adesão ao tratamento, como cefaleia, diarreia, erupções cutâneas, demência, osteoporose, infecções intestinais e pólipos gástricos (Spechler, 2018; Naito *et al.*, 2018).

Recentemente, um novo medicamento chamado Vonoprazana foi desenvolvido para tratar doenças relacionadas à acidez gástrica. Ele possui um início de ação mais rápido e um controle mais prolongado da acidez intragástrica em comparação com os IBPs convencionais (Yang *et al.*, 2018). O Vonoprazana é um bloqueador ácido competitivo de potássio (PCAB) e inibe a H^+ , K^+ -ATPase de forma reversível e competitiva ao potássio. Não necessita de ativação por ácido. Vonoprazana é uma base forte com uma alta afinidade para a bomba de ácido das células gástricas, inibindo assim a produção de ácido gástrico. (Kuna *et al.*, 2019).

Além da terapia farmacológica, alguns agentes farmacológicos estimulam os fatores de proteção da mucosa gástrica, como compostos de bismuto, incluindo o sucralfato. Após a liberação do metal, esses compostos formam géis que se complexam com o muco, diminuindo sua degradação e limitando a retrodifusão de íons H^+ . Além disso, eles inibem a ação da pepsina e estimulam a secreção de muco, HCO_3^- e prostaglandinas (Jain *et al.*, 2007; Brunton *et al.*, 2018).

Quando a úlcera está associada à infecção por *H. pylori*, é necessário utilizar uma combinação de medicamentos de diferentes classes para combater a infecção e tratar as complicações causadas pela presença da bactéria (Lanas; Chan, 2017; Kim *et al.*, 2019).

O tratamento atual para erradicação do *H. pylori* consiste em uma terapia tripla, que combina dois antimicrobianos e um inibidor da bomba de prótons (IBPs), além de poder incluir medicamentos citoprotetores para auxiliar no tratamento. Em casos de resistência ou alergias aos antimicrobianos β -lactâmicos, pode ser utilizada uma terapia tripla com metronidazol por duas semanas (Malfertheiner *et al.*, 2009; Lanas; Chan, 2017; Kim *et al.*, 2019).

A terapia clássica para o tratamento de *H. pylori* envolve o uso de IBP em combinação com amoxicilina e claritromicina ou metronidazol, administrados por 7 a 14 dias (Wang *et al.*, 2017). No entanto, *H. pylori* tem desenvolvido resistência à claritromicina, o que levou à proposta de uma terapia tripla com lansoprazol (IBP), amoxicilina (antimicrobiano β -lactâmico) e levofloxacino (antimicrobiano da classe das quinolonas), que mostrou ter uma eficácia menor em comparação ao regime terapêutico clássico (Da Silva *et al.*, 2016).

Para úlceras relacionadas à infecção por *H. pylori* também pode ser utilizada uma terapia quádrupla, que combina IBP, bismuto, metronidazol e tetraciclina, ou IBP, claritromicina, amoxicilina e metronidazol. Ambos os regimes têm uma taxa de erradicação superior a 90% (Lanas; Chan, 2017), e a duração do tratamento varia de 10 a 14 dias, o que pode levar ao desenvolvimento de resistência devido ao uso prolongado (Lee; Kim, 2011; Lanas; Chan, 2017). Além disso, essas terapias podem causar efeitos colaterais, como náuseas, dor abdominal, vômitos, diarreia, fadiga, dor de cabeça, tonturas e sensação amarga na boca (Kim *et al.*, 2017).

A melhora na qualidade de vida dos pacientes com úlceras pépticas está diretamente relacionada ao desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas. No entanto, existem limitações, como alta taxa de recorrência da doença, diversidade de efeitos colaterais, interações medicamentosas, altos custos de internação e acesso limitado a medicamentos. Isso ressalta a necessidade de novas alternativas terapêuticas, como produtos naturais, que apresentam uma ampla diversidade de composição química e atividade biológica (Li *et al.*, 2015; Boeing *et al.*, 2016).

Em relação ao tratamento das doenças inflamatórias intestinais (DIIs), ele se concentra em terapias farmacológicas (aminossalicilatos, imunossupressores e imunobiológicos), intervenções cirúrgicas e mudanças no estilo de vida (Dassopoulos *et al.*, 2015). Os aminossalicilatos são a terapia de primeira linha para pessoas com retocolite ulcerativa leve a moderada e incluem medicamentos que contêm ácido 5-aminossalicílico (5-ASA) como metabólito ativo, como sulfasalazina, mesalazina, olsalazina e basalazina (Annaházi; Molnár, 2015; Ungaro *et al.*, 2017).

Os corticosteroides são eficazes na indução da remissão da doença de Crohn e da retocolite ulcerativa e os mais utilizados na prática clínica são a prednisolona, budesonida e beclometasona (Waljee *et al.*, 2016). Esses medicamentos atuam inibindo o recrutamento de células imunes, a produção de citocinas pró-inflamatórias e a ativação e proliferação de células T. No entanto, seu uso prolongado pode causar efeitos adversos, como infecções, síndrome metabólica e doenças cardiovasculares (Sales-Campos *et al.*, 2015), entre outros. Além disso, eles não promovem uma cicatrização efetiva da mucosa, o que é crucial para a restauração das funções fisiológicas do intestino e pode levar a recidivas.

Para a terapia de manutenção em longo prazo, são utilizados imunossupressores pró-fármacos, como a mercaptopurina e a azatioprina, que inibem

a proliferação das células envolvidas na resposta imune e reduzem a síntese de prostaglandinas (Raines *et al.*, 2022).

A identificação de citocinas específicas responsáveis pela patogênese das DIIs permitiu o desenvolvimento de agentes terapêuticos que visam citocinas pró-inflamatórias, proteínas quinases envolvidas na sinalização e transdução de sinais em células T e moléculas de adesão responsáveis pela migração endotelial, conhecidos como imunobiológicos (Coskun *et al.*, 2016). Atualmente, são utilizados seis agentes imunobiológicos para o tratamento das DIIs, sendo quatro anti-TNF (infliximabe, adalimumabe, golimumabe e certolizumabe pegol) e dois agentes anti-integrinas (natalizumabe e vedolizumabe) (Danese *et al.*, 2015; Coskun *et al.*, 2016; Ungaro *et al.*, 2017).

As terapias biológicas, como infliximabe e adalimumabe, se tornaram os principais medicamentos para o tratamento das DIIs. Estudos sugerem que a combinação de infliximabe com um imunomodulador, como azatioprina, pode otimizar a farmacocinética, minimizar a imunogenicidade e melhorar os resultados das substâncias administrada de forma isolada (Sultan *et al.*, 2017). Entretanto, evidências do uso dos agentes imunobiológicos no tratamento das DIIs não dão uma indicação da eficácia esperada para além de um ano (Danese *et al.*, 2015; Moss, 2015).

Ainda não existe um tratamento curativo para as DIIs, mas as terapias disponíveis são capazes de suprimir a ativação imune anormal, induzir a remissão da doença e prevenir recaídas em alguns casos, permitindo que os pacientes levem uma vida normal. No entanto, todos os medicamentos utilizados nesses tratamentos têm potenciais efeitos colaterais, e muitos deles são de alto custo (Sultan *et al.*, 2017).

2.9 Produtos Naturais

Os produtos naturais consistem em compostos químicos derivados de fontes animais, minerais, vegetais e microrganismos, como fungos e bactérias (Dutra *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2018). Esses produtos apresentam uma diversidade de moléculas biologicamente ativas, que possuem o potencial de se tornarem novas alternativas terapêuticas para os tratamentos convencionais existentes, podendo superar suas limitações tanto individualmente, como por meio de sinergismo (Ahn, 2017).

Os produtos naturais são uma fonte importante para a prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao TGI (Karampour *et al.*, 2019). Investigações

arqueológicas apontaram para a utilização de plantas como recursos terapêuticos por parte da humanidade há aproximadamente 50.000 anos, durante o período Paleolítico, estes achados sugeriram uma compreensão sobre o uso medicinal das plantas naquela época (Deshpande, 2019).

As plantas medicinais por sua vez têm sido uma das principais fontes de matérias primas, para o desenvolvimento de moléculas bioativas como alvos para estudos farmacológicos, toxicológicos e fitoquímicos destinados à síntese de fármacos para o tratamento de diversas doenças. Aproximadamente, 70% comunidades rurais em países em crescimento econômico recorrem às plantas medicinais ancestrais para atender suas principais demandas de saúde (Wali *et al.*, 2022).

No Brasil, muitas classes de princípios ativos vêm sendo isoladas de plantas medicinais, uma vez que o país tem a maior biodiversidade mundial, concentrando cerca de 20-22% da flora do planeta, representando mais de 45 mil espécies de plantas (Dutra *et al.*, 2016; Rocha *et al.*, 2021).

Atualmente, estima-se que cerca de 80% da população de países em desenvolvimento ainda conta com a medicina tradicional para seus cuidados de saúde primários (Mekonnen *et al.*, 2017; Rodrigues, Gomide, 2019).

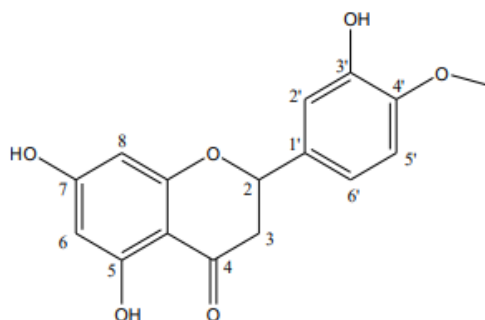
A maioria das pessoas que vivem em países em desenvolvimento confiam na medicina tradicional para tratar diferentes doenças, incluindo as afecções do TGI, como úlcera péptica e colite ulcerativa (Verri; Moura; Moura, 2017). No entanto, novas pesquisas e tecnologias são necessárias para otimizar o uso dessas fontes naturais no tratamento, visando isolar os componentes responsáveis pelos efeitos biológicos, a fim de minimizar possíveis efeitos colaterais decorrentes da complexidade dos compostos (Dutra *et al.*, 2016).

As múltiplas atividades biológicas apresentadas pelas espécies vegetais são atribuídas à presença de seus metabólitos secundários (Barbosa *et al.*, 2017), que são agrupados de acordo com sua via de síntese em classes, como flavonoides e terpenos (Guo, 2017; Shao; Bao, 2019).

2.9.1 HESPERETINA

A hesperetina (3',5,7-Trihidroxi-4'-metoxiflavanona) é um flavonoide da classe das flavanonas presente em frutas cítricas como a laranja e a *grapefruit*, cuja estrutura encontra-se representada na figura 12 (Lahmer et al., 2015).

Figura 12 - Representação Química da hesperetina



Fonte: Lahmer et al., 2015

Diversos estudos envolvendo a Hesperetina, já foram descritos na literatura, a exemplo de atividades antioxidante (Kim et al., 2004), anti-inflamatória (Chen; Shen, 2003), anticâncer (Aranganathan; Nalini, 2009), antidiabética (Gong et al., 2017; Revathy et al., 2018), vasorelaxante (Yamamoto et al., 2013; Chanet et al., 2013), cardioprotetora (Gimenez-Bastida et al., 2016) e hiperlipidêmica (Garg et al., 2001).

Estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa evidenciou que a hesperetina apresenta atividade gastroprotetora e que a atividade dessa substância envolve mecanismos citoprotetores, antioxidantes e imunorregulatórios por diminuir os níveis de interleucina-1 beta (IL-1 β) e do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e aumentar os níveis de interleucina-10 (IL-10) (Da Silva, 2018).

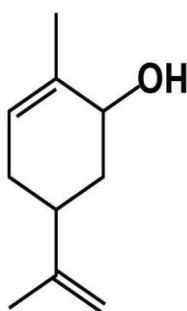
Dentro deste cenário, o presente estudo busca expandir as investigações já iniciadas sobre a substância em questão, buscando avaliar a hesperetina em relação à sua atividade de cicatrização gástrica e duodenal, bem como explorar os mecanismos subjacentes envolvidos nesses processos.

2.9.2 CARVEOL

O carveol é um álcool monoterpênico monocíclico insaturado natural, com fórmula molecular C₁₀H₁₆O e sinonímia *p*-Mentha-6,8-dien-2-ol, cuja estrutura encontra-se expressa na figura 13. Esse constituinte é encontrado em óleos

essenciais de muitas plantas, como *Mentha spicata* (hortelã verde), *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) e *Carum carvi* (cominho) e é utilizado como agente aromatizante na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia, apresentando odor e sabor que se assemelham aos da hortelã (Barbosa, 2007).

Figura 13 - Representação Química do carveol



Fonte: Silva (2020).

Estudos conduzidos com animais de laboratórios utilizando o extrato de *Carum carvi*, que possui o carveol como um dos principais constituintes químicos, tem evidenciado atividade gastroprotetora nas doses de 100 e 300 mg/kg, com 81 e 88% de inibição das lesões ulcerativas respectivamente (Baananou, 2013). Além disso, evidenciou-se que o extrato de *Rosmarinus officinalis*, que também apresenta o carveol em sua constituição, reduziu as lesões ulcerativas de ratos em modelos agudos de úlceras induzidas por etanol e indometacina (Dias *et al.*, 2000).

O fitoconstituente carveol apresentou algumas atividades farmacológicas *in vivo* e *in vitro*, como repelente (Omolo *et al.* 2004), nematocida (Echeverrigaray *et al.* 2010), antitumoral (Crowell *et al.* 1992) anticolinérgica (Lozon *et al.* 2016), relaxante de músculos lisos (Cardoso-Teixeira, 2018), antioxidante e anti-inflamatório (Marques, 2018).

Estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa, avaliou a atividade gastroprotetora do carveol e esta atividade, estar relacionada a mecanismos antissecretores, citoprotetores, antioxidantes e imunomoduladores (De Lima Serafim, *et al.*, 2021). Entretanto, não existem estudos na literatura sobre sua atividade nos modelos de doenças inflamatórias intestinais (colite ulcerativa), o que motivou a continuidade nos estudos dessa substância para conduzir o presente trabalho, almejando o desenvolvimento de alternativas terapêuticas para o tratamento da colite ulcerativa.

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antiulcerogênica gástrica e duodenal da hesperetina e do carveol e os mecanismos de ação relacionados, bem como, a atividade anti-inflamatória intestinal aguda do carveol em modelos animais.

3.2 Objetivos específicos

- Realizar estudo da toxicidade por doses repetidas durante 14 dias com a hesperetina e o carveol no modelo de úlcera gástrica induzida por ácido acético;
- Investigar o efeito cicatrizante do tratamento crônico com a hesperetina e o carveol em estômagos de ratos submetidos ao modelo de úlcera gástrica induzida por ácido acético;
 - Verificar o efeito imunoregulatório (IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-10) envolvido na atividade antiulcerogênica gástrica;
 - Avaliar o mecanismo antioxidante (GSH, MPO, MDA e SOD) envolvido na atividade antiulcerogênica gástrica;
- Avaliar o efeito antiulcerogênico da hesperetina e do carveol em modelo de indução de úlcera duodenal em ratos;
 - Verificar o efeito imunoregulatório (IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-10) envolvido na atividade antiulcerogênica duodenal;
 - Avaliar o mecanismo antioxidante (GSH, MPO, MDA e SOD) envolvido na atividade antiulcerogênica duodenal;
- Investigar o efeito do carveol nas doenças inflamatórias intestinais em modelo de colite ulcerativa aguda em ratos;
 - Verificar o efeito imunoregulatório (IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-10) envolvido na atividade anti-inflamatória intestinal;
 - Avaliar o mecanismo antioxidante (GSH, MPO, MDA e SOD) envolvido na atividade anti-inflamatória intestinal;

Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 LOCAL DE PESQUISA

Os protocolos experimentais foram realizados no Laboratório de Farmacologia do Trato Gastrointestinal (LFTGI) do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba (IPeFarM/UFPB) sob a orientação da Profa. Dra. Leônia Maria Batista, vinculada ao Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba (IPeFarM/UFPB) e ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PgPNSB/UFPB). Também foram realizados experimentos em colaboração com a Prof^a. Dra. Aurigena Antunes de Araújo do Laboratório de Farmacologia do Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (CCS/UFRN).

4.1.2 SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

A hesperetina e o carveol utilizados nesse estudo foram adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co, U.S.A. com as seguintes especificações, respectivamente: pureza $\geq 98\%$, apresenta fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_6$, com massa molar 302 g/mol, pó opaco amorfo e ponto de fusão 201-300°C; pureza $\geq 97\%$, apresenta fórmula molecular $C_{10}H_{16}O$, com massa molar de 152.23 g/mol, se configurando em um líquido incolor claro, mantido sob refrigeração a temperatura de 2-8 °C com ponto de ebulição 226-227°C e número de CAS 99-48-9.

4.1.3 ANIMAIS

Para a realização dos modelos experimentais foram utilizados ratos Wistar (*Ratus norvegicus*), pesando de 200 a 250 g, fornecidos pelo Biotério do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami do Centro de Biociências da UFPE e mantidos na Unidade de Produção Animal (UPA/IPeFARM/UFPB). Estes animais foram mantidos em temperatura controlada (22 ± 1 °C) com um ciclo claro/escuro de 12 h, com livre

acesso à água e ração e submetidos a jejum variando de 3 a 24 h conforme os protocolos realizados.

Todos os protocolos experimentais seguiram os princípios Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foram submetidos a avaliação e aprovação pela Comissão de Ética em Uso Animal da Universidade Federal da Paraíba.

A eutanásia dos animais foi realizada de acordo com a Resolução nº 38/2016, do CONCEA que dispõe sobre procedimentos de métodos humanitários para a eutanásia de animais utilizados em atividades de pesquisa científica, precedida por anestesia geral prévia com cetamina 70 mg/kg e xilazina 10 mg/kg via intraperitoneal e após a observação da ausência do reflexo corneal, foi feito o deslocamento cervical, assim como preconizado, pelo CONCEA.

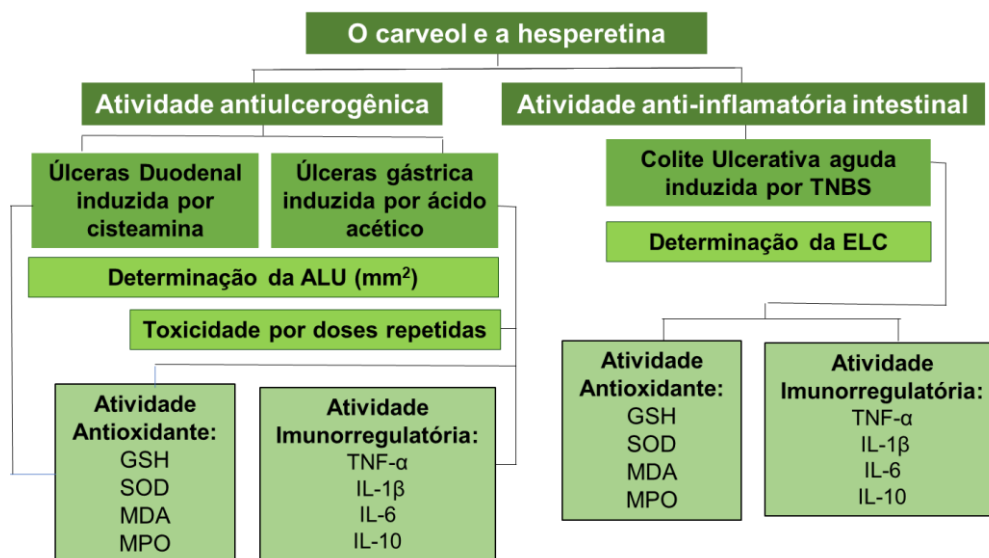
4.1.4 SUBSTÂNCIAS UTILIZADAS

Para a realização dos protocolos experimentais, foram utilizadas as seguintes substâncias: cimetidina (SIGMA-ALDRICH), lansoprazol (SIGMA-ALDRICH), ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS) (SIGMA-ALDRICH), ácido acético P.A, indometacina (SIGMA-ALDRICH), cetamina 5% (VETANARCOL), xilazina 2% (DORCIPEC), etanol (MERCK®, Germany), tween 80 (MERCK®, Germany), cloreto de sódio (SIGMA-ALDRICH), hidróxido de sódio (SIGMA-ALDRICH), ácido 5-5'- ditiobis-2-nitrobenzóico (SIGMA-ALDRICH), ácido 1,3-dietil-2-tiobarbitúrico (SIGMA-ALDRICH), ácido tricloroacético (SIGMA-ALDRICH), brometo hexadeciltrimetilamônio (SIGMA-ALDRICH), cloreto de nitrotetrazólio (SIGMA-ALDRICH), cloreto de o-dianisidina (SIGMA-ALDRICH), cloreto de potássio (SIGMA-ALDRICH), dodecil sulfato de sódio (SIGMA-ALDRICH), glutatona oxidada (SIGMA-ALDRICH), glutatona redutase (SIGMA-ALDRICH), glutatona reduzida (SIGMA-ALDRICH), hipoxantina (SIGMA-ALDRICH), fosfato de β -nicotinamida adenina dinucleotídeo (SIGMA-ALDRICH), solução de peróxido de hidrogênio e xantina oxidase (SIGMA-ALDRICH). A hesperetina e o carveol foram solubilizados em solução salina 0,9% e tween 80 5%, respectivamente. As substâncias utilizadas como controle positivo, foram solubilizadas em solução salina 0,9%.

4.2 Métodos

Todas as metodologias utilizadas no presente trabalho estão representadas no fluxograma abaixo (Figura 14).

Figura 14 - Fluxograma experimental do estudo com a hesperetina e o carveol.
Arquivo LFTGI



Fonte: Do autor (2023).

4.3 Avaliação da atividade cicatrizante em modelo crônico de úlcera gástrica

4.3.1 ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA COM ÁCIDO ACÉTICO (Okabe e Amagase, 2005)

Após jejum de 24h, ratos Wistar (n= 8) foram anestesiados e submetidos à laparotomia. A lesão foi induzida na parte glandular do estômago por contato com 0,1 mL de ácido acético 100% durante 60 segundos e em seguida suturados. Dois dias após a cirurgia, os animais foram tratados (v.o) uma vez ao dia durante 14 dias consecutivos, conforme o grupo: veículo (solução salina 0,9% 10 ml/kg), veículo (tween 80 5% 10 ml/kg), lasoprazol 30 mg/kg e a hesperetina em sua dose mais efetiva, selecionada a partir dos estudos anteriores (100 mg/kg) (Da Silva, 2018) e o carveol em sua dose mais efetiva, selecionada a partir dos estudos anteriores (100 mg/kg) (Serafim, 2021). Foi incluído um grupo Sham, em que os animais não apresentaram lesões. No dia posterior ao final dos tratamentos, os animais foram

eutanasiados, os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura. As lesões foram mensuradas considerando comprimento (c) e largura (l) cujo produto foi expresso em mm², denominado área da lesão ulcerativa (ALU). Também foi determinada a percentagem de cicatrização. As fórmulas utilizadas para obtenção da ALU e (%) de cicatrização estão descritas a seguir:

$$\text{ALU (mm}^2\text{)} = (\text{comprimento}) \times (\text{largura})$$

$$(\%) \text{ de cicatrização} = \frac{(\text{ALU}) \text{ do controle negativo} - (\text{ALU}) \text{ grupo tratado}}{(\text{ALU}) \text{ controle negativo}} \times 100$$

4.3.2 ÚLCERA DUODENAL INDUZIDA COM CISTEAMINA HIDROCLORÍDRICA (Szabo, 1978)

Ratos Wistar (n= 8) foram utilizados sem a necessidade de jejum. A úlcera duodenal foi induzida por duas administrações orais de uma solução aquosa de cisteamina hidrocloreídrica (300 mg/kg) em intervalos de 4h. Os animais foram tratados (v.o.) com lansoprazol 30 mg/kg (controle positivo), veículo (solução salina 0,9% 10 ml/kg), veículo (tween 80 5% 10 ml/kg), a hesperitina (nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg) e/ou carveol (nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg) 1h antes da primeira administração do agente lesivo. Após 24h da primeira dose de cisteamina, os animais foram eutanasiados. O duodeno foi retirado e aberto na região antimesentérica, prensado entre placas de vidro para capturar as imagens por meio de câmera digital e posteriormente analisadas no programa AVSoft Bioview® versão 4.0.1, para a quantificação da área de lesão em mm².

4.3.2.1 Mecanismos de ação envolvidos na atividade antioxidante

Para determinação dos mecanismos antioxidantes, foram utilizados ratos submetidos ao modelo de úlcera duodenal, úlcera gástrica induzida por ácido acético e colite ulcerativa.

4.3.2.1.1 Determinação de malondialdeído (MDA)

O conteúdo de MDA foi medido por meio do ensaio descrito por Esterbauer e Cheeseman (1990). As amostras foram homogeneizadas em tampão Trisma (20 mM

Tris-HCl, 1:5 m/v) e a suspensão resultante foi homogeneizada durante 2 minutos e centrifugada a 10.000 rpm a 4°C durante 10 min. Ao sobrenadante foi adicionado 750 µL de 1-metil-2-fenilindol 10,3 mM em acetonitrila mais 225 µL de HCl 37%, e a mistura foi colocada em banho-maria e aquecida até 45° C por 40 min. Após isso, a mistura foi centrifugada a 10.000 rpm a 4°C durante 5 min. Os sobrenadantes foram utilizados para determinar o teor de MDA e colocadas em microplacas. A absorbância de cada amostra foi medida a 586 nm. Os resultados foram expressos como nanomol de MDA por grama de tecido.

4.3.2.1.2 *Dosagem de grupamentos sulfidril não proteicos (GSH) (Faure; Lafond, 1995)*

As amostras foram centrifugadas e o sobrenadante diluído (1:10) em tampão PBS. A seguir, foi feita a leitura da absorbância de 100 µL da amostra, acrescidos de 100 µL de solução de Tris (1,0 mM) e EDTA (0,02 mM), a 412 nm (A1). Após esta leitura adicionar-se-á 20 µL de ácido 5,5 ditiobis (2-nitrobenzóico), diluído em 16 metanol (DTNB - 0,01 mM) e então, foi feita uma nova leitura (A2), a 412 nm, decorridos 15 minutos de reação, para determinação de grupamentos sulfidril não protéicos (GSH). A concentração de grupamentos sulfidril (tiol) foi dada por $(A1 - A2) \times 1,57$.

4.3.2.1.3 *Atividade da enzima mieloperoxidase (MPO) (Krawisz et al., 1984)*

É uma enzima encontrada em grânulos azurofílicos de neutrófilos, servindo como marcador bioquímico de infiltração de granulócitos. Amostras do cólon foram solubilizadas foram homogeneizados em tampão de brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB) (0,5% em tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 6,0), 1:20 m/v), que atuou como um detergente, lisando os grânulos de neutrófilos contendo a mieloperoxidase. O material foi centrifugado a 4500 rpm por 12 minutos a 4 °C, e as amostras foram submetidas a um processo triplo de congelamento e descongelamento para facilitar a liberação da enzima. Em seguida, 50 µL de sobrenadante foram coletados, aos quais foram adicionados 150 µL de tampão de reação (o-dianisidina hidrocloreídrica, tampão fosfato 50 mM e 33% de H₂O₂). A leitura

foi então realizada a 450 nm. Os resultados foram expressos como média de densidade óptica (mDO) por miligrama de tecido.

4.3.3 MODELO AGUDO DE COLITE INDUZIDA COM TRINITROBENZENOSULFÔNICO (TNBS) (Morris *et al.*, 1989)

Ratos Wistar machos (n= 8), pesando entre 180-250 g, após jejum de 24 h, foram anestesiados para administração via retal de TNBS (ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfônico) – 10 mg solubilizados em 0,25 mL de etanol 50% v/v. O procedimento de indução de inflamação foi realizado com o auxílio de sonda (2 mm de diâmetro) a qual foi inserida cerca de 8 cm através reto do animal. Após a administração do TNBS, os animais foram mantidos 15 minutos de cabeça para baixo para permitir total absorção do agente indutor administrado. Os animais do grupo não-colíticos foram submetidos aos mesmos procedimentos, entretanto, não receberam o TNBS via retal. Cada grupo foi pré-tratado com veículo (tween 80 a 5%), prednisolona 2 mg/kg (controle positivo) e o carveol (25, 50, 100 e 200 mg/kg), 48, 24 e 1 h antes da administração do TNBS/etanol 50%, assim como 24 horas após a indução da colite. Decorridas 48 horas da indução do processo inflamatório, os animais foram eutanasiados e o segmento cólico retirado, aberto, lavado e fotografado para quantificação da área de lesão, escore macroscópico e avaliação do processo inflamatório intestinal. Parâmetros gerais como diarreia e relação peso/comprimento do cólon foram avaliados.

4.3.4 AVALIAÇÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO INTESTINAL

Foram avaliados diferentes parâmetros de caráter geral, tais como: consumo de alimento, peso corporal e aparecimento de fezes diarreicas. Dos protocolos de modelo agudo de colite.

O cólon retirado dos animais passou por uma análise macroscópica inicial, na qual foi avaliado o peso, comprimento, existência de aderência entre intestino e órgãos adjacentes, análise da severidade e extensão do prejuízo intestinal de acordo com uma escala descrita previamente por Bell *et al.* (1995) (Tabela 1). Posteriormente, o cólon foi seccionado para a análise de mecanismos imunorregulatórios.

Tabela 1 - Critério de determinação de escore de lesão colônica

Escore	Critério
0	Sem prejuízo
1	Hiperemia, sem úlceras
2	Úlcera linear sem inflamação significativa
3	Úlcera linear com inflamação em um sítio
4	Dois ou mais sítios de ulceração/inflamação
5	Dois ou mais sítios de ulceração e inflamação ou um sítio de inflamação maior que 1 cm ao longo da extensão do cólon
6-10	Se o prejuízo cobrir mais que 2 cm ao longo da extensão do cólon (o escore é aumentado em 1 ponto para cada centímetro adicional)

4.3.5 MECANISMOS IMUNORREGULATÓRIOS

4.3.5.1 Determinação das interleucinas (Kendall *et al.*, 1983)

Os níveis de interleucinas (TNF- α , IL-1 β , IL -6 e IL-10) foram determinados por meio do ensaio imunoenzimático de ELISA (tipo sanduíche). Os anticorpos de captura de cada interleucina foram sensibilizados em microplaca de 96 poços (fundo chato). Após 18 h, a placa foi lavada com solução de tween 20 0,05% (tampão de lavagem), 3 vezes, bloqueada com uma solução de albumina sérica bovina 1% e lavada novamente por mais 3 vezes com o tampão de lavagem. Logo após, um macerado do tecido foi preparado em tampão fosfato salino (PBS) na proporção 100 mg de tecido para 600 μ L de PBS, homogeneizado e centrifugado a 4.000 rpm por 10 minutos a 4° C. Os sobrenadantes (100 μ L) foram pipetados em placa de 96 poços, realizada a curva padrão, incubada por 2 h e lavada com tampão de lavagem por 3 vezes. O anticorpo secundário biotilado (100 μ L) foi adicionado em cada poço, seguido de incubação por 2 horas e 3 lavagens. A placa foi incubada com estreptavidina durante 20 minutos, lavada 3 vezes, adicionado o substrato para revelação (Kit DuoSet® – R & D Systems Catalog – DY999) e incubada por 20 minutos. Decorrido esse tempo, a reação foi interrompida adicionando 50 μ L da solução de parada e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 450 nm. Os resultados foram obtidos pela interpolação com a curva padrão e expressos em pg de interleucina/mL.

4.4 Análise Estatística

Os resultados com valores paramétricos (modelos de úlcera gástrica, duodenal, área de lesão inflamatória intestinal e relação peso/comprimento) foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA), seguida por teste de Dunnett ou Tukey e expressos como média $\pm$ desvio padrão (d.p.) da média. Nos ensaios *in vitro* os valores obtidos foram apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (e.p.m). Para valores não paramétricos (escore da inflamação intestinal) foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis (ANOVA, pós-teste de Dunn). Os resultados foram expressos em mediana (mínimo-máximo). Os dados foram analisados com a utilização do software GraphPad Prisma 6.0, San Diego, CA, EUA e o nível de significância mínimo foi de $p < 0,05$.

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Avaliação da toxicidade por doses repetidas durante 14 dias com a hesperetina ou o carveol no modelo de úlcera gástrica induzida por ácido acético

5.1.1 AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE ÁGUA E RAÇÃO

Na avaliação do consumo médio de água (mL) durante 14 dias, os animais dos grupos controles negativos, que foram tratados apenas com os veículos Tween 80 5% e solução salina 0,9%, apresentaram uma diminuição ($p < 0,01$) desse consumo para $201,4 \pm 11,8$ e $199 \pm 9,11$, respectivamente, quando comparados ao grupo Sham ($231,3 \pm 9,5$). O tratamento durante 14 dias com o carveol (100 mg/kg) aumentou ($p < 0,01$) o consumo de água para $232,53 \pm 9,16$, quando comparado ao grupo Tween 80 5%. Esse mesmo comportamento foi verificado para a hesperetina (100 mg/kg) que apresentou um aumento ($p < 0,01$) desse parâmetro para $232,8 \pm 7,2$, quando comparado ao grupo solução salina 0,9%. A substância padrão utilizada nesse estudo, o lansoprazol (30 mg/kg), também aumentou o consumo de água para $207,5 \pm 12,03$, quando comparado a ambos os grupos controles negativos. Além disso, os resultados mostraram uma diminuição ($p < 0,001$) no consumo de ração (g) para $146,8 \pm 5,15$ e $140,5 \pm 9,7$ nos grupos controles negativos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%), quando comparados ao grupo Sham ($169,4 \pm 10,43$). Os tratamentos com carveol (100 mg/kg), hesperetina (100 mg/kg) e lansoprazol (30 mg/kg) levaram a um aumento ($p < 0,001$) para $195 \pm 7,05$; $197 \pm 11,35$ e $194,1 \pm 8,35$, respectivamente, quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Os dados encontram-se expostos na Tabela 2.

Tabela 2 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre o consumo de água e ração dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

Grupo	Dose	Consumo de água (mL)	Consumo de ração (g)
Sham	—	231,3 ± 9,5	169,4 ± 10,43
Tween 80 5%	10 mL/kg	201,4 ± 11,8 ###	146,8 ± 5,15 ###
Solução Salina 0,9%	10 mL/kg	199 ± 9,11 ###	140,5 ± 9,7 ###
Lanzoprazol	30 mg/kg	207,5 ± 12,03***	194,1 ± 8,35***
carveol	100 mg/kg	232,53 ± 9,16***	195 ± 7,05***
hesperetina	100 mg/kg	232,8 ± 7,2***	197 ± 11,35***

Os valores expressos como média ± DP (n=6-8). Análise de Variância de uma via (ANOVA), seguido do pós-teste de Dunnett e Tukey. ***p<0,001 comparados ao grupo Tween 80 5% e ao grupo solução salina 0,9%; ###p< 0,001 e comparados ao grupo Sham.

5.1.2 AVALIAÇÃO PONDERAL

Na avaliação ponderal, os animais dos grupos Tween 80 5% e solução salina 0,9% apresentaram uma diminuição (p<0,001) do peso final (g) para 183,9 ± 3,8 e 183,6 ± 3,6, respectivamente, quando comparados ao grupo Sham (235,9 ± 8,2). Foi observado que o tratamento por 14 dias com o carveol (100 mg/kg), hesperetina (100 mg/kg) ou lansoprazol (30 mg/kg) levou a um aumento significativo (p<0,001) do peso corporal final dos animais para 229,6 ± 4,5; 212,0 ± 4,8 e 229,3 ± 2,4, respectivamente, quando comparados aos grupos controles negativos. Dados expressos na Tabela 3.

Tabela 3 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre a avaliação ponderal dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

Grupo	Dose	Peso inicial (g)	Peso final (g)
Sham	—	203,3 ± 6,7	235,9 ± 8,2
Tween 80 5%	10 mL/kg	207,7 ± 10,4	183,9 ± 3,8###
Solução Salina 0,9%	10 mL/kg	204,0 ± 9,6	183,6 ± 3,6###
Lanzoprazol	30 mg/kg	208,1 ± 8,4	229,3 ± 2,4***
Carveol	100 mg/kg	205,1 ± 5,8	229,6 ± 4,5***
hesperetina	100 mg/kg	204,6 ± 9,6	212,0 ± 4,8 ***

Os valores expressos como média ± DP (n=6-8). Análise de Variância de uma via (ANOVA), seguido do pós-teste de Dunnett e Tukey. ***p<0,001 comparados ao grupo Tween 80 5% e ao grupo solução salina 0,9%; ###p< 0,001 e comparados ao grupo Sham.

5.1.3 AVALIAÇÃO DO ÍNDICE DOS ÓRGÃOS

Na avaliação macroscópica dos órgãos (coração, fígado, baço e rins) não foram evidenciadas alterações entre o grupo saudável, grupos doentes e grupos tratados. Além disso, não foram observadas alterações significativas ($p>0,05$) no índice dos órgãos dos animais que receberam o carveol (100 mg/kg), hesperetina (100 mg/kg) e lansoprazol (30 mg/kg), quando comparados aos grupos controles negativos, conforme expresso na Tabela 4.

Tabela 4 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre o peso relativo dos órgãos dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

Órgãos	Grupos					
	Sham	Tween 80 5%	Solução salina 0,9%	Lanzoprazol (30 mg/kg)	carveol (100 mg/kg)	hesperetina (100 mg/kg)
Fígado	4,13 ± 0,34	4,05 ± 0,24	3,95 ± 0,04	4,07 ± 0,21	3,95 ± 0,17	4,11 ± 0,05
Coração	0,50 ± 0,04	0,40 ± 0,02	0,37 ± 0,16	0,51 ± 0,05	0,45 ± 0,23	0,42 ± 0,18
Rins	0,91 ± 0,05	0,87 ± 0,05	0,86 ± 0,11	0,90 ± 0,27	0,88 ± 0,06	0,88 ± 0,10
Baço	0,34 ± 0,10	0,29 ± 0,17	0,30 ± 0,12	0,32 ± 0,18	0,33 ± 0,07	0,29 ± 0,05

Os valores foram expressos como média ± desvio padrão (n=6-8). Análise de Variância de uma via (ANOVA), seguido do pós-teste de Dunnet e Tukey.

5.1.4 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS

Na determinação do tratamento com o carveol e a hesperetina por doses repetidas (14 dias) nos parâmetros bioquímicos do sangue de ratos (glicose, ureia, creatinina, fosfatase alcalina, AST e ALT) não houve alterações significativas ($p>0,05$), quando comparados aos seus respectivos grupos controle (Tween 80 5% e solução salina 0,9%). Dados expostos na Tabela 5.

Tabela 5 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre os parâmetros bioquímicos dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

Parâmetro bioquímico	Grupos					
	Sham	Tween 80 5%	Solução salina 0,9%	Lanzoprazol (30 mg/kg)	Carveol (100 mg/kg)	Hesperetina (100 mg/kg)
Glicose (mg/dL)	157,5 ± 18,40	164,1 ± 15,70	160,7 ± 20,13	164,57 ± 13,3	161 ± 15,4	158,87 ± 11,5
Colesterol (mg/dL)	66,25 ± 5,85	71,50 ± 8,01	70,6 ± 2,1	69,25 ± 7,73	73,0 ± 6,3	69,25 ± 8,15
Ureia (mg/dL)	50,74 ± 8,46	49,1 ± 4,7	53,22 ± 2,87	48,14 ± 4,7	52,7 ± 6,1	54,43 ± 9,18
Creatinina (mg/dL)	0,66 ± 0,17	0,64 ± 0,10	0,57 ± 0,12	0,59 ± 0,21	0,61 ± 0,07	0,54 ± 0,1
FAL (mg/dL)	288,7 ± 42,93	313,8 ± 57,25	317,5 ± 24,65	288,3 ± 60,5	303 ± 65,17	298,8 ± 24,5
AST (U/l)	137,5 ± 9,12	147,7 ± 12,41	127,4 ± 10,09	136,6 ± 12,71	138,8 ± 6,3	129,7 ± 10,01
ALT (U/l)	62,85 ± 5,18	54,75 ± 6,73	58,6 ± 7,44	49,97 ± 4,4	58,15 ± 4,13	56,22 ± 8,23

Os valores foram expressos como média ± desvio padrão (n=6-8). Análise de Variância de uma via (ANOVA), seguido do pós-teste de Dunnet e Tukey.

5.1.5 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

Na avaliação do efeito do tratamento com o carveol e a hesperetina por doses repetidas (14 dias) nos parâmetros hematológicos de ratos (hemácias, hematócrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, leucócitos, neutrófilos, linfócitos e monócitos) não houveram alterações significativas ($p > 0,05$), quando comparados aos grupos controles (Tween 80 5% e solução salina 0,9%). Os dados encontram-se expostos na Tabela 6.

Tabela 6 - Efeito da administração oral do carveol e da hesperetina durante 14 dias sobre os parâmetros hematológicos dos ratos no modelo de úlcera induzida por ácido acético

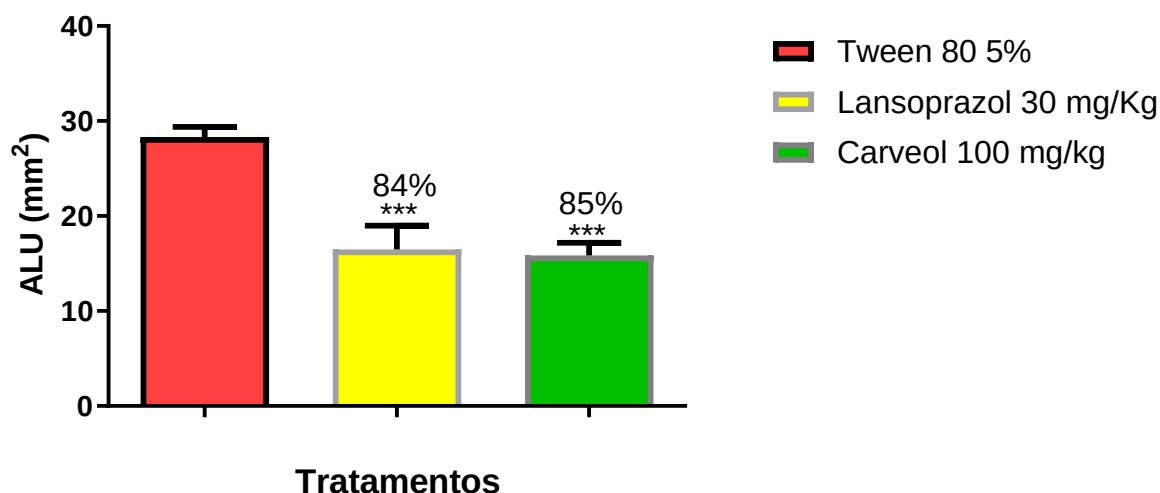
Parâmetro hematológico	Grupos					
	Sham	Tween 80 5%	Solução salina 0,9%	Lanzoprazol (30 mg/kg)	Carveol (100 mg/kg)	Hesperetina (100 mg/kg)
Hemácias ($10^3/\text{mm}^3$)	8,21 $\pm$ 0,39	7,7 $\pm$ 0,57	8,27 $\pm$ 0,44	7,85 $\pm$ 0,12	7,44 $\pm$ 0,41	8,12 $\pm$ 0,55
Hemoglobina (g/dL)	16,7 $\pm$ 1,2	20,1 $\pm$ 1,9	15,8 $\pm$ 1,0	17,74 $\pm$ 1,1	15,3 $\pm$ 0,94	18,5 $\pm$ 0,5
Hematócrito (%)	44,2 $\pm$ 2,95	39,6 $\pm$ 2,9	38,4 $\pm$ 1,9	38,94 $\pm$ 0,75	43,3 $\pm$ 1,0	42,25 $\pm$ 2,75
VCM (μ^3)	51,47 $\pm$ 2,14	55,5 $\pm$ 2,22	49,72 $\pm$ 1,04	53,47 $\pm$ 2,28	52,47 $\pm$ 3,84	52,1 $\pm$ 3,04
HCM (μg)	18,31 $\pm$ 0,65	18,2 $\pm$ 0,57	19,15 $\pm$ 0,72	17,71 $\pm$ 0,95	18,87 $\pm$ 0,98	20,1 $\pm$ 1,0
CHCM (%)	35,11 $\pm$ 1,01	32,8 $\pm$ 1,09	36,22 $\pm$ 1,28	34,15 $\pm$ 1,05	34,8 $\pm$ 2,01	33,5 $\pm$ 1,51
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	11,26 $\pm$ 2,96	11,6 $\pm$ 3,74	9,7 $\pm$ 2,21	10,15 $\pm$ 2,75	9,98 $\pm$ 2,46	11,45 $\pm$ 3,05
Neutrófilos (%)	25,57 $\pm$ 3,15	24,8 $\pm$ 7,85	26,87 $\pm$ 4,35	23,77 $\pm$ 3,86	24,39 $\pm$ 2,05	21,63 $\pm$ 2,77
Linfócitos (%)	68,71 $\pm$ 3,37	70,0 $\pm$ 6,37	71,18 $\pm$ 4,85	69,41 $\pm$ 3,67	69,53 $\pm$ 2,50	70,69 $\pm$ 3,67
Monócitos (%)	10,83 $\pm$ 2,64	11,00 $\pm$ 2,38	9,97 $\pm$ 4,35	12,14 $\pm$ 3,37	10,64 $\pm$ 4,38	9,84 $\pm$ 3,17

Os valores foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (n=6-8). Análise de Variância de uma via (ANOVA), seguido do pós-teste de Dunnet e Tukey.

5.2 Avaliação da atividade cicatrizante do carveol ou da hesperetina em modelo de indução aguda de úlcera gástrica por ácido acético

Os resultados para o modelo de indução de úlcera gástrica induzida por ácido acético em ratos mostraram que o carveol na sua melhor dose (100 mg/kg) e o lansoprazol (30 mg/kg) reduziram a ALU de forma significativa ($p < 0,001$) para $16,48 \pm 2,52$ e $15,86 \pm 1,3 \text{ mm}^2$, quando comparados ao grupo controle negativo (tween 80 5%) com $28,3 \pm 1,05 \text{ mm}^2$, apresentando percentuais de cicatrização gástrica de 56 e 58%, respectivamente (Gráfico 1). Os resultados não mostraram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre o carveol e a substância padrão.

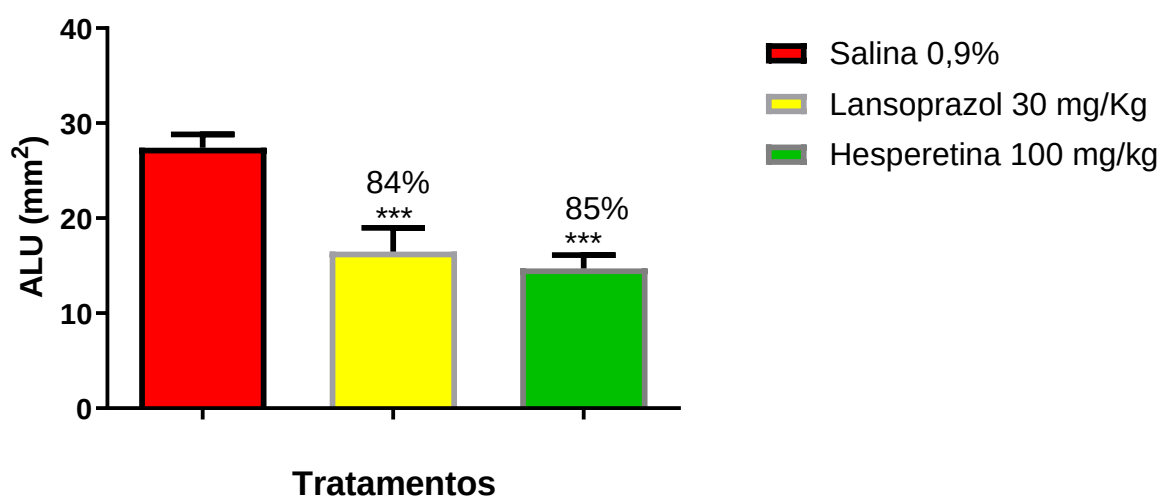
Gráfico 1 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol na úlcera gástrica induzida por ácido acético



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p<0,001, comparado com o grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 5-7). ALU= Área de Lesão Ulcerativa.

A hesperetina (100 mg/kg) e o lansoprazol (30 mg/kg) também diminuíram a ALU (p<0,001) para $14,71 \pm 1,41$ e $16,48 \pm 2,51$ mm², quando comparado ao seu grupo controle negativo (solução salina 0,9%) com $27,4 \pm 1,48$ mm², apresentando 54% e 60% de cicatrização gástrica (Gráfico 2). Os resultados não mostraram diferença significativa (p<0,001) entre a hesperetina e a substância padrão.

Gráfico 2 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol na úlcera gástrica induzida por ácido acético



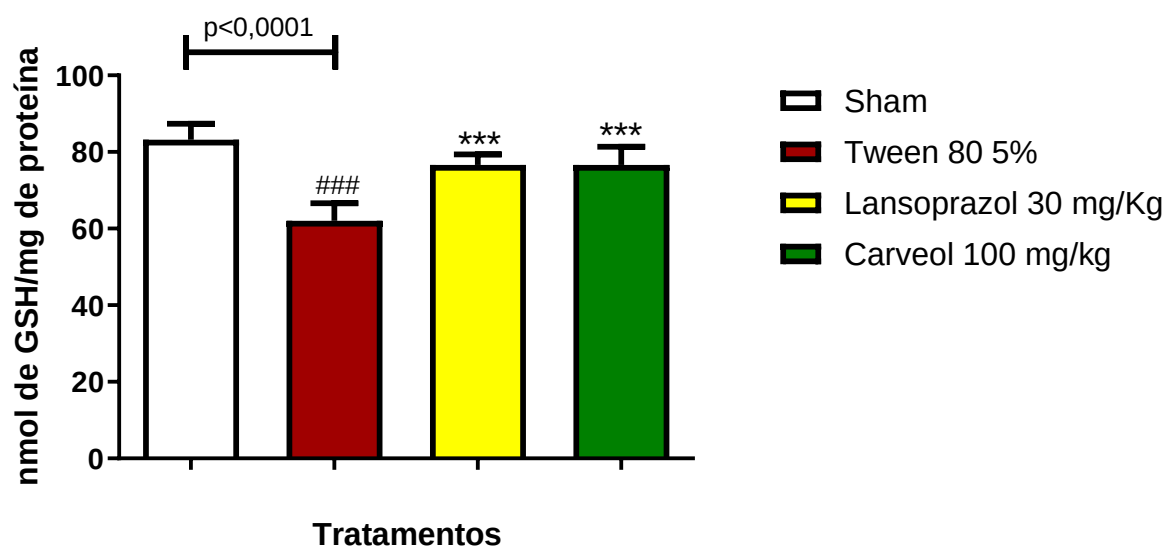
Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p<0,001, comparado com o grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 5-7). ALU= Área de Lesão Ulcerativa.

5.2.1 AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS ANTIOXIDANTES ENVOLVIDOS NO EFEITO CICATRIZANTE GÁSTRICO DO CARVEOL E DA HESPERETINA

5.2.1.1 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) estômagos de ratos

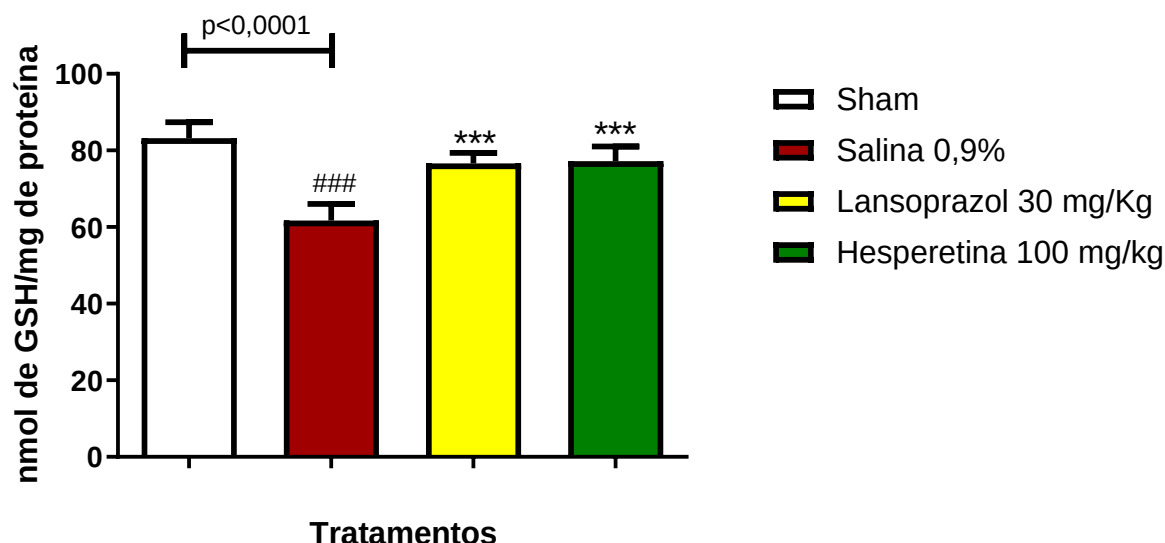
Nessa avaliação foi observada uma redução significativa ($p < 0,001$) dos níveis de GSH nos grupos tratados por 14 dias com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $62,06 \pm 1,85$ e $61,74 \pm 1,77$ nmol de grupamentos sulfidrilas não proteicos (NPSH) por mg de tecido, quando comparados ao grupo Sham ($83,17 \pm 1,70$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) aumentaram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de GSH para ($76,61 \pm 1,12$ e $77,19 \pm 1,44$), assim como o lansoprazol 30 mg/kg ($76,61 \pm 1,11$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 3 e 4.

Gráfico 3 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de GSH no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 4 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de GSH no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos

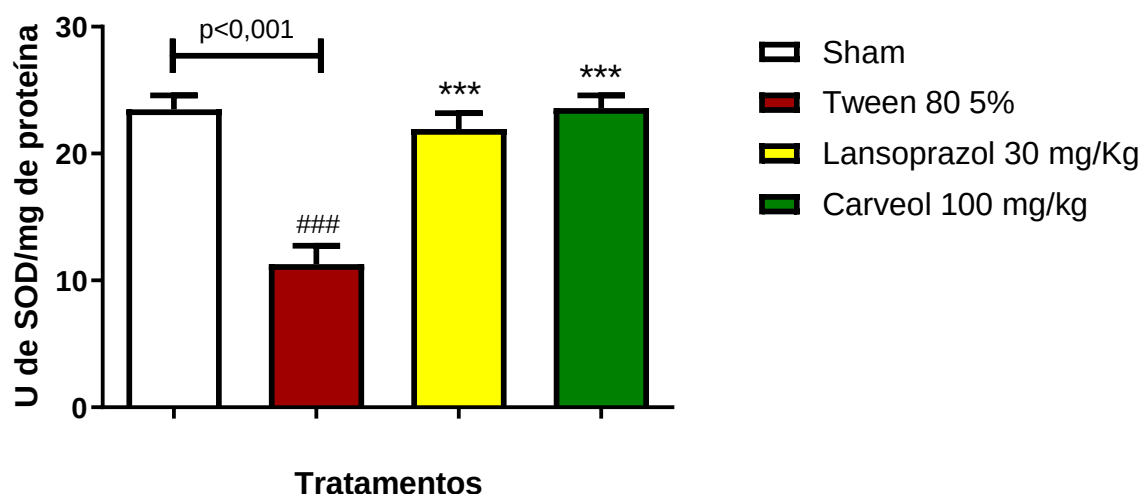


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.2.1.2 Determinação da atividade da enzima supeóxido dismutase (SOD) nos estômagos de ratos

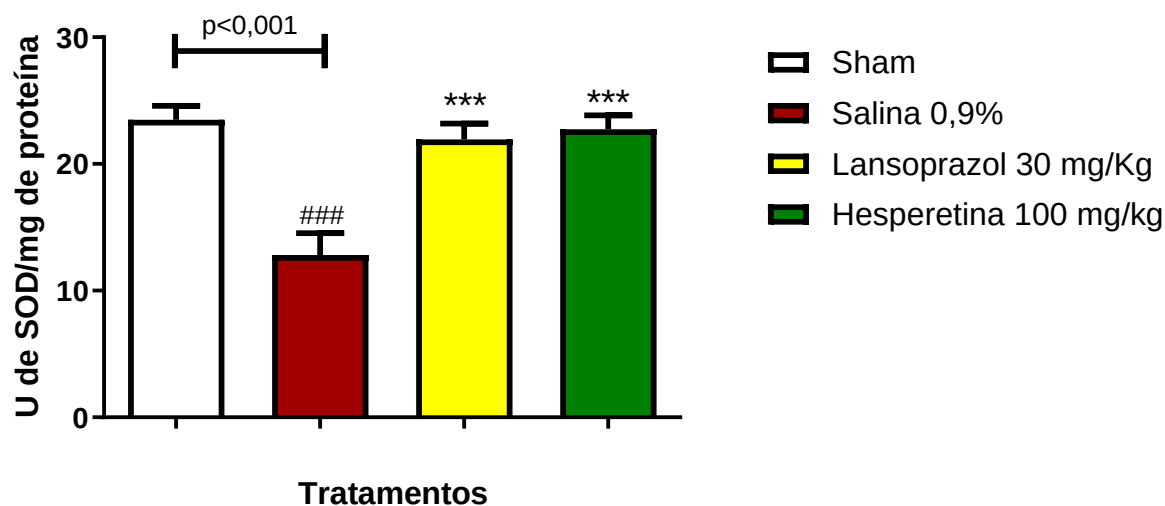
Na avaliação dos níveis de SOD nos tecidos gástricos foi observado uma diminuição significativa ($p < 0,001$) dos seus níveis nos grupos tratados por 14 dias com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $11,29 \pm 1,45$ e $12,82 \pm 1,71$ unidade de SOD/mg de proteína, quando comparados ao grupo Sham ($23,05 \pm 1,09$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) aumentaram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de SOD para $23,69 \pm 1,12$ e $22,75 \pm 1,08$, assim como o lansoprazol ($21,95 \pm 1,24$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos carveol e hesperetina em relação ao grupo lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 5 e 6.

Gráfico 5 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre a atividade da enzima SOD no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média ± d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 6 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre a atividade da enzima SOD no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos



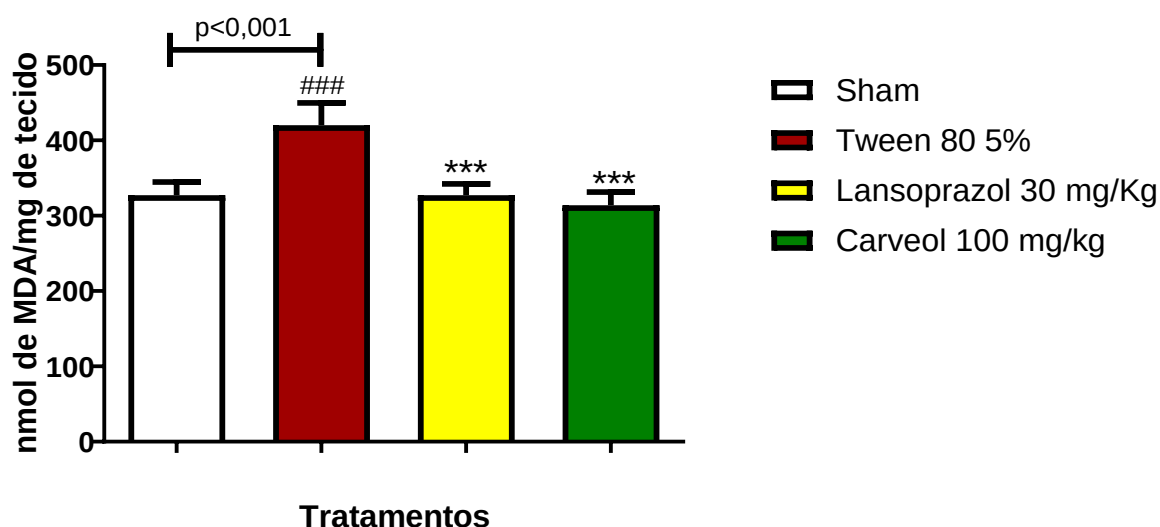
Os resultados estão expressos como média ± d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.2.1.3 Determinação dos níveis de malonaldeído (MDA) nos estômagos de ratos

Na avaliação dos níveis de MDA nos tecidos gástricos foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) dos seus níveis nos grupos tratados por 14 dias com

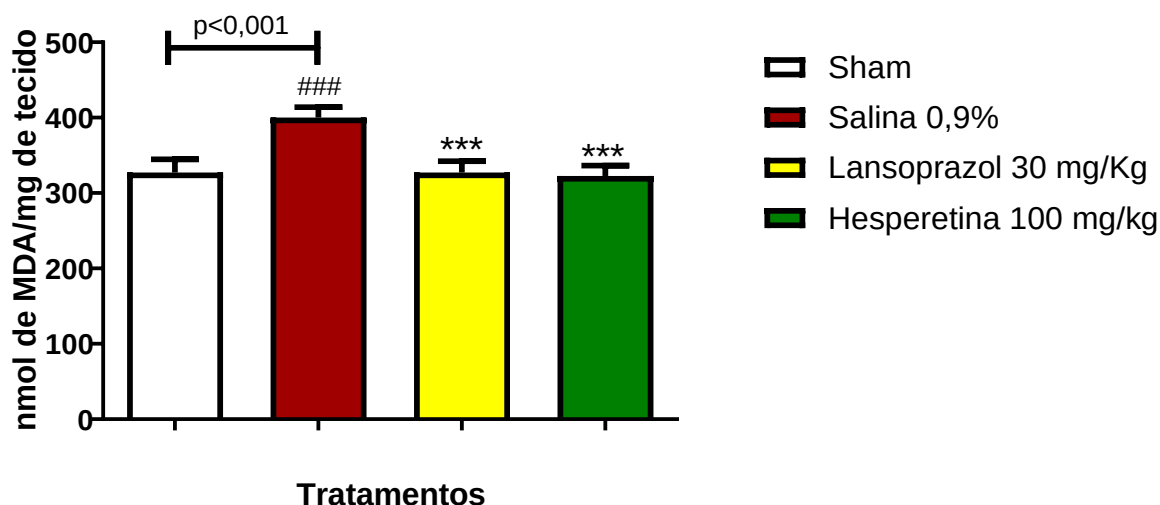
os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $420,10 \pm 11,12$ e $400,20 \pm 5,67$ nmol de MDA/mg de tecido, quando comparados ao grupo Sham ($327,3 \pm 6,65$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) diminuíram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de MDA para $314,0 \pm 7,75$ e $322,9 \pm 5,48$, assim como o lansoprazol ($327,2 \pm 5,73$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos carveol e hesperetina em relação ao grupo lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 7 e 8.

Gráfico 7 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de MDA no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 8 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de MDA no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos

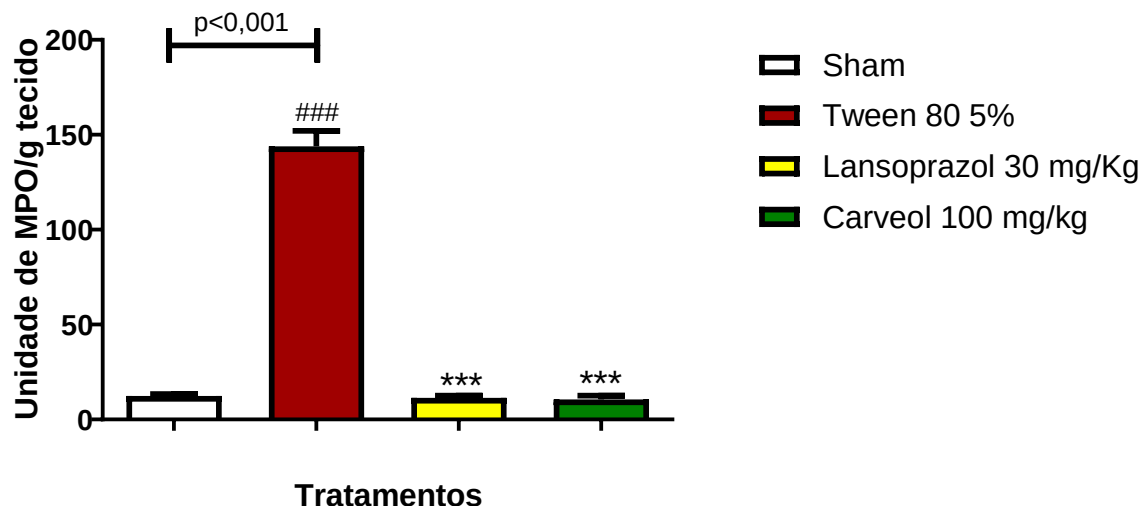


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.2.1.4 Determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) nos estômagos de ratos

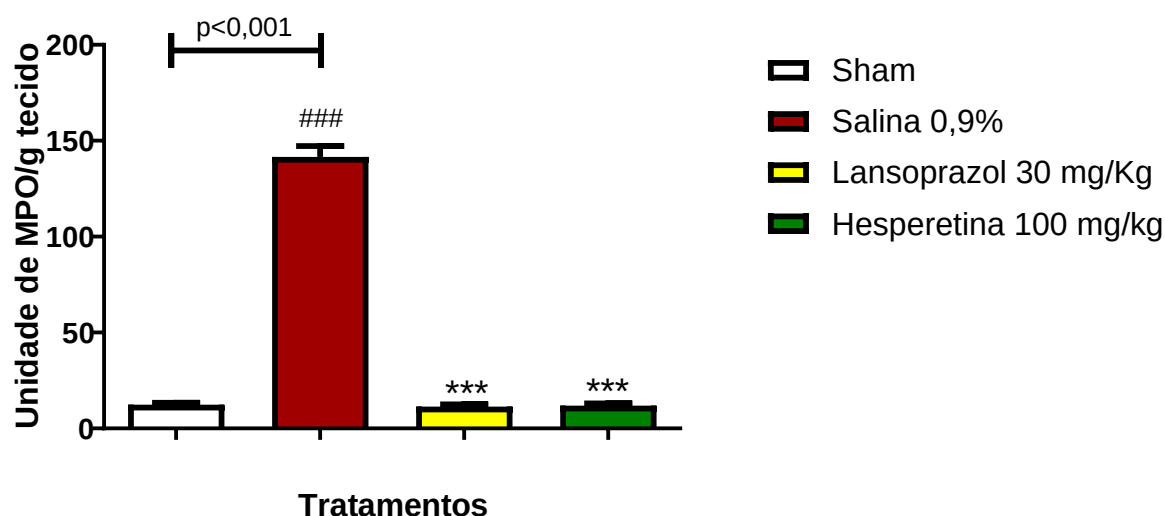
Na avaliação dos níveis de MPO nos tecidos gástricos foi observado um aumento significativo ($p<0,001$) dos seus níveis nos grupos tratados por 14 dias com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $144 \pm 8,05$ e $141,50 \pm 5,64$ unidades de MPO/g de tecido, quando comparados ao grupo Sham ($12,43 \pm 0,91$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) diminuíram significativamente ($p<0,001$) os níveis de MPO para $10,64 \pm 1,89$ e $11,91 \pm 1,12$, assim como o lansoprazol ($11,34 \pm 1,16$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos carveol e hesperetina em relação ao grupo lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 9 e 10.

Gráfico 9 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de MPO no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 10 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de MPO no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

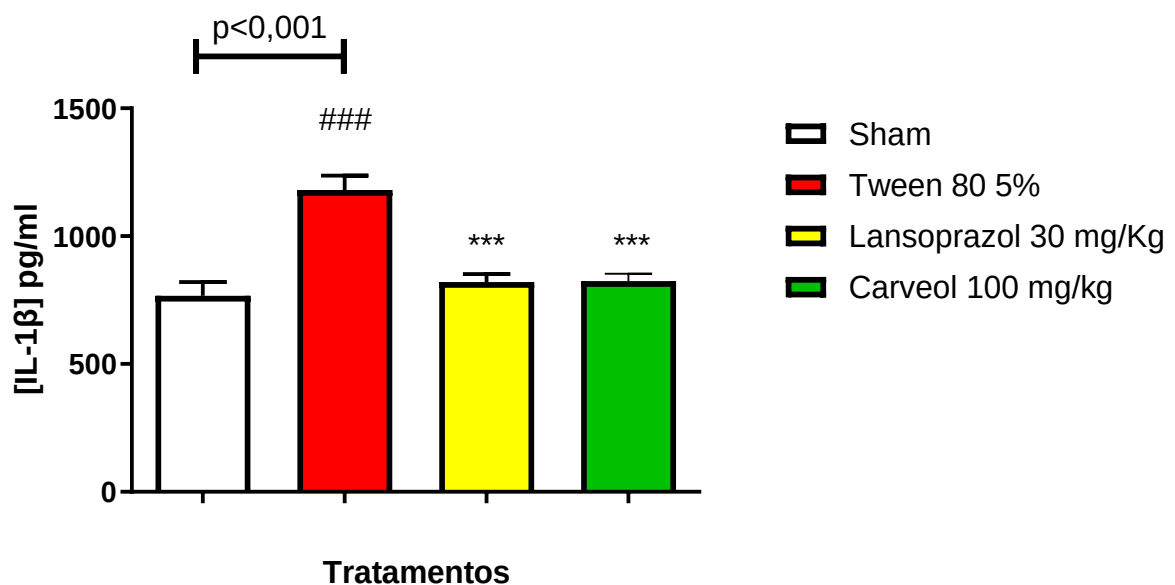
5.2.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNORREGULATÓRIA ENVOLVIDA NO EFEITO CICATRIZANTE GÁSTRICO DO CARVEOL E DA HESPERETINA

5.2.2.1 Determinação dos níveis de IL-1 β nos estômagos de ratos

Na determinação dos níveis da citocina pró-inflamatória IL-1 β nos tecidos gástricos foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) dos seus níveis nos grupos tratados por 14 dias com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para 1181

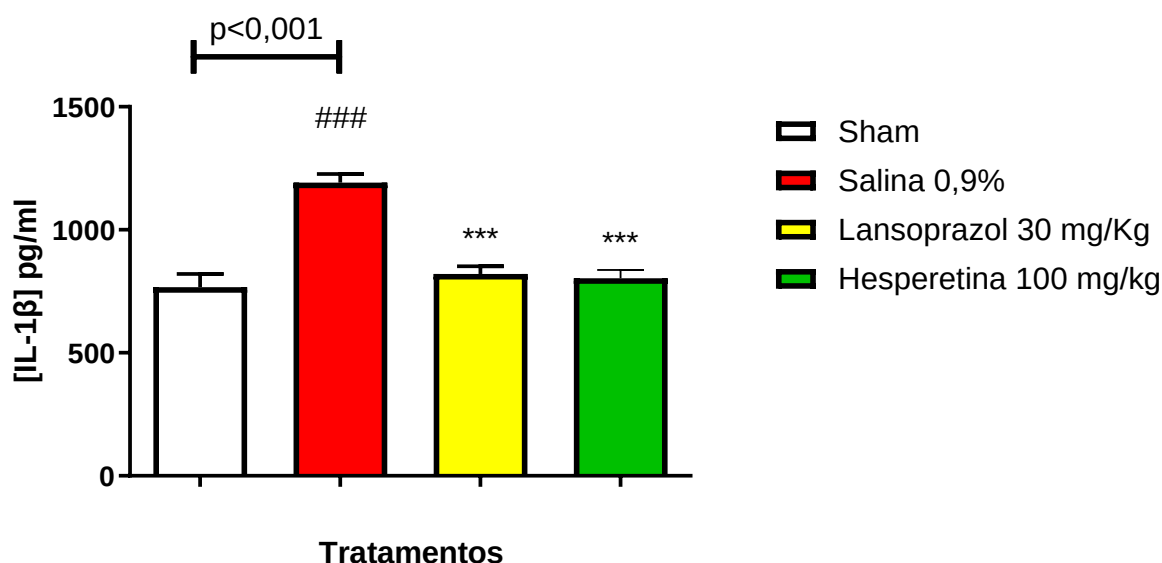
$\pm 56,52$ e $1191 \pm 35,47$ pg de IL-1 β /mL, quando comparados ao grupo Sham ($766,7 \pm 54,21$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) diminuíram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de IL-1 β para $824,9 \pm 28,25$ e $803 \pm 33,93$, assim como o lansoprazol ($820,3 \pm 32,09$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. A análise dos dados não mostrou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos carveol e hesperetina em relação ao grupo lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 11 e 12.

Gráfico 11 - Efeito da administração oral do carveol sobre os níveis de IL-1 β no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) ($n = 6-8$).

Gráfico 12 - Efeito da administração oral da hesperetina sobre os níveis de IL-1 β no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos

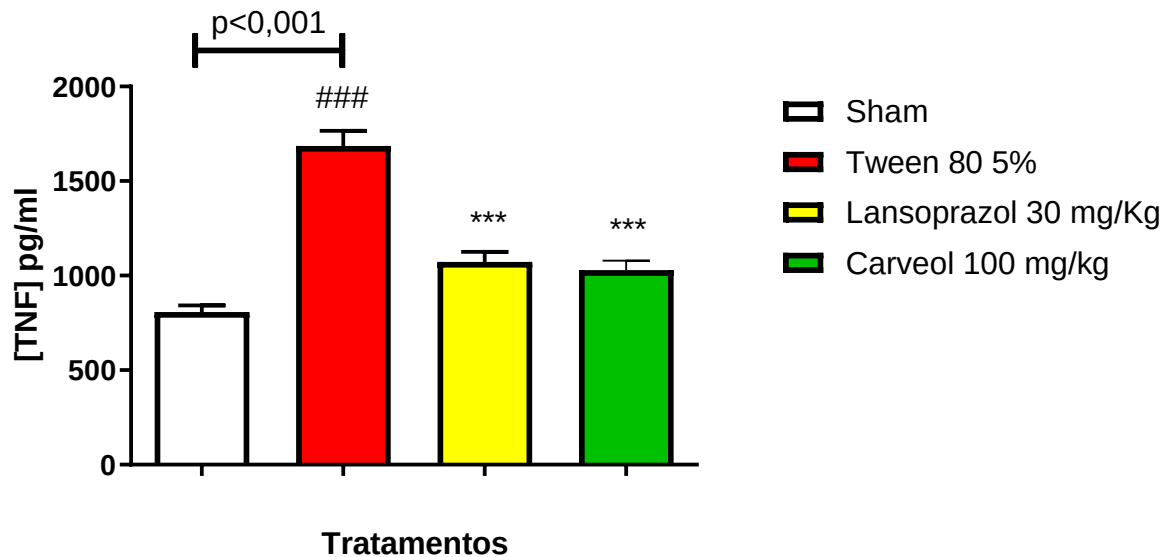


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.2.2.2 Determinação dos níveis de TNF- α nos estômagos de ratos

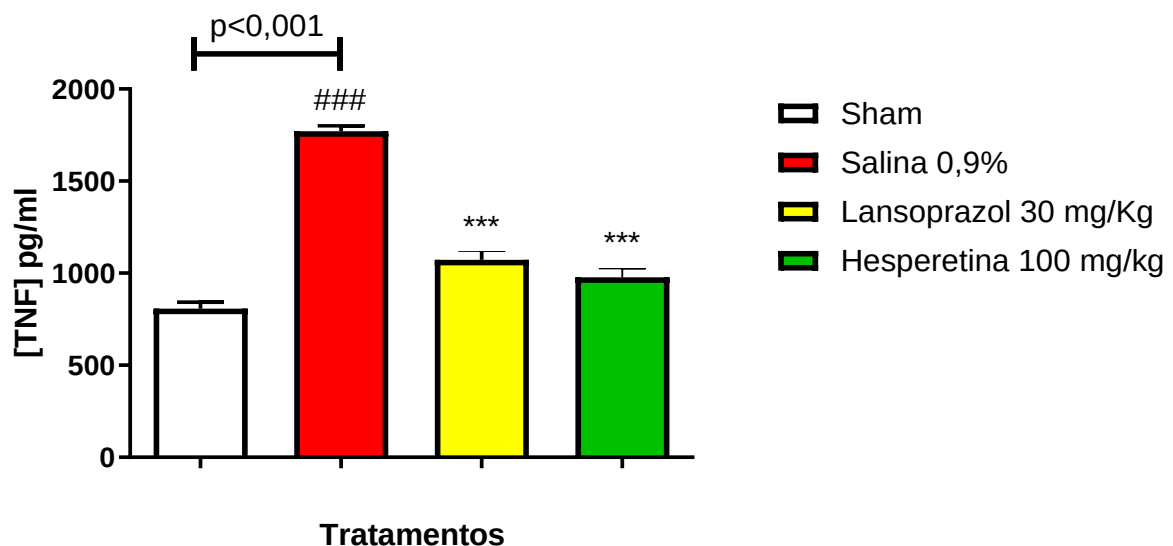
Para quantificação dos níveis da citocina pró-inflamatória TNF- α nos tecidos gástricos foi observado um aumento significativo ($p<0,001$) dos seus níveis nos grupos tratados por 14 dias com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $1687,00 \pm 79,49$ e 1771 ± 29 pg de TNF- α /mL, quando comparados ao grupo Sham ($808,1 \pm 34,42$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) diminuiram significativamente ($p<0,001$) os níveis de TNF- α para $1029 \pm 49,19$ e $976,7 \pm 48,39$, assim como o lansoprazol ($1072 \pm 83,52$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos tratados com as substâncias teste e o lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 13 e 14.

Gráfico 13 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de TNF- α no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 14 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de TNF- α no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos



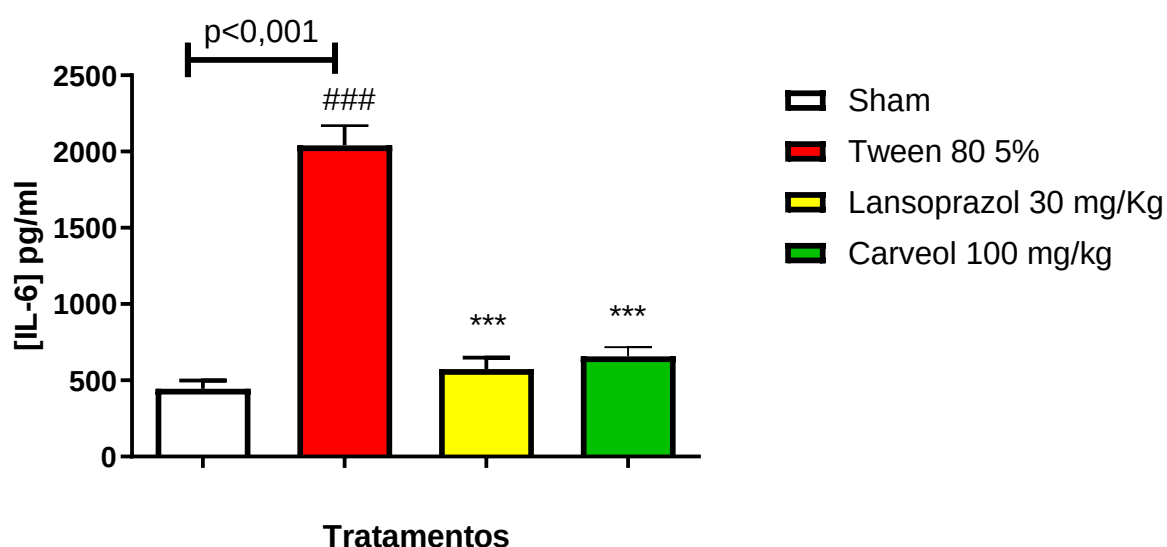
Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.2.2.3 Determinação dos níveis de IL-6 nos estômagos de ratos

Para quantificação dos níveis da citocina pró-inflamatória IL-6 nos tecidos gástricos foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) dos seus níveis nos grupos

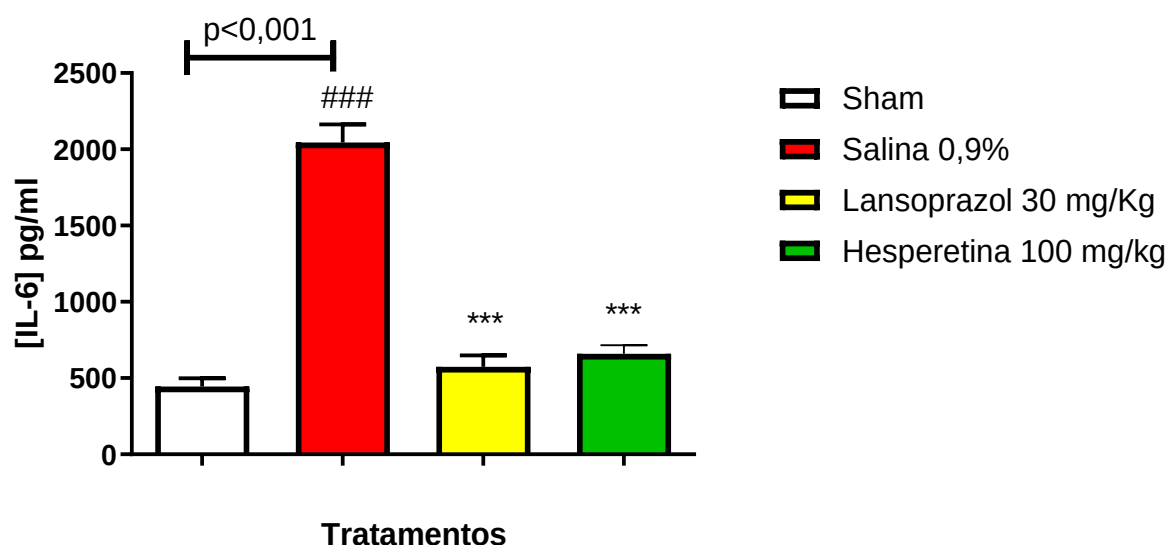
tratados por 14 dias com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $2042 \pm 132,2$ e $2044 \pm 119,8$ pg de IL-6/mL, quando comparados ao grupo Sham ($444,3 \pm 54,15$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) diminuíram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de IL-6 para $658 \pm 60,09$ e $659,6 \pm 56,55$, assim como o lansoprazol ($573,8 \pm 74,20$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos tratados com as substâncias teste e o lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 15 e 16.

Gráfico 15 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de IL-6 no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 16 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de IL-6 no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos

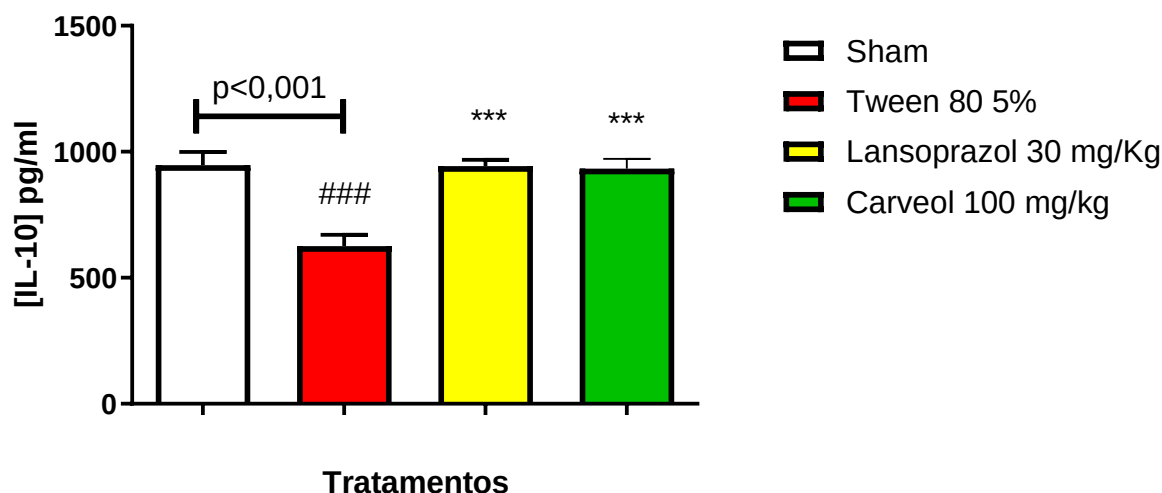


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.2.2.4 Determinação dos níveis de IL-10 nos estômagos de ratos

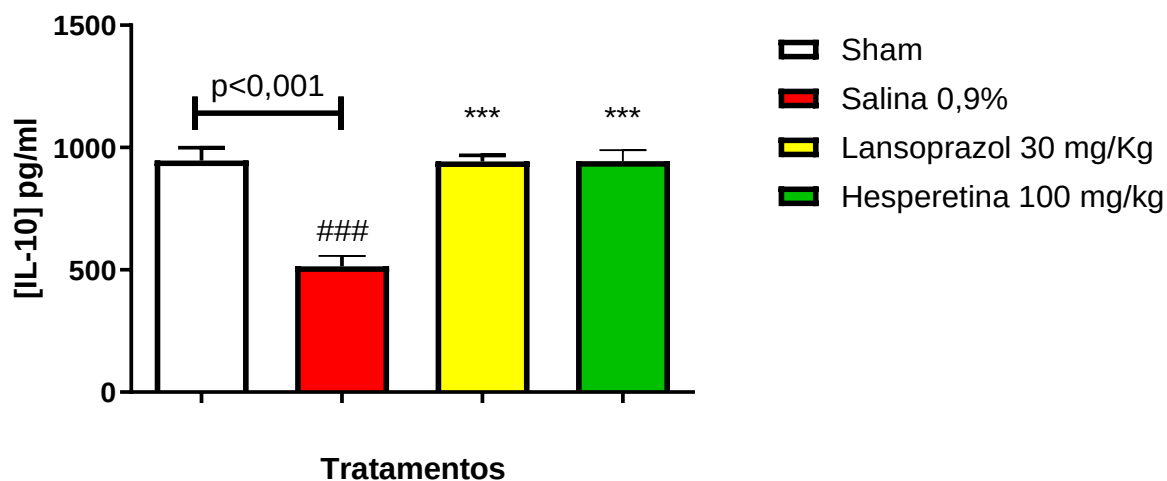
Para quantificação dos níveis da citocina imunorregulatório IL-10 nos tecidos gástricos foi observada uma diminuição significativa ($p < 0,001$) de seus níveis nos grupos tratados por 14 dias com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para 626 ± 44 e $514 \pm 46,93$ pg de IL-10, quando comparados ao grupo Sham ($946,9 \pm 52,68$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) aumentaram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de IL-10 para $933,50 \pm 38,93$ e $944,10 \pm 45,34$, assim como o lansoprazol ($942,5 \pm 25,59$), restaurando aos níveis basais quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos tratados com as substâncias teste e o lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 17 e 18.

Gráfico 17 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de IL-10 no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 18 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de IL-10 no tecido gástrico em modelo de úlcera gástrica por ácido acético em ratos



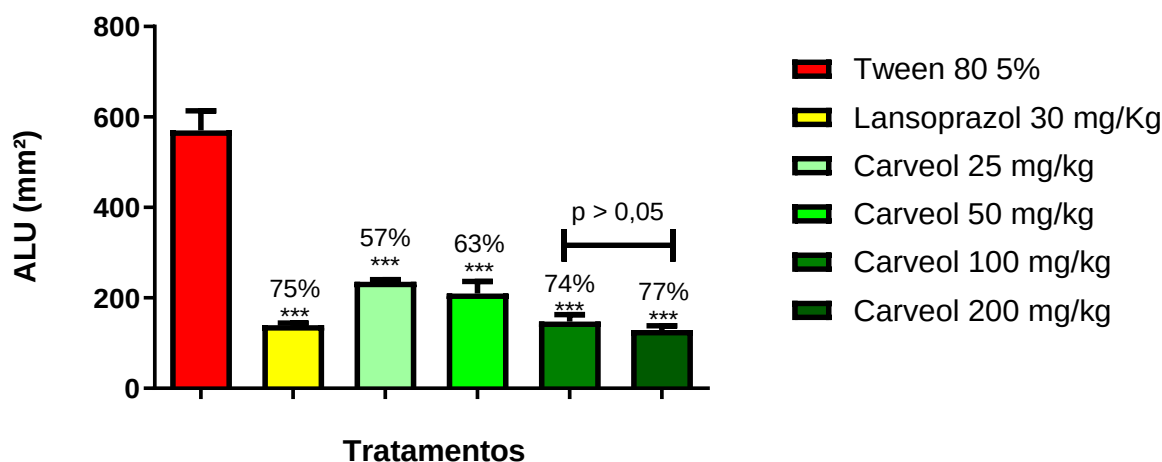
Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.3 Avaliação da atividade antiulcerogênica do carveol e da hesperetina no modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina

Os resultados para o modelo de indução de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos mostraram que o carveol nas doses de 25, 50, 100 e 200 mg/kg e o lansoprazol (30 mg/kg) reduziram a ALU de forma significativa ($p < 0,001$) quando

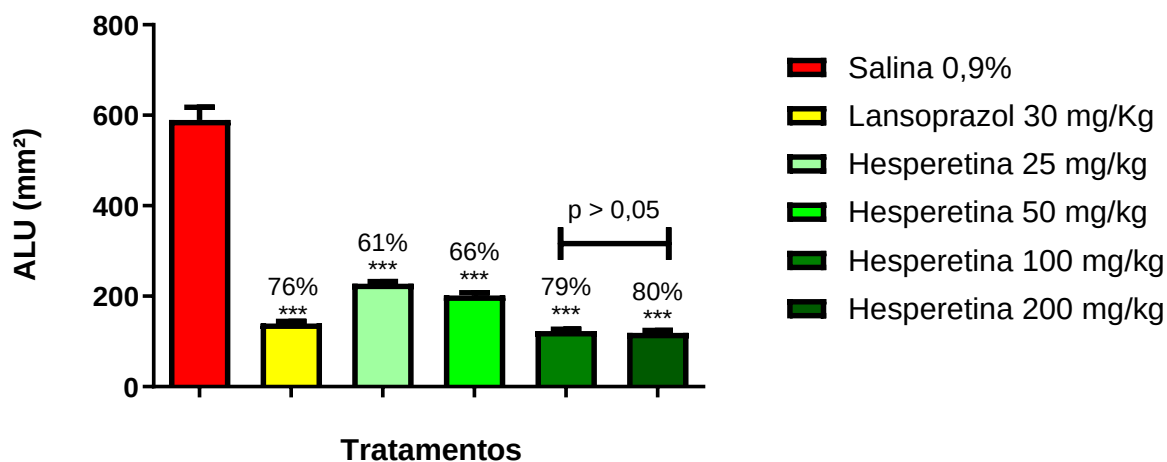
comparados ao grupo controle negativo (tween 80 5%), apresentando percentuais de inibição da lesão de 75, 57, 63, 74 e 77%, respectivamente (Gráfico 19). A hesperetina em todas as doses testadas diminuiu a ALU ($p < 0,001$), quando comparados ao grupo controle negativo (solução salina 0,9%), com 76, 61, 66, 79 e 80% de inibição, respectivamente (Gráfico 20).

Gráfico 19 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol na úlcera duodenal induzida por cisteamina



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett ou Tukey. *** $p < 0,001$, comparado com o grupo controle negativo (Tween 80 5%); # $p < 0,001$, comparado ao grupo lansoprazol (30 mg/kg) ($n = 5-7$). ALU= Área de Lesão Ulcerativa

Gráfico 20 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol na úlcera duodenal induzida por cisteamina



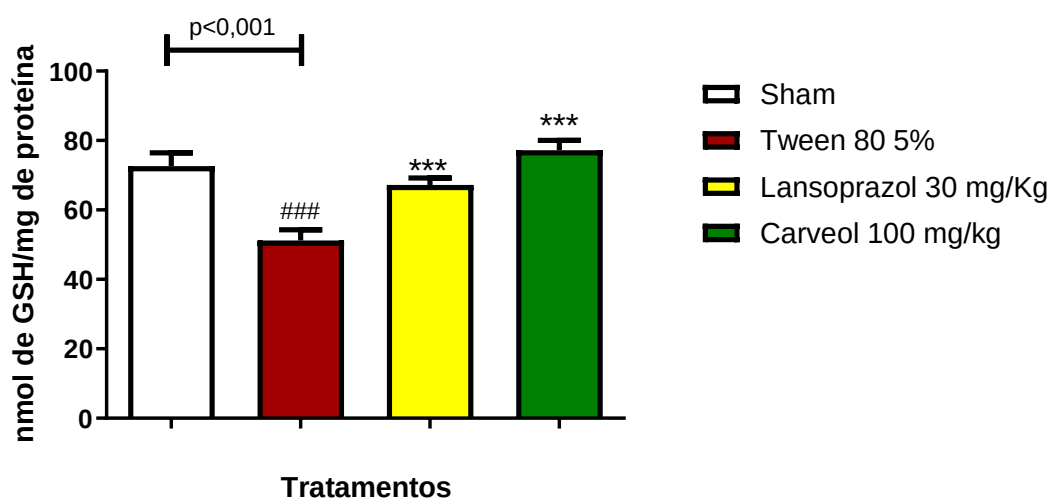
Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. Foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido do teste de Dunnett ou Tukey. *** $p < 0,001$, comparado com o grupo controle negativo (Tween 80 5%); # $p < 0,001$, comparado ao grupo lansoprazol (30 mg/kg) ($n = 5-7$). ALU= Área de Lesão Ulcerativa

5.3.1 AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS ANTIOXIDANTES ENVOLVIDOS NO EFEITO ANTIULCEROGÊNICO DO CARVEOL E DA HESPERETINA

5.3.1.1 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) nos duodenos de ratos

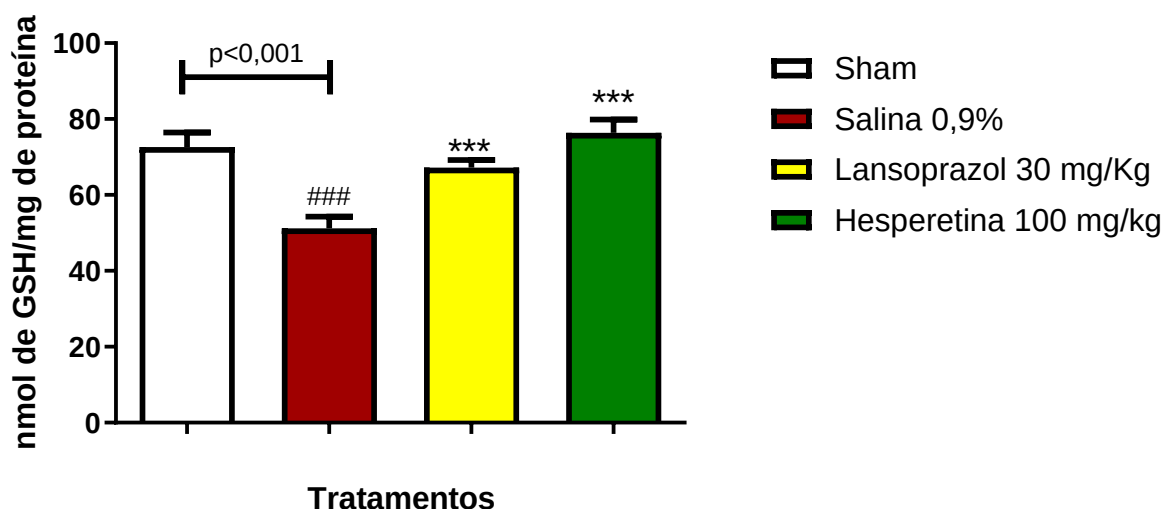
Nessa avaliação foi observada uma redução significativa ($p < 0,001$) dos níveis de GSH nos grupos tratados com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $51,19 \pm 3,13$ e $51,18 \pm 3,142$ mg de grupamentos sulfidrilas não proteicos (NPSH) por mg de tecido, quando comparados ao grupo Sham ($72,60 \pm 3,823$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) aumentaram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de GSH para $77,21 \pm 2,827$ e $76,39 \pm 3,495$, assim como o lansoprazol 30 mg/kg ($67,21 \pm 2,012$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. A análise dos resultados mostrou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos carveol e hesperetina, quando comparados ao grupo lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 21 e 22.

Gráfico 21 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de GSH no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) ($n = 6-8$).

Gráfico 22 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de GSH no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos

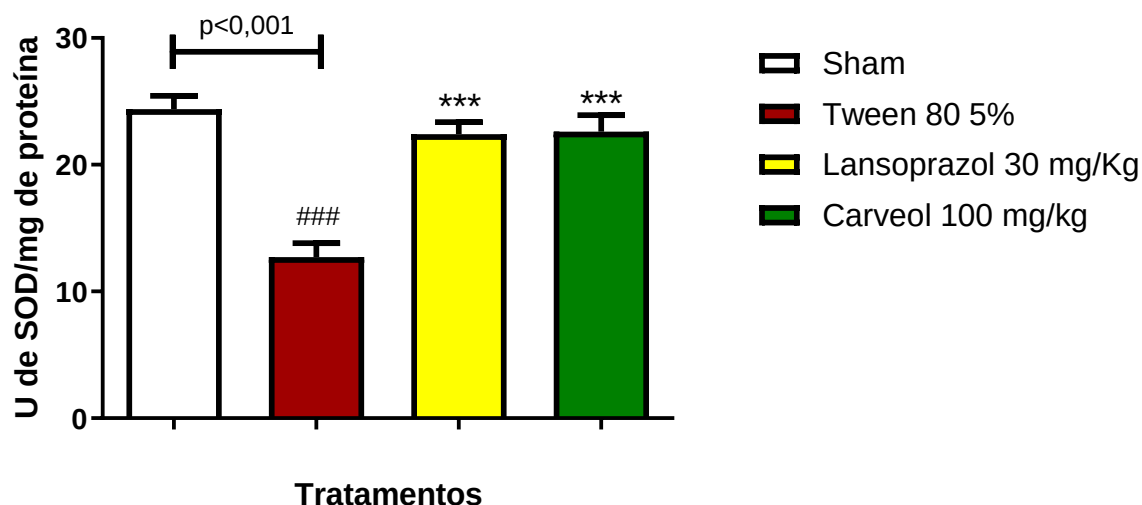


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.3.1.2 Determinação da atividade da enzima supeóxido dismutase (SOD) nos duodenos de ratos

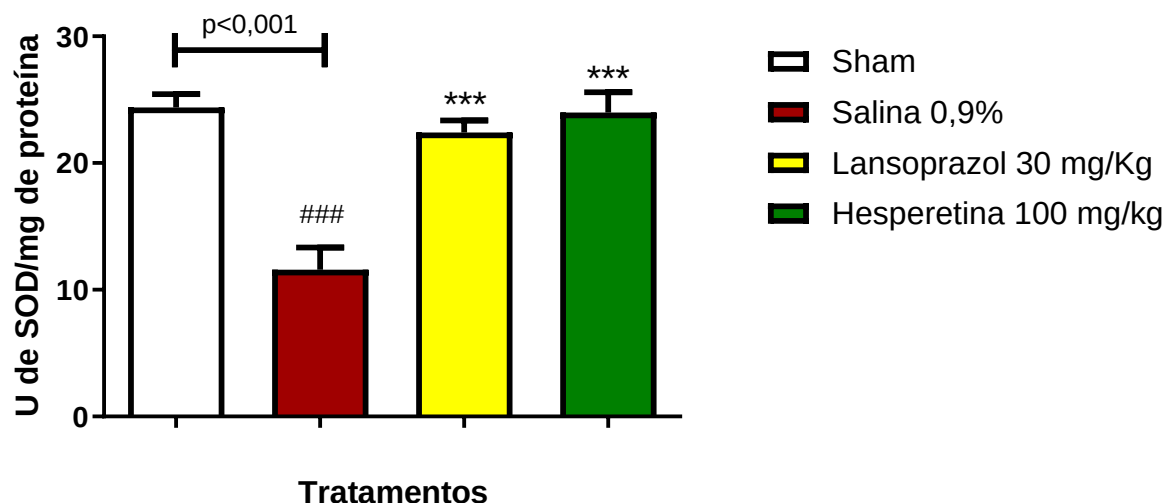
Na avaliação dos níveis de SOD nos tecidos intestinais foi observado uma diminuição significativa ($p < 0,001$) dos seus níveis nos grupos tratados com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $11,59 \pm 1,741$ e $12,71 \pm 1,109$ unidade de SOD/mg de proteína, quando comparados ao grupo Sham ($24,38 \pm 1,061$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) aumentaram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de SOD para $23,69 \pm 1,12$ e $22,61 \pm 1,317$, assim como o lansoprazol ($22,42 \pm 0,95$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos carveol e hesperetina em relação ao grupo lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 23 e 24.

Gráfico 23 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre a atividade da enzima SOD no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 24 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre a atividade da enzima SOD no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos



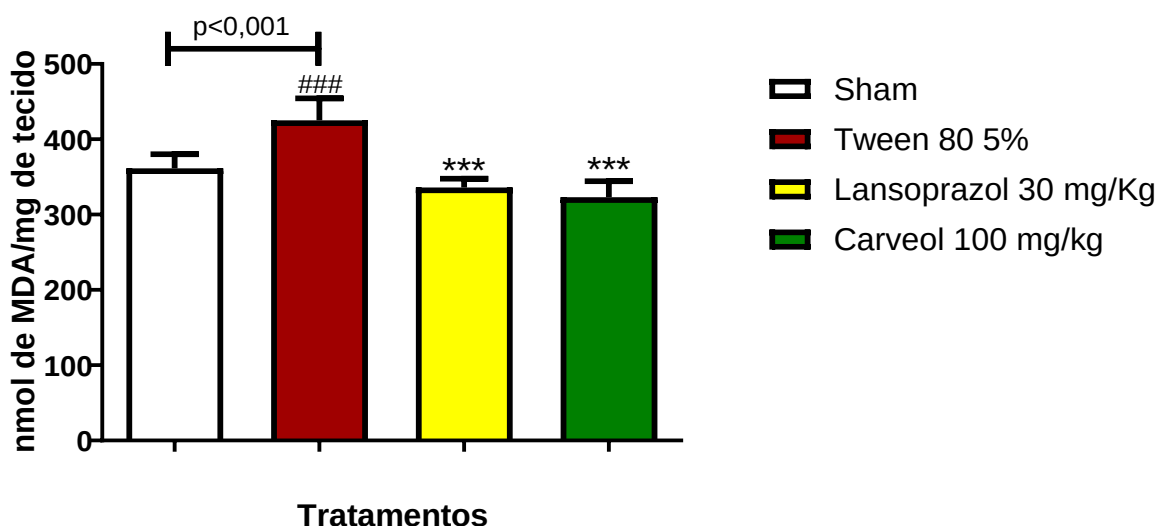
Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.3.1.3 Determinação dos níveis de malonaldeído (MDA) nos duodenos de ratos

Na avaliação dos níveis de MDA nos tecidos intestinais foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) dos seus níveis nos grupos tratados com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $425,30 \pm 28,91$ e $413,60 \pm 25,38$ nmol de

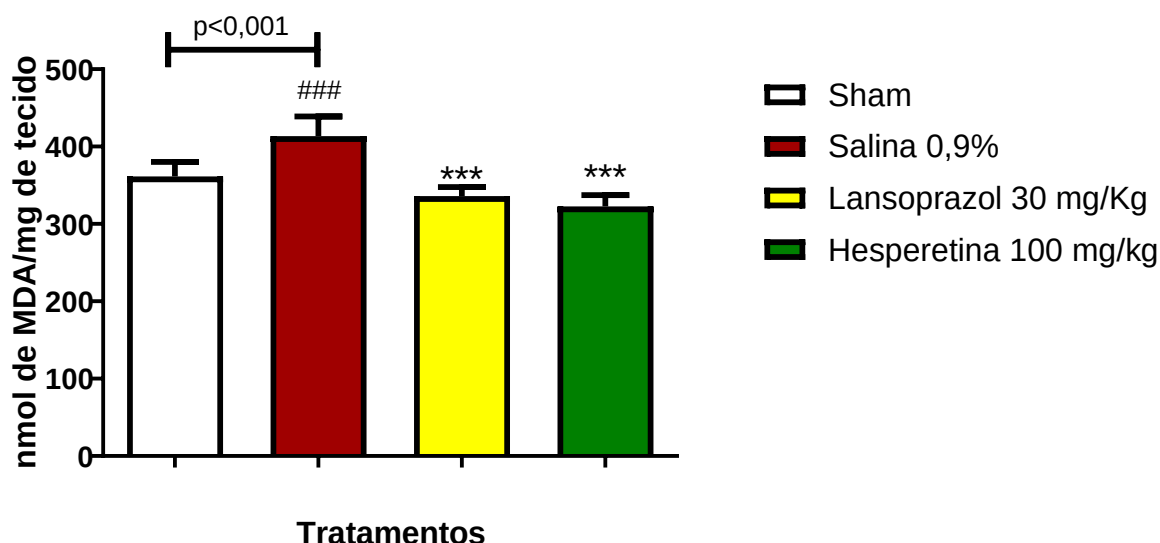
MDA/mg de tecido, quando comparados ao grupo Sham ($361,3 \pm 18,89$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) diminuíram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de MDA para $323,2 \pm 21,13$ e $322,9 \pm 14,35$, assim como o lansoprazol ($336,1 \pm 11,82$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos carveol e hesperetina em relação ao grupo lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 25 e 26.

Gráfico 25 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de MDA no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 26 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de MDA no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos

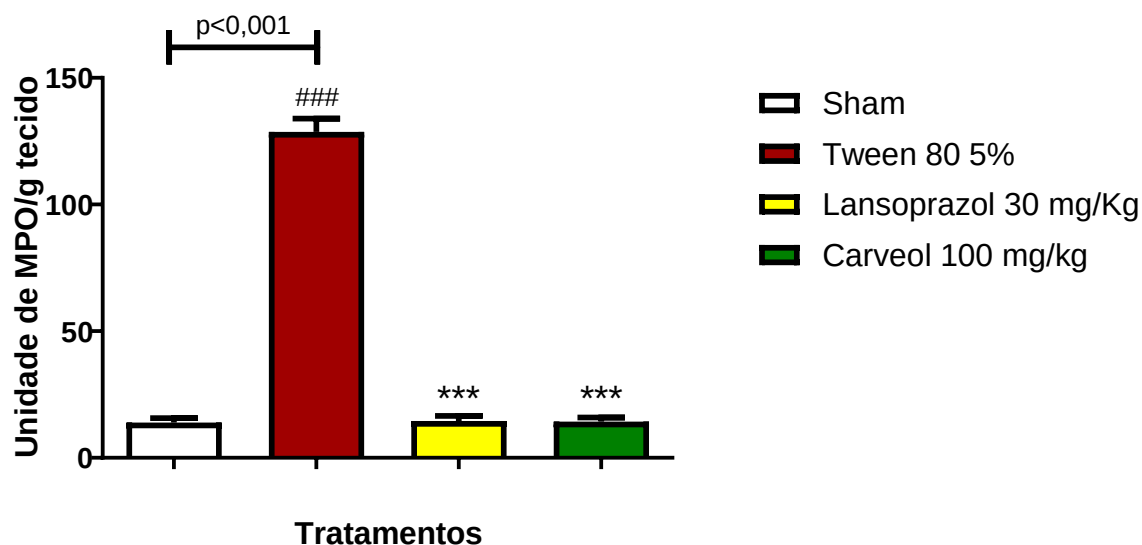


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.3.1.4 Determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) nos duodenos de ratos

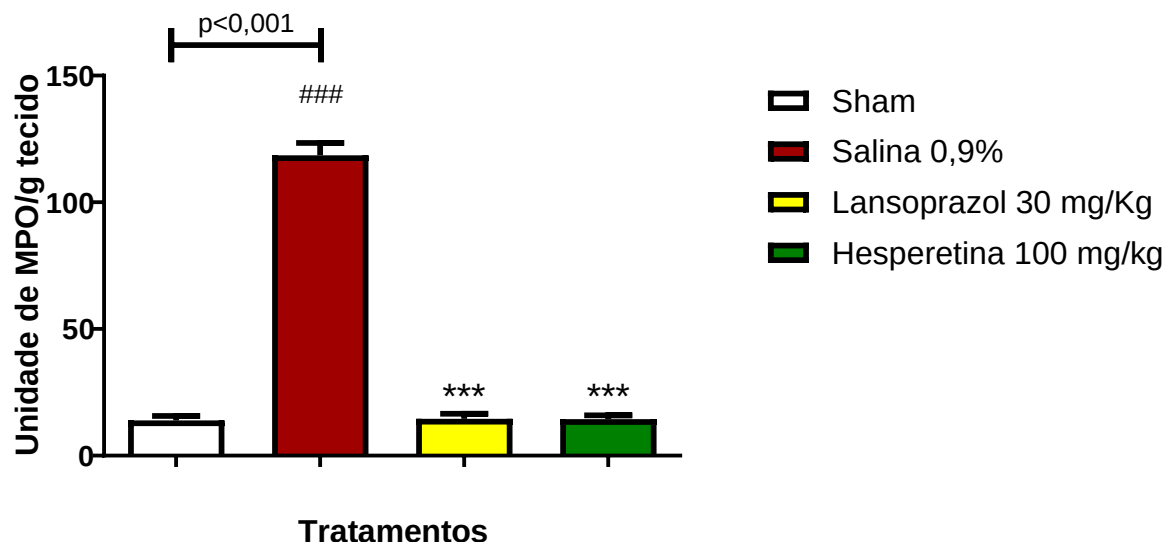
Na avaliação dos níveis de MPO nos tecidos intestinais foi observado um aumento significativo ($p<0,001$) dos seus níveis nos grupos tratados com os veículos (Tween 80 5% e solução salina 0,9%) para $128,7 \pm 5,265$ e $118,50 \pm 4,905$ unidade de MPO/g de tecido, quando comparados ao grupo Sham ($13,99 \pm 1,712$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) e a hesperetina (100 mg/kg) diminuíram significativamente ($p<0,001$) os níveis de MPO para $14,27 \pm 1,687$ e $14,48 \pm 1,492$, assim como o lansoprazol ($14,57 \pm 2,006$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os grupos carveol e hesperetina em relação ao grupo lansoprazol. Os resultados para esse ensaio foram expressos nos Gráficos 27 e 28.

Gráfico 27 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de MPO no tecido intestinal em um modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Gráfico 28 - Efeito da administração oral da hesperetina e do lansoprazol sobre os níveis de MPO no tecido gástrico em modelo de úlcera induzida por ácido acético em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.4 Modelo agudo de colite ulcerativa induzida pelo ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS) em ratos

Nesse modelo experimental foram avaliados os parâmetros área de lesão (ALU), escore da lesão, relação peso/comprimento e diarreia quando da utilização do Carveol conforme expresso na Tabela 7 e ilustrado na figura 15.

Ao avaliar a ALU (mm²) foi observado um aumento ($p < 0,001$) para $214,4 \pm 10,71$ nos animais do grupo colítico (Tween 80 5%), quando comparado ao grupo não colítico, que correspondeu ao grupo basal e não apresentam lesão.

O tratamento com diferentes doses do carveol (25, 50, 100 e 200 mg/kg) e a prednisolona (2 mg/kg) diminuiu a ALU para $131,7 \pm 10,23$ ($p < 0,001$), $98,07 \pm 6,679$ ($p < 0,001$), $62,97 \pm 5,863$ ($p < 0,001$), $49,75 \pm 4,064$ ($p < 0,001$) e $84,99 \pm 4,974$ ($p < 0,001$), respectivamente, quando comparado ao grupo colítico (Tween 80 5%).

Quando avaliado o parâmetro escore da lesão foi possível observar que o grupo colítico aumentou de forma significativa esse parâmetro para 7,5 (6-9), quando comparado ao grupo não colítico. Todas as doses do carveol e a prednisolona (2 mg/kg) reduziram significativamente a extensão e severidade das lesões para 5 (3-6, $p < 0,05$), 4,5 (3-5, $p < 0,01$), 4 (2-5, $p < 0,001$), 2,5 (1-4, $p < 0,001$), 3 (2-5, $p < 0,001$), respectivamente, quando comparado ao seu grupo colítico.

Na avaliação da relação peso/comprimento foi possível observar uma diferença significativa ($p < 0,001$) entre o grupo colítico e não-colítico ($191,2 \pm 33,77$ e $101,5 \pm 16,04$). O tratamento com o carveol e a prednisolona em todas as doses diminuiu a relação peso/comprimento para $150,9 \pm 16,22$ ($p < 0,05$), $137,9 \pm 31,33$ ($p < 0,01$), $130,0 \pm 24,41$ ($p < 0,01$), $119,3 \pm 17,03$ ($p < 0,001$) e $131,4 \pm 18,44$ ($p < 0,001$), quando comparado ao grupo colítico $191,2 \pm 33,77$.

Após a indução do processo inflamatório a partir da administração do TNBS foi avaliado por 48 horas o parâmetro diarreia, que foi calculado a partir do índice de evacuação (IE), pelo qual foi possível observar uma diminuição do IE nos grupos tratados com o carveol e a prednisolona para 578, 509, 450, 388 e 412, respectivamente, quando comparados ao grupo colítico, que apresentou um IE de 751.

Esses resultados são mais bem visualizados na Figura 15 referente ao experimento com o carveol. A partir desse modelo foram selecionadas a melhor dose para o carveol, a fim de dar continuidade às avaliações dos mecanismos de ação em

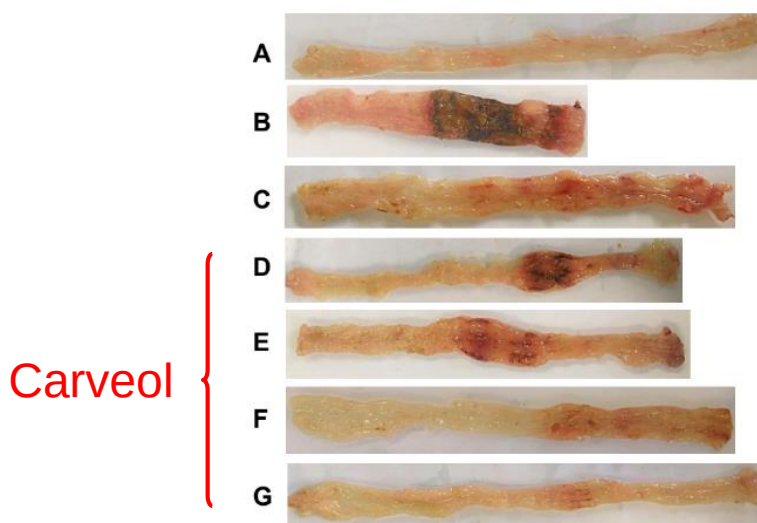
estudos posteriores. Os critérios utilizados incluíram a ocorrência de diferença estatística ($p < 0,05$) entre as doses avaliadas e o valor da melhor média/mediana. Nessa perspectiva, foi selecionado a dose de 100 mg/kg do carveol.

Tabela 7 - Efeito da administração oral do carveol na fase aguda do processo inflamatório intestinal induzido por ácido trinitrobenzenosulfônico (TNBS) em ratos

Grupos	Dose (mg/kg)	ALU (mm ²)	Inibição da lesão (%)	Escore da lesão	Peso/ Comprimento (mg/cm)	Índice de evacuação
Não colítico	----	—	—	—	101,5 ± 16,04	370
Colítico	----	214,4 ± 10,71 ^{###}	—	7,5 (6-9) ^{###}	191,2 ± 33,77 ^{###}	751 ^{###}
Prednisolona	2	84,99 ± 4,974 ^{***}	70	3 (2-5) ^{***}	131,4 ± 18,44 ^{***}	412 ^{***}
	25	131,7 ± 10,23 ^{***} a,b,c,d	20	5 (3-6) [*]	150,9 ± 16,22 [*]	578 ^{***a,d}
carveol	50	98,07 ± 6,679 ^{*** d}	55	4,5 (3-5) ^{**}	137,9 ± 31,33 ^{**}	509 ^{***a,d}
	100	62,97 ± 5,863 ^{*** d}	65	4 (2-5) ^{**}	130,0 ± 24,41 ^{**}	450 ^{***d}
	200	49,75 ± 4,064 ^{***}	82	2,5 (1-4) ^{***}	119,3 ± 17,03 ^{***}	388 ^{***}

Resultados expressos em média ± d.p ou em mediana (valor mínimo-máximo) dos parâmetros analisados. Para os dados paramétrico foi utilizada a análise de variância de uma via (ANOVA), seguido de teste a postest de Dunnet e Tukey. Para os dados não paramétricos utilizou o teste de Kruskal Walis e teste a posteriori de Dunn. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ comparado ao grupo colítico; ^{###} $p < 0,001$, comparado ao grupo não colítico; ^a $p < 0,05$ comparado ao grupo prednisolona; ^b $p < 0,05$ comparado a dose de 50 mg/kg; ^c $p < 0,05$ comparado a dose de 100 mg/kg; ^d $p < 0,05$ comparado a dose de 100 mg/kg; (n=6-8).

Figura 15 - Cólons de ratos referentes ao grupo não colítico (A), grupos tratados (v.o.) com tween 80 5% (B), prednisolona 2 mg/kg (C), carveol 25 mg/kg (D), carveol 50 mg/kg (E), carveol 100 mg/kg (F) e carveol 200 mg/kg (G) submetidos ao modelo de ulcerativa induzida por TNBS

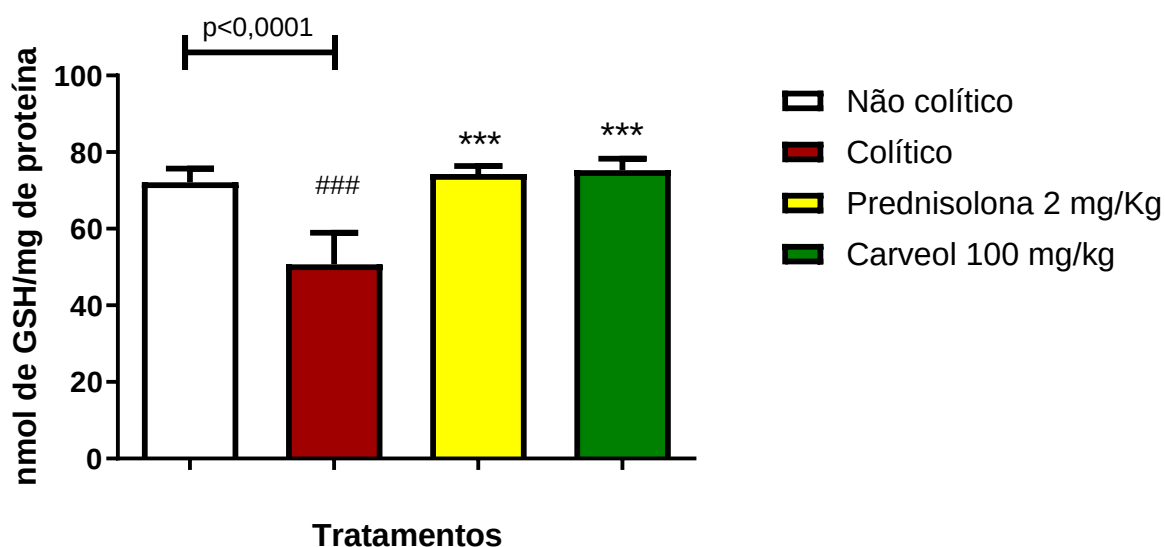


5.4.1 AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS ANTIOXIDANTES ENVOLVIDOS NO EFEITO ANTI- INFLAMATÓRIO INTESTINAL DO CARVEOL

5.4.1.1 Determinação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) em cólon de ratos

Na avaliação antioxidante foi observado uma redução significativa ($p < 0,001$) dos níveis de GSH no grupo tratado apenas com o veículo (Tween 80 5%) para $50,73 \pm 8,237$ de grupamentos sulfidrilas não proteicos (NPSH) por mg de tecido, quando comparado ao grupo não colítico ($72,14 \pm 3,592$). Os tratamentos com carveol (100 mg/kg) e a prednisolona (2 mg/kg) aumentaram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de GSH para $75,33 \pm 2,979$ e $74,28 \pm 2,121$, quando comparados ao grupo controle Tween 80 5%. Os resultados para esse ensaio foram expressos no Gráfico 29.

Gráfico 29 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre os níveis de GSH no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos



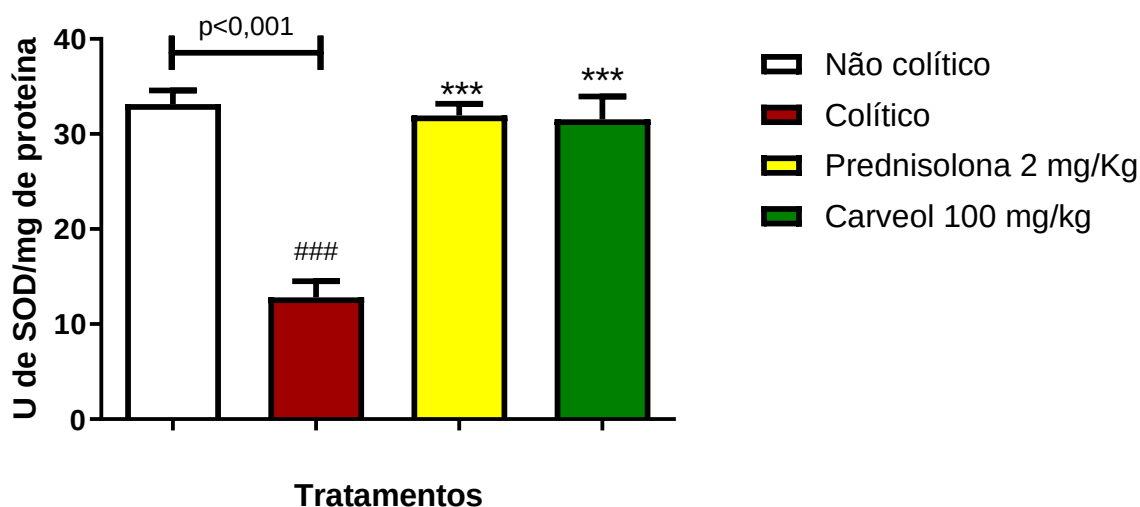
Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) ($n = 6-8$).

5.4.1.2 Determinação da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) em cólon de ratos

Na avaliação antioxidante foi observado uma redução significativa ($p < 0,001$) dos níveis de SOD no grupo tratado apenas com o veículo (Tween 80 5%), ou seja, grupo colítico para $12,82 \pm 1,712$ unidade de SOD/mg de proteína, quando comparado

ao grupo não colítico ($33,13 \pm 1,445$). Os tratamentos com carveol (100 mg/kg) e a prednisolona (2 mg/kg) aumentaram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de SOD para os níveis basais $31,55 \pm 2,407$ e $31,95 \pm 1,242$, quando comparados ao grupo controle Tween 80 5%. Os resultados para esse ensaio foram expressos no gráfico 30.

Gráfico 30 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre a atividade da enzima SOD no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos

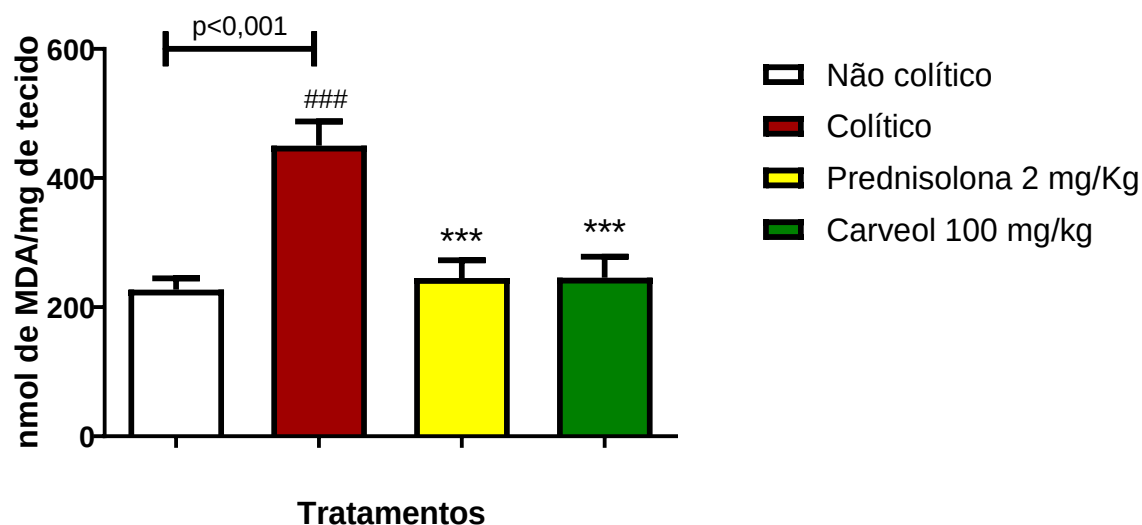


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) ($n = 6-8$).

5.4.1.3 Determinação dos níveis de malonaldeído (MDA) em cólon de ratos

Na avaliação antioxidante foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) dos níveis de MDA no grupo tratado apenas com o veículo (Tween 80 5%), ou seja, grupo colítico para $450,1 \pm 37,47$ nmol de MDA/mg de tecido, quando comparado ao grupo não colítico ($227,3 \pm 17,58$). Os tratamentos com carveol (100 mg/kg) e a prednisolona (2 mg/kg) diminuíram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de MDA para $245,9 \pm 32,59$ e $245,4 \pm 27,27$, quando comparados ao grupo controle Tween 80 5%. Os resultados para esse ensaio foram expressos no gráfico 31.

Gráfico 31 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre os níveis de MDA no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos

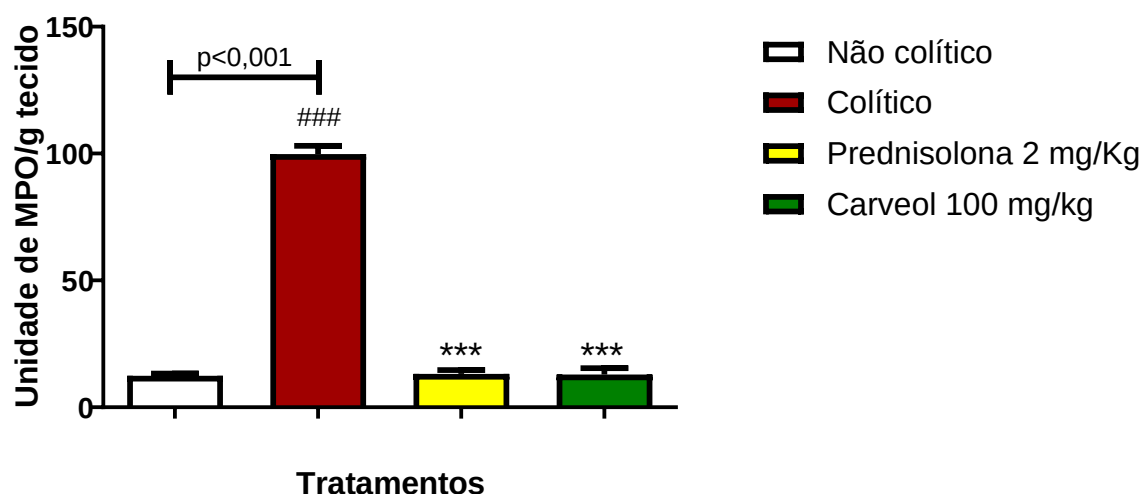


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.4.1.4 Determinação da atividade da mieloperoxidase (MPO) em cólon de ratos

Na avaliação antioxidante foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) dos níveis de MPO no grupo tratado apenas com o veículo (Tween 80 5%), ou seja, grupo colítico para $99,78 \pm 3,293$ unidade de MPO/g de tecido, quando comparado ao grupos não colítico ($12,43 \pm 0,917$). Os tratamentos com carveol (100 mg/kg) e a prednisolona (2 mg/kg) diminuiram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de MPO para $12,94 \pm 2,435$ e $13,17 \pm 1,468$, quando comparados ao grupo controle Tween 80 5%. Os resultados para esse ensaio foram expressos no gráfico 32.

Gráfico 32 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre os níveis de MPO no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos



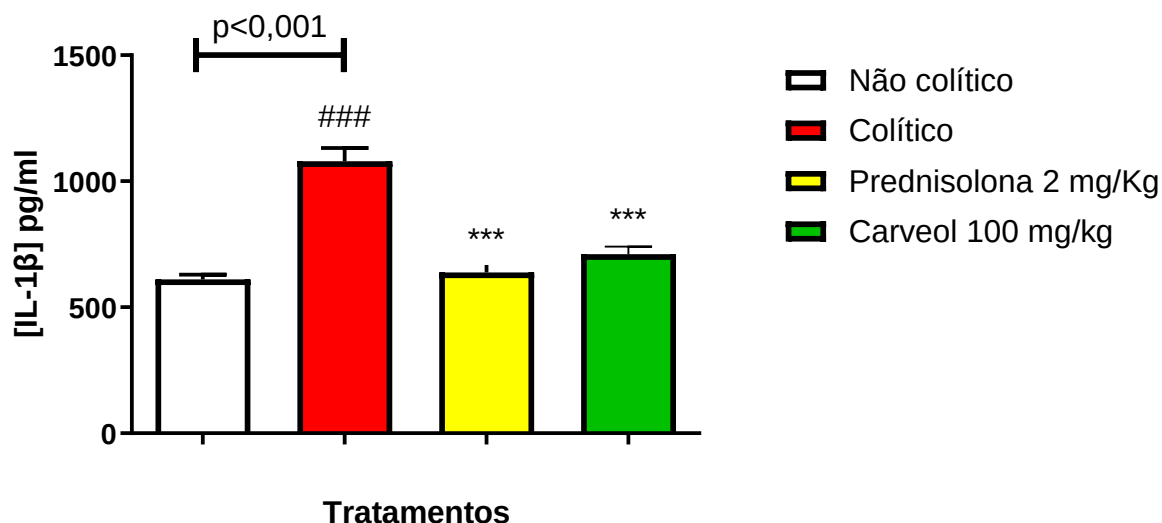
Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE IMUNORREGULATÓRIA ENVOLVIDA NO EFEITO ANTI-INFLAMATÓRIO INTESTINAL DO CARVEOL

5.4.2.1 Determinação dos níveis de IL-1 β em cólon de ratos

Na determinação dos níveis da citocina pró-inflamatória IL-1 β nos tecidos colônicos foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) dos seus níveis no grupo tratado com o veículo (Tween 80 5%) para $1181 \pm 56,52$ pg de IL-1 β /mL, quando comparado ao grupo não colítico ($766,7 \pm 54,21$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) diminuiu significativamente ($p < 0,001$) os níveis de IL-1 β para $824,9 \pm 28,25$, assim como a prednisolona (2 mg/kg) ($820,3 \pm 32,09$), quando comparados ao grupo colítico. A análise dos dados não mostrou diferença significativa ($p < 0,01$) entre o grupo carveol em relação ao grupo prednisolona. Os resultados para esse ensaio foram expressos no gráfico 33.

Gráfico 33 - Efeito da administração oral do carveol e da prednisolona sobre os níveis de IL-1 β no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos

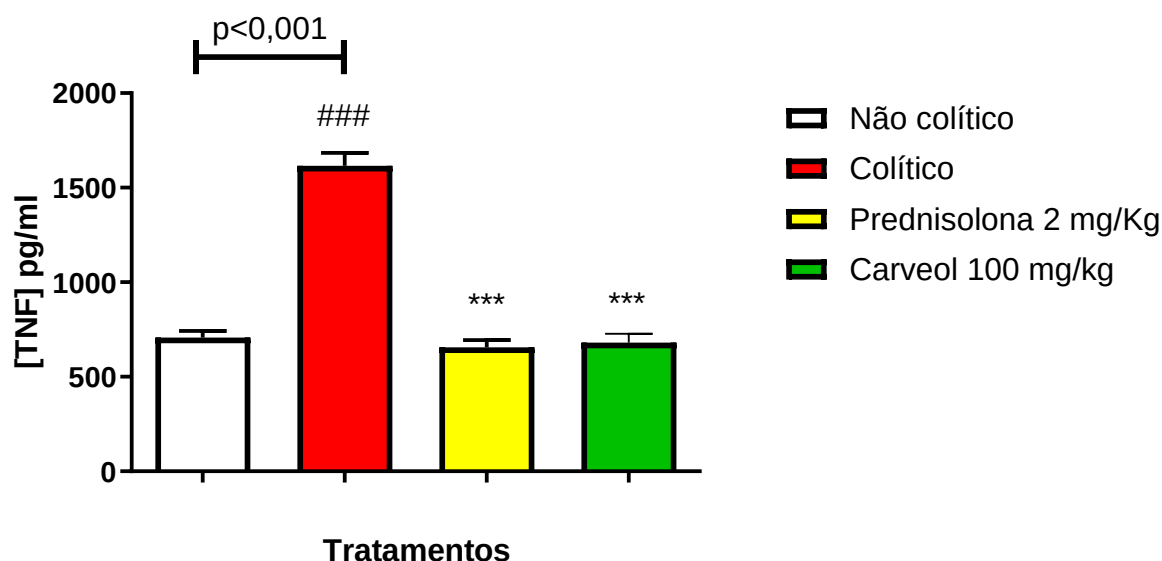


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.4.2.2 Determinação dos níveis de TNF- α em cólon de ratos

Para quantificação dos níveis da citocina pró-inflamatória TNF- α nos tecidos colônicos foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) dos seus níveis no grupo tratado com o veículo (Tween 80 5%) para $1615 \pm 69,01$ pg de TNF- α /mL, quando comparados ao grupo não colítico ($708,1 \pm 34,42$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) diminuiu significativamente ($p < 0,001$) os níveis de TNF- α para $680,8 \pm 47,22$, assim como a prednisolona (2 mg/kg) ($655,5 \pm 38,14$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. A análise dos dados não mostrou diferença significativa ($p < 0,01$) entre o grupo carveol em relação ao grupo prednisolona. Os resultados para esse ensaio foram expressos no gráfico 34.

Gráfico 34 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de TNF- α no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos

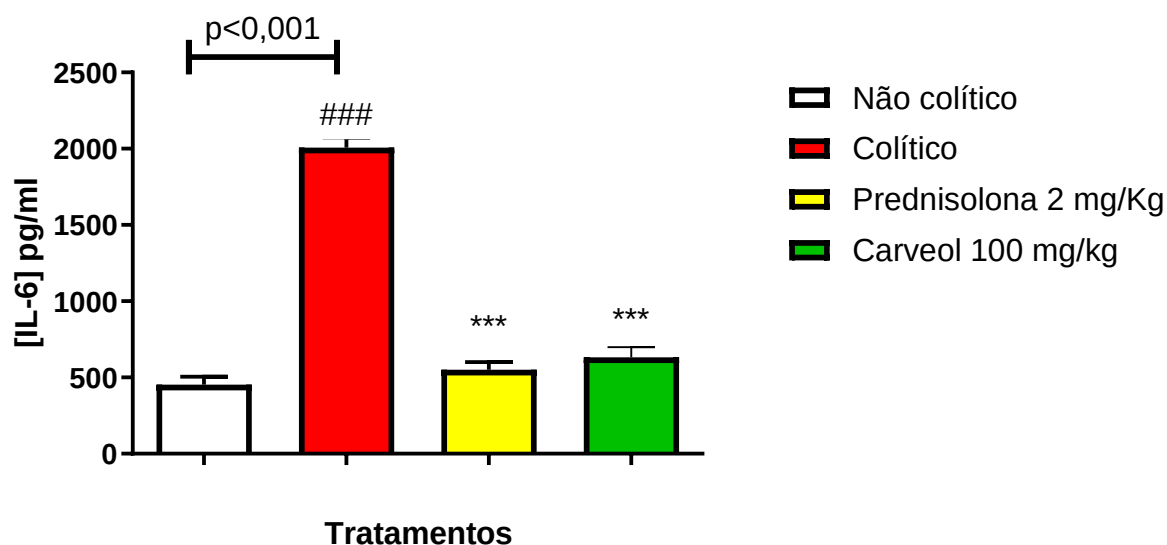


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.4.2.3 Determinação dos níveis de IL-6 em cólon de ratos

Para quantificação dos níveis da citocina pró-inflamatória IL-6 nos tecidos colônicos foi observado um aumento significativo ($p < 0,001$) dos seus níveis no grupo tratado com o veículo (Tween 80 5%) para $2008 \pm 65,88$ pg de IL-6/mL, quando comparados ao grupo não colítico ($452,3 \pm 53,72$). Os tratamentos com o carveol (100 mg/kg) diminuiu significativamente ($p < 0,001$) os níveis de IL-6 para $631,5 \pm 68,13$, assim como a prednisolona (2 mg/kg) ($551,14 \pm 48,74$), quando comparados aos seus respectivos grupos controles negativos. A análise dos dados não mostrou diferença significativa ($p < 0,01$) entre o grupo carveol em relação ao grupo prednisolona. Os resultados para esse ensaio foram expressos no gráfico 35.

Gráfico 35 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de IL-6 no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos

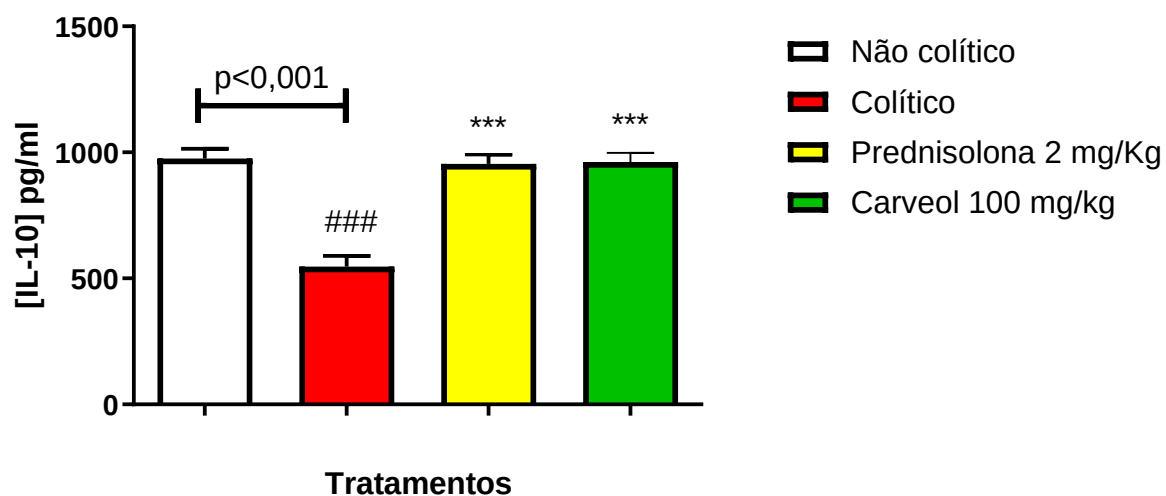


Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. *** $p < 0,001$ comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

5.4.2.4 Determinação dos níveis de IL-10 em cólon de ratos

Para quantificação dos níveis da citocina anti-inflamatória IL-10 nos tecidos colônicos foi observado uma diminuição significativa ($p < 0,001$) dos seus níveis no grupo colítico, tratado com o veículo (Tween 80 5%) para $547,4 \pm 41,44$ pg de IL-10/mL, quando comparado ao grupo não colítico ($975,9 \pm 38,17$). O tratamento com o carveol (100 mg/kg) aumentaram significativamente ($p < 0,001$) os níveis de IL-10 para $962 \pm 36,63$, assim como a prednisolona (2 mg/kg) ($953,9 \pm 38,06$), quando comparados ao grupo colítico. A análise dos dados não mostrou diferença significativa ($p < 0,01$) entre o grupo carveol em relação ao grupo prednisolona. Os resultados para esse ensaio foram expressos no gráfico 36.

Gráfico 36 - Efeito da administração oral do carveol e do lansoprazol sobre os níveis de IL-10 no tecido colônico em modelo de colite ulcerativa induzida por TNBS em ratos



Os resultados estão expressos como média $\pm$ d.p. ANOVA seguido do teste de Dunnett e Tukey. ***p < 0,001 comparado ao grupo controle negativo (Tween 80 5%) (n= 6-8).

Discussão

6 DISCUSSÃO

Os produtos naturais são substâncias químicas altamente complexas e inovadoras produzidas fauna e flora, em especial organismos sésseis como plantas e micro-organismos, e representam a principal fonte de inspiração de novos fármacos (Trivella, *et al.*, 2022). Seus constituintes ativos exercem ações nos diversos sistemas biológicos, o que revela uma promissora área para pesquisa. Os estudos com esses constituintes têm direcionado o desenvolvimento de novos medicamentos eficazes e seguros para o tratamento de vários processos patológicos (Newman; Cragg, 2016; Dzul-Beh *et al.*, 2020).

No contexto das úlceras pépticas e das doenças inflamatórias intestinais, a terapêutica utilizada é capaz de induzir e manter o doente em remissão por um determinado período, porém não modifica ou inverte o mecanismo patogênico subjacente, levando na maioria das vezes à recorrência da doença (Danese *et al.*, 2015; Marild *et al.*, 2022). A procura por outras abordagens terapêuticas é crucial para o tratamento dessas doenças e, para tal, é importante o uso de modelos animais para mimetizar suas características (Adinortey *et al.*, 2013; Jiminez *et al.*, 2015).

Em estudos anteriores conduzidos pelo nosso grupo de pesquisa foi demonstrado efeito gastroprotetor do carveol relacionado a mecanismos citoprotetores (grupamentos -SH, NO, prostaglandinas) (De Lima Serafim, *et al.*, 2021) e da hesperetina, envolvendo a participação dos grupamentos sulfidrila, mecanismos antioxidantes e anti-inflamatórios (Da Silva, 2018). Esses resultados estimularam a continuidade dos estudos com essas substâncias, agora avaliando a atividade cicatrizante gástrica, antiúlcera duodenal e atividade anti-inflamatória intestinal em modelos experimentais *in vivo*.

Diante dos resultados obtidos em estudos anteriores envolvendo a atividade gastroprotetora, a primeira etapa desse trabalho foi investigar a participação do carveol e da hesperetina no modelo experimental que mais se assemelha as úlceras gástricas no homem, o modelo de úlceras induzidas por ácido acético, pelo qual é possível avaliar dados sobre o processo de cicatrização.

Nesse modelo, após 24 horas da indução das lesões gástricas pelo ácido acético, os animais foram tratados durante 14 dias, e nesse período foi avaliado possíveis sinais de toxicidade.

Em estudos anteriores conduzidos com o carveol (De Lima Serafim, *et al.*, 2021) e a hesperetina (Da Silva, 2018) foi demonstrado a baixa toxicidade aguda e valores de DL50 aproximados de 2500 mg/kg e 2000 mg/kg, respectivamente. Buscando corroborar os estudos anteriores e ampliar as informações toxicológicas, foi avaliada a toxicidade por doses repetidas durante 14 dias com a melhor dose (100 mg/kg) dessas substâncias.

Segundo o “Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos”, os estudos de toxicidade de doses repetidas têm como objetivo caracterizar o perfil toxicológico da substância pela sua administração contínua (ANVISA, 2013). A partir deles é possível a obtenção de informações sobre os efeitos tóxicos, identificação de órgãos alvos, efeitos na fisiologia do animal, alterações hematológicas e bioquímicas, no tempo mínimo de duas semanas para estudos com roedores, e utilizando a via em que a substância será pretendida para administração em humanos (Hulley, *et al.*, 2019). Os dados de segurança obtidos nesses estudos darão suporte às fases 1, 2 e 3 da pesquisa clínica (ANVISA, 2013).

No presente estudo foram avaliados parâmetros como presença de mortalidade, variações no peso corporal e dos órgãos, consumo de ração e água, além de parâmetros bioquímicos e hematológicos.

Não foram observadas modificações macroscópicas e no peso dos órgãos avaliados (baço, fígado, coração e rins). Com relação aos dados patológicos clínicos também não houve alterações significativas nos achados bioquímicos frente à avaliação da função renal (ureia e creatinina), hepática (AST, ALT, FAL), óssea (FAL) e do metabolismo (colesterol e glicose), bem como, na avaliação hematológica para as séries vermelha e branca.

Já na avaliação do consumo de ração e água foi observado um aumento significativo nesses parâmetros tanto para os grupos tratados com o carveol quanto com a hesperetina, comparados com seus grupos controle. Esse consumo pós-tratamento com as substâncias testadas não diferiu significativamente do grupo Sham, que corresponde ao grupo experimental saudável e que não recebeu a indução da lesão.

Na avaliação ponderal do peso corpóreo, os dados encontrados corroboram com os achados da avaliação do consumo de ração, em que foi possível observar

uma diminuição do peso dos animais tratados apenas com os veículos, e a preservação desse parâmetro nos grupos tratados com o carveol e a hesperetina.

Estudos já demonstraram que após processos que induzem a inflamação no organismo, a perda de peso ocorre durante uma resposta inflamatória contínua, acompanhada de uma diminuição do funcionamento físico (Magierowski *et al.*, 2017; Viana *et al.*, 2019).

As úlceras pépticas podem causar perda significativa de peso, se assemelhando a transtornos da alimentação, acompanhada de restrição calórica severa, que pode ser agravada intensamente pela presença de outras doenças inflamatórias, como a obstrução pulmonar crônica (Laucirica *et al.*, 2023).

Os resultados encontrados na avaliação da toxicidade por doses repetidas sugerem baixa toxicidade do carveol e da hesperetina, o que corroboram os estudos de toxicidade aguda investigados pelo nosso grupo de pesquisa anteriormente. Além disso, os achados que demonstram uma preservação do peso corpóreo dos animais, a partir do tratamento por 14 dias com as substâncias testadas, indicam uma possível capacidade potencial de proteção contra a instalação do processo inflamatório crônico.

Um dos aspectos mais relevantes das úlceras pépticas é a cronicidade da doença que se caracteriza por episódios repetidos de cicatrização e reincidência (Adinortey *et al.*, 2013; Vanterpool *et al.*, 2019). Nessa perspectiva, Takagi *et al.* (1969) desenvolveu um modelo para induzir úlcera gástrica crônica em animais utilizando a injeção na subserosa do agente corrosivo ácido acético, na perspectiva de estudar o processo cicatricial das lesões por intervalos prolongados após a indução da úlcera, que foi considerada crônica devido à sua permanência durante um longo período, e por sua semelhança macroscópica e histológica com a úlcera em humanos (Takagi *et al.* 1969).

Devido à semelhança do modelo com as úlceras pépticas que acometem os humanos foi considerado adequado para uso na avaliação de agentes com potenciais efeitos pró-cicatrizantes das lesões crônicas gastrintestinais (Adinortey *et al.*, 2013). No presente estudo pode-se observar que o carveol e a hesperetina nas suas melhores doses (100 mg/kg), selecionadas a partir de estudos anteriores, aceleraram o processo de cicatrização quando tratados por 14 dias, considerando a ocorrência de uma redução significativa da área de lesão ulcerativa (ALU), quando comparada as dos grupos tratados apenas com seus respectivos veículos. Esses dados sugerem

que a restauração do epitélio promovida pelas substâncias teste, ocorre por meio da preservação da mucosa gástrica em função do aumento da proliferação celular, processo esse muito importante na reconstituição da mucosa gástrica.

Efeitos semelhantes já foram relatados na literatura para o monoterpeno 1,8-cineol e o polifenol quercetina, mostrando efeito cicatrizante da mucosa gástrica neste mesmo protocolo experimental (Suzuki *et al.*, 1998; Caldas *et al.*, 2015).

O lansoprazol, utilizado como padrão antiulcerogênico nesse estudo, é um fármaco amplamente utilizado no tratamento das úlceras pépticas, tanto por diminuir a secreção ácida gástrica, quanto por suas propriedades cicatrizantes (Kobayashi *et al.*, 2010). Seus efeitos estimuladores da cicatrização envolvem um aumento da liberação de prostaglandinas, que são capazes de induzir a atividade do fator de crescimento pró-angiogênico VEGF. Outro efeito do lansoprazol envolve o aumento da expressão da MMP-2, que é uma enzima importante na neovascularização, contribuindo para o remodelamento do epitélio após uma lesão (Kobayashi *et al.*, 2010).

Uma vez constatada atividade cicatrizante gástrica, o próximo passo desse estudo foi buscar entender os possíveis mecanismos antioxidantes envolvidos nesse efeito. Para isso, foram avaliados os marcadores do estresse oxidativo como a glutathiona reduzida (GSH), malondialdeído (MDA), a atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD) e mieloperoxidase (MPO) em tecido gástrico

As espécies reativas de oxigênio (EROs) são moléculas sinalizadoras que desempenham um papel importante na progressão dos distúrbios inflamatórios e geração da lesão tecidual. A produção de EROs por neutrófilos polimorfonucleares no sítio da inflamação não só auxiliam na depuração de patógenos e partículas estranhas, mas também levam a lesões tissulares a partir da indução do estresse oxidativo e da disfunção endotelial (Mittal *et al.*, 2014).

O aumento sustentado de EROs detectados *in vivo* tem sido relacionado à distúrbios na reparação de lesões em doenças crônicas, formando úlceras que não cicatrizam (Schafer; Werner, 2008; Dunnill *et al.*, 2017).

As EROs ainda podem induzir à liberação de citocinas pró-inflamatórias e aumentar a atividade de MMPs com modificação e/ou degradação das proteínas da matriz extracelular, bem como, o comprometimento da função fibroblástica dérmica e de queratinócitos, essenciais a cicatrização (Dunnill *et al.*, 2017; Bonamin *et al.*, 2014; Asaad; Mostaf, 2022).

Os antioxidantes fazem parte de um sistema de proteínas projetado para eliminar os efeitos deletérios das EROs, atuando por meio da doação dos seus próprios elétrons, impedindo assim a sua captura em outras moléculas importantes, como o DNA, proteínas e lipídios (Dunnill *et al.*, 2017). As enzimas antioxidantes SOD, CAT e GPx e os antioxidantes não enzimáticos, como o α -tocoferol, vitamina C, carotenoides e a glutathiona reduzida, neutralizam os níveis excessivos citotóxicos desses radicais extremamente instáveis (Nagato *et al.*, 2012; Kim *et al.*, 2020).

A glutathiona (GSH) é um tri peptídeo (L- γ -glutamil-L-cisteinilglicina), que age como um dos principais agentes antioxidantes endógenos, diretamente a partir da interação com radicais livres doando elétrons com estabilização do radical ou como aceptores de elétrons desemparelhados (Cooper *et al.*, 2018; Lushchak, 2012; Gaucher *et al.* 2018). As formas reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) da glutathiona, atuam em conjunto com outros compostos redox-ativos, a exemplo do cofator NADPH e da enzima GPx, para regular e manter o estado redox celular (Jones, 2002; Jones *et al.*, 2011; Lushchak, 2012).

A superóxido dismutase (SOD) é uma metaloproteinase que catalisa a dismutação do ânion superóxido (O_2^-), uma das principais EROs, em peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O peróxido de hidrogênio formado na reação com a SOD não é um radical livre, é um composto com forte capacidade oxidante, sendo também uma EROs. Dessa forma as enzimas catalase (CAT) e a glutathiona peroxidase (GPx), entram para eliminar esse peróxido de hidrogênio do organismo (Guo *et al.*, 2020).

Os resultados encontrados nesse estudo para o modelo de úlceras gástricas induzidas por ácido acético demonstraram uma depleção nos níveis de GSH e SOD nos grupos tratados apenas com os veículos. Entretanto, os tratamentos com doses repetidas do carveol e da hesperetina levaram a uma restauração dos níveis de GSH e SOD, trazendo suas concentrações de volta para os níveis basais.

O MDA é um subproduto da peroxidação de ácidos graxos poli-insaturados presentes nos fosfolipídios das membranas celulares. As fontes de MDA encontrados no organismo podem ser advindas dos alimentos e do dano tecidual influenciado por fatores endógenos, como a produção excessiva de EROs (Całyniuk *et al.*, 2016). Sob condições de altas e médias taxas de peroxidação lipídica a extensão do dano oxidativo ultrapassa a capacidade de reparo levando as células a sofrerem necrose e a indução da morte celular programada (Ayala *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2020).

O MDA também está relacionado a efeitos deletérios que envolvem a perda do potencial de proliferação celular, alteração da expressão gênica, heterogeneidade molecular, comprometimento da comunicação intercelular e disfunção orgânica (Niederhofer *et al.*, 2003; Całyniuk *et al.*, 2016), o que explica seu potencial citotóxico, mutagênico e cancerígeno (Całyniuk *et al.*, 2016). Assim, o MDA é um biomarcador do dano oxidativo extensivamente utilizado em muitas condições patológicas (Khoubnasabjafari *et al.*, 2015; Pérez-Rodríguez *et al.*, 2015).

Os resultados para o doseamento de MDA e MPO em fragmentos de tecido gástrico submetido às úlceras induzidas por ácido acético, mostraram que o tratamento por 14 dias com o carveol e a hesperetina diminuíram os níveis desse marcador da peroxidação lipídica. Esses resultados sugerem que esse efeito protetor associado às substâncias teste, juntamente com os achados que apontam um aumento dos níveis de GSH e SOD e uma diminuição dos níveis de MDA e MPO, pode ser atribuído a mecanismos antioxidantes. Dessa forma, o efeito cicatrizante do carveol e da hesperetina pode estar relacionado à inibição da produção de EROs com consequente diminuição da formação de lipoperóxidos, seja atuando como varredores de radicais livres e/ou estimulando a síntese de outros antioxidantes.

Um estudo com o 1,8-cineol, um monoterpene que ocorre naturalmente em muitas plantas aromáticas, mostrou atividade antiulcerogênica e cicatrizante a partir da diminuição da área das ulcerações. Esses efeitos foram relacionados a uma possível atividade antioxidante devido à diminuição dos níveis de MDA e MPO após o tratamento com o 1,8-cineol frente a lesões agudas induzidas por etanol, avaliado no mesmo estudo (Caldas *et al.*, 2015).

O (-)-mentol, outro monoterpene, também apresentou diminuição das lesões e efeito citoprotetor gástrico das úlceras induzidas por etanol *in vivo*, atividade essa relacionada a mecanismos antioxidantes, por meio do aumento dos níveis de GSH, GPx e GR, e diminuição dos níveis de MDA e MPO (Rozza *et al.*, 2014).

Alguns polifenóis também são conhecidos por possuir potentes efeitos antiulcerogênicos e cicatrizantes da mucosa gástrica associados a efeitos antioxidantes. Estudos com a quercetina demonstraram sua atividade neutralizadora do ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) e do radical hidroxil ($\bullet OH$) *in vitro* e a capacidade de diminuir as lesões gástricas induzidas por ácido acético *in vivo*, com consequente diminuição das concentrações de MDA (Suzuki *et al.*, 1998). Tais estudos corroboram a propriedade antioxidante encontrada no presente trabalho, e, dessa forma, sugerem

que a diminuição da atividade das EROs pelas substâncias teste podem ser as responsáveis por diminuir a extensão da lesão induzida pelo ácido acético, promovendo um ambiente mais favorável ao processo de cicatrização.

Após a obtenção dos resultados que apontam a atividade antioxidante promovidas pelo carveol e pela hesperetina na atividade antiulcerogênica e cicatrizante gástrica, a próxima etapa do presente estudo compreendeu investigar os efeitos desses compostos na imunomodulação, avaliando os níveis de citocinas pró- e anti-inflamatórias em amostras de estômago submetidos ao modelo de úlceras induzidas por ácido acético.

Os mecanismos de recorrência da úlcera péptica ainda não estão completamente elucidados, entretanto, fatores ulcerogênicos, tais como a infecção pela *Helicobacter pylori*, o uso contínuo de AINEs e o estresse podem aumentar a expressão de citocinas inflamatórias, e esse aumento pode desempenhar um papel fundamental no restabelecimento da lesão (Watanabe *et al.*, 2002 Viana *et al.* *al.*, 2019).

A IL-1 β , IL-6 e o TNF- α são liberadas em resposta a lesão da mucosa por macrófagos, neutrófilos e mastócitos que infiltram no tecido após o estímulo inflamatório. Esse estímulo também aumenta a expressão de genes pró- inflamatórios, que geram mais citocinas e moléculas efetoras que iniciam, sustentam e propagam a inflamação em um ciclo vicioso, e assim, desencadeiam a necrose do tecido (Moudgil; Choubey, 2011; Mayer-Barber; Yan, 2017; Mollazadeh *et al.*, 2019).

O aumento da sinalização dessas citocinas pró-inflamatórias estão relacionadas tanto ao aumento da destruição tecidual quanto a um processo de cicatrização deficiente, induzindo a recidiva da doença em um curto período de tempo (Tarnawski, 2010; Tarnawski; Ahluwalia, 2012; Liu *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2018).

Os resultados obtidos nesse trabalho mostraram que tanto o carveol quanto a hesperetina reduziram de forma significativa os níveis de IL-1 β , IL-6 e TNF- α , quando comparado aos animais dos grupos doentes (controle negativo). Esses resultados sugerem que a diminuição dessas citocinas esteja envolvida na atividade cicatrizante dos compostos testados, devido a uma diminuição na expressão de moléculas de adesão, recrutamento de neutrófilos, aumento da permeabilidade da mucosa, ativação das células imunes com subsequente inibição da liberação de outras citocinas pró-inflamatórias.

O óleo essencial obtido das partes aéreas de *Trachydium roylei* foi investigado quanto ao seu efeito cicatrizante, sendo observada uma diminuição das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α , além da diminuição dos efeitos inflamatórios do óxido nítrico e da PGE2. Esses resultados foram atribuídos aos compostos majoritários encontrados nessas espécies, os compostos aromáticos e os monoterpenos (miristicina, β -delandreneno, elemicina, isoelemicina e cedrol) (Wang *et al.*, 2016).

Os sesquiterpenos costunolide e dehidrocostuslactona (Zhang *et al.*, 2016), α -humuleno (Yeo *et al.*, 2021) e β -cariofileno (Francomano *et al.*, 2019) apresentaram efeito antiulcerogênico gástrico a partir de mecanismos anti-inflamatórios, com diminuição dos níveis de citocinas, como interleucina IL-1 β , IL-6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF α). Esses achados sugerem uma base científica para a atividade antioxidante de outra classe de terpenos.

Efeitos anti-inflamatórios também foram relatados para compostos fenólicos como limoneno (De Souza *et al.*, 2019) e carvacrol (Somensi *et al.*, 2019), os quais demonstraram efeitos imunomoduladores semelhantes aos nossos achados.

A vanilina, outro composto fenólico, também apresentou efeito antiulcerogênico gástrico associado à diminuição dos níveis de IL-1 β , IL-6 e TNF- α , bem como, redução na atividade do NF- κ B (Katary; Salahuddin, 2017).

Uma resposta inflamatória exacerbada pode dar origem a diversos distúrbios metabólicos e hemodinâmicos sistêmicos nocivos para o hospedeiro. Como resultado, o sistema imunológico desenvolveu mecanismos anti-inflamatórios paralelos que servem para limitar a inflamação e evitar o dano tecidual, assim mantendo ou restaurando a homeostase (Iyer; Cheng, 2012; Mollazadeh *et al.*, 2019). A IL-10 é uma potente citocina imunorregulatória que desempenha um papel crucial e, muitas vezes essencial na prevenção de doenças inflamatórias e autoimunes (Sabat *et al.*, 2010; Iyer; Cheng, 2012; Mollazadeh *et al.*, 2019).

Para o processo de cicatrização de lesões gástricas, a IL-10 é essencial, pois regula negativamente a síntese de citocinas e de mediadores pró-inflamatórios, que em um estado de lesão tecidual são liberados de forma sustentada. As respostas imunes excessivas sejam elas inata ou adaptativa, que não são reguladas pela IL-10, podem promover a formação de lesões extensas nas camadas tissulares do estômago, que não cicatrizam de forma efetiva (Tarnawski, 2010; Tarnawski; Ahluwalia, 2012).

Os resultados para o doseamento de IL-10 em amostras de tecido de estômagos submetidos à lesão por ácido acético mostraram uma restauração dos níveis dessa interleucina nos grupos tratados por 14 dias com o carveol e a hesperetina, apresentando valores que não diferiram estatisticamente com os do grupo Sham.

De acordo com os resultados apresentados ocorreu uma redução dos níveis das citocinas pró-inflamatórias IL-6, TNF- α e IL-1 β , enquanto, a citocina imunorregulatória IL-10 aumentou significativamente no grupo tratado com o carveol e a hesperetina. Esses resultados apontam para uma atividade imunomoduladora desses compostos, devido as suas propriedades em manter os níveis basais da citocina anti-inflamatória e diminuir os níveis das pró-inflamatórias.

Estudos posteriores devem ser realizados a fim de investigar os possíveis mecanismos específicos cicatrizantes envolvidos no efeito antiulcerogênico gástrico exercidos pelo tratamento contínuo com o carveol e a hesperetina após as lesões induzidas pelo ácido acético.

Diante dos efeitos promissores frente à atividade gastroprotetora encontrada em estudos anteriores e a atividade antiulcerogênica gástrica avaliada no presente trabalho para carveol e a hesperetina, o próximo passo desse estudo foi a avaliação da atividade antiúlcera duodenal.

A úlcera duodenal é o tipo mais prevalente de úlcera péptica na população mundial, sendo fortemente associada à infecção por *H. pylori*. Sua patogênese está relacionada a um aumento da secreção ácido-péptica e de outras proteases, juntamente com a redução dos fatores protetores da mucosa (Choi *et al.*, 2012; Adinortey *et al.*, 2013).

Para essa avaliação foi utilizado o modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina. A cisteamina (β -mercaptoetilamina) é um aminotiol de baixo peso molecular, amplamente distribuído nos organismos, sendo caracterizado como um produto natural resultante do metabolismo da coenzima A (Khomenko *et al.*, 2009; Mishra, 2019). Ela causa ulceração rápida e é um dos melhores agentes para mimetizar a úlcera duodenal aguda e crônica em modelos animais (Szabo, 1978).

Estudos demonstraram que a cisteamina reduz a biodisponibilidade da somatostatina (Szabo; Reichlin, 1981) e eleva os níveis de gastrina sérica (Lichtenberger *et al.*, 1977), o que gera um aumento na secreção ácida gástrica, resultando na diminuição da capacidade de neutralização do baixo pH no duodeno

proximal (Adler *et al.*, 1983; Mishra, 2019). Além disso, ela leva a uma diminuição dos níveis de dopamina na porção glandular do estômago e do duodeno (Szabo *et al.*, 1987), altera o esvaziamento e a motilidade gastrointestinal (Lichtenberger *et al.*, 1977; Mishra *et al.*, 2019).

O efeito citotóxico da cisteamina depende principalmente da geração de H_2O_2 na presença de metais de transição como o Fe^{3+} levando a produção de espécies altamente reativas, como os radicais hidroxil ($OH^\bullet$), por meio da reação de Fenton, o que explica o aumento na sua susceptibilidade ao estresse oxidativo nos enterócitos duodenais (Khomenko *et al.*, 2009; Mishra, 2019).

As alterações no estado redox e um decréscimo na oxigenação da mucosa duodenal são efeitos evidentes após o tratamento com a cisteamina. Isso se explica pelo fato desta induzir uma desregulação da GPx e um aumento da liberação de endotelina-1 duodenal, um potente vasoconstritor, comprometendo a perfusão sanguínea da mucosa, acompanhada de isquemia e hipóxia (Vincze *et al.*, 1996; CHOI *et al.*, 2012; MISHRA *et al.*, 2019). Além disso, Khomenko *et al.* (2006) demonstrou que a cisteamina ainda inibe o gene da resposta precoce de crescimento 1 (Egr-1), que parece desempenhar um papel crítico na ulceração duodenal devido ao fato de que sua inibição agrava a severidade das lesões, provavelmente por meio da inibição em nível transcricional da síntese do bFGF, PDGF e VEGF, fatores esses essenciais para o processo de cicatrização de lesões.

A partir do modelo de úlcera duodenal induzida por cisteamina em ratos, foi possível observar que tanto o carveol, quanto a hesperetina em todas as doses avaliadas (25, 50, 100 e 200 mg/kg) foram capazes de reduzir significativamente as lesões ulcerativas duodenais, quando comparado aos seus respectivos controles negativos, sugerindo atividade antiulcerogênica duodenal.

Efeito protetor semelhante da mucosa duodenal foi demonstrado em estudos com monoterpenos realizados com o ácido rosmarínico por Formiga *et al.*, (2021), geraniol, por De Carvalho *et al.* (2014) e β -mirceno por Bonamin *et al.* (2014), no mesmo modelo. Esses efeitos foram relacionados a uma diminuição nos níveis de MPO e aumento nos níveis de GSH.

Estudos envolvendo polifenóis também já apresentaram efeitos protetores do duodeno, neste protocolo experimental, a exemplo, do timol (30 e 100 mg/kg) (Ribeiro *et al.*, 2017), geraniol (3 mg/kg) (Venzon *et al.*, 2018) e *p*-cimeno (Formiga *et al.*, 2021).

Esses resultados foram associados a um possível aumento nas barreiras defensivas da mucosa duodenal (Magistretti *et al.*, 1988). Deshpande *et al.* (2003) também demonstrou atividade antiúlcera duodenal do extrato aquoso das raízes de *Tephrosia purpurea* (Fabaceae). Os autores associaram esse resultado a um fortalecimento da mucosa duodenal, ao aumento da secreção alcalina, bem como, pelo aumento dos níveis de prostaglandinas, possivelmente exercidos pelos polifenóis tefrosina, pongaglabol e semiglabrina, que foram identificados nessa espécie vegetal.

Dessa forma, a atividade antiúlcera duodenal mostrada nesse estudo pode estar relacionada a efeitos antioxidantes, ao reforço nos fatores de proteção da mucosa, a uma diminuição da infiltração de células envolvidas no processo inflamatório, bem como, a regulação da secreção ácida e do fluxo sanguíneo.

A produção excessiva de espécies reativas de oxigênio no tecido gástrico rompe a integridade e a permeabilidade das membranas celulares, levando à morte celular e favorecendo a formação de úlceras (Dunnill *et al.*, 2017; Dudzińska *et al.*, 2018). Nesse sentido, a atividade antioxidante foi avaliada medindo-se os níveis de GSH, SOD, MDA e MPO em amostras de tecidos gástricos.

O sistema antioxidante atua nas células da mucosa gástrica para prevenir ou minimizar a citotoxicidade promovida pelo estresse oxidativo. Esse sistema envolve a ação de enzimas como SOD e compostos com potencial para sequestrar radicais livres como GSH (Do Carmo *et al.*, 2018).

O carveol e a hesperetina, na dose de 100 mg/Kg demonstraram um efeito antioxidante aumentando os níveis de GSH e SOD e reduzindo os níveis de MDA e MPO. Assim, o efeito curativo encontrado em nosso estudo pode estar relacionado à inibição de radicais livres com consequente redução de lipoperóxidos tóxicos e/ou devido à promoção da síntese de antioxidantes endógenos para manter o estado redox celular.

Estudos anteriores com essa mesma substância também confirmam a participação do sistema antioxidante em seu mecanismo de ação nas lesões gástricas agudas (Da Silva *et al.*, 2018 e De Lima Serafim, *et al.*, 2021). A atividade encontrada no presente estudo, corroboram a estudos anteriores realizados com o 1,8-cineol (Rocha Caldas *et al.*, 2015), timol (Ribeiro *et al.*, 2016) e limoneno (De Souza *et al.*, 2019) que demonstraram aumentar a atividade antioxidante. A atividade antioxidante encontrada no presente trabalho inferir que a diminuição da atividade da EROs pelo

carveol e a hesperetina pode ser responsável por prevenir a lesão induzida pela cisteamina.

Diante da segurança obtida pelas avaliações toxicológicas e dos resultados da avaliação da atividade cicatrizante gástrica e antiúlcera duodenal do carveol e da hesperetina, o próximo passo do trabalho foi avaliar os seus possíveis efeitos anti-inflamatórios intestinais. Para isso, foi utilizado o modelo agudo de colite ulcerativa induzida pelo ácido 2-4-6-trinitrobenzil sulfônico (TNBS).

Os modelos animais que estudam as doenças inflamatórias intestinais podem envolver diversas técnicas experimentais, como a manipulação genética, ou seja, de forma transgênica ou seletiva de um gene (*knockout*), a indução por infecções (*Citrobacter rodentium* e *Salmonella typhimurium*), além dos modelos químicos (dextranas e haptenos) (OH *et al.*, 2014; Morampudi *et al.*, 2014; Kiesler *et al.*, 2015). Um bom exemplo de modelo que estimula a resposta imunológica quimicamente é o de colite ulcerativa induzida pelo TNBS, que é capaz de mimetizar os eventos inflamatórios em humanos a partir da indução da reatividade de células T (Soo-Youn *Et Al.*, 2014; Antoniou *et al.*, 2016).

O modelo emprega a administração intrarretal do agente sensibilizador da mucosa, o hapteno TNBS, solubilizado em diferentes concentrações de etanol (45 a 50%). O emprego do etanol é necessário para promover uma ruptura da barreira protetora de muco colônica, permitindo a penetração do hapteno na lâmina própria. O TNBS vai se ligar as proteínas/peptídeos próprios ou microbianos, tornando-os imunogênicos, e desencadeando as respostas imunes inatas e adaptativas no hospedeiro (Morris *et al.*, 1989; Wirtz *et al.*, 2007; OH *et al.*, 2014; Antoniou *et al.*, 2016).

Uma única administração do TNBS leva ao desenvolvimento de uma resposta imune mediada por células que refletem um fenótipo TH1 e TH17 da inflamação (Elson *et al.*, 1995; Antoniou *et al.*, 2016; Yamada *et al.*, 2016). Isso se dá a partir do reconhecimento de células dendríticas ou macrófagos (células APCs profissionais), que internalizam o TNBS, processam e o expõe por meio do MHC classe II, apresentando o antígeno às células T CD4+. Com isso as células APCs liberam grandes quantidades de IL-12 nesse microambiente, induzindo a polarização para o fenótipo TH1 (Weltzien *et al.*, 2013; Erkes; Selvan, 2014). As células TH1 por sua vez expressam em particular uma citocina que está associada aos efeitos inflamatórios da Doença de Crohn, o IFN- γ (Strober; Fuss, 2011), que induz a resposta de macrófagos

a produzirem outras citocinas pró-inflamatórias, a exemplo do TNF- α , IL-1 β e IL-6 (Strober *et al.* 1998; Bastos *et al.*, 2007; Ishiguro *et al.* 2010; Szalay *et al.*, 2012).

Alternativamente, a IL-23 serve como fator da manutenção das células TH17 e induz células linfoides inatas produtoras de IL-17. Estudos já demonstraram um papel proeminente desse subtipo de células T na patogênese da colite induzida por TNBS. Especificamente, a ausência do receptor IL-17R torna animais experimentais resistentes à indução da colite por este hapteno (Antoniou *et al.*, 2016).

A colite induzida por TNBS é um modelo animal comum, que apesar de compartilhar propriedades significativas com a doença de Crohn, seus efeitos histopatológicos, bioquímicos e clínicos das lesões intestinais mimetizam as características da colite ulcerativa em seres humanos. As vantagens de seu uso incluem a reprodutibilidade, a simplicidade na técnica e o baixo custo (Silva *et al.*, 2022).

Dessa forma, esse modelo continua como uma ferramenta poderosa no estudo da imunopatogênese das DIIs e para avaliar a atividade de possíveis candidatos para o tratamento da doença (Randhawa *et al.*, 2014; Kiesler *et al.*, 2015; Antoniou *et al.*, 2016). Segundo Silva *et al.* (2022), o modelo de colite induzida por TNBS se configura como um protocolo apropriado para estudar processos biológicos específicos das DIIs. Esse modelo é capaz de fornecer dados endoscópicos, histológicos, de alterações da expressão gênica após variados períodos, com dados transcriptômicos das mucosas de animais e humanos que se assemelham entre si.

A prednisolona é um fármaco que pertence à classe dos corticoides e foi utilizado como substância padrão neste estudo devido ao seu uso na clínica para o tratamento das DIIs (Hanauer, 2002; Martínez-Montiel *et al.*, 2015). Os corticoides possuem atividade anti-inflamatória por meio da inibição da produção de mediadores inflamatórios e da transcrição de citocinas pró-inflamatórias. Além disso, eles interferem no recrutamento de células imunes e na expressão de moléculas de adesão, diminuindo a migração celular para o tecido inflamado (Sales-Campos *et al.*, 2015).

Os resultados para esse estudo demonstraram atividade anti-inflamatória intestinal para o carveol e a hesperetina, devido a uma diminuição de todos os parâmetros inflamatórios avaliados, como o escore macroscópico da lesão, a área da lesão, a relação peso/comprimento e a diarreia, quando comparados aos seus respectivos grupos controle. Esses resultados estão relacionados a uma diminuição

da migração de células inflamatórias e consequente diminuição da liberação de EROs, bem como devido a efeitos imunorregulatórios. Efeitos semelhantes foram encontrados para o monoterpeneo 1,8-cineol e para o polifenol eupatilina no mesmo modelo (Santos *et al.*, 2004; Joo *et al.*, 2015).

A relação peso/comprimento é um parâmetro de avaliação do efeito inflamatório, em que o aumento dessa relação nos tecidos colônicos está associado ao respectivo aumento do edema, um dos primeiros marcadores da inflamação (Wright *et al.*, 2010; Masoodi *et al.*, 2011; Jones *et al.*, 2016).

Os resultados para esse modelo demonstraram que o carveol e a hesperetina diminuíram a relação peso/comprimento quando comparado aos seus respectivos grupos controles. Esses dados também estão refletidos nos outros parâmetros avaliados, já que essas substâncias foram capazes de diminuir a severidade e extensão das lesões, o que aponta um efeito protetor da mucosa intestinal contra as ulcerações induzidas pela inflamação.

A diarreia também é um parâmetro de avaliação importante no efeito anti-inflamatório intestinal, uma vez que o seu aumento indica perda da capacidade absorptiva do cólon (Binder, 2009; Orsi *et al.*, 2014). Além disso, relatos na literatura demonstram uma associação entre diarreia e disfunção da barreira epitelial, por meio de falhas na integridade das junções comunicantes (Barmeyer *et al.*, 2017).

Dessa forma, pode-se sugerir que ambos carveol e a hesperetina promovem uma restauração da habilidade absorptiva intestinal, que pode estar relacionada a um aumento na absorção e possivelmente contribui para um fortalecimento das junções comunicantes.

Os neutrófilos apresentam papel efetivo na defesa contra bactérias, (Jones *et al.*, 2016), entretanto, diferentes estudos têm atribuído um papel patogênico dessas células às DIIs (Wright *et al.*, 2010; Masoodi *et al.*, 2011). A ativação neutrofílica promove sua migração para mucosa e submucosa durante o processo inflamatório, levando ao acúmulo de radicais livres e a liberação da enzima mieloperoxidase (MPO) (Jones *et al.*, 2016; Selders *et al.*, 2017).

A MPO é secretada abundantemente por neutrófilos e estocada em grânulos azurófilos citoplasmáticos. Entretanto, também podem ser secretadas em menor quantidade por monócitos e macrófagos (Fournier; Parkos, 2012). Um dos efeitos principais da MPO e do seu produto final, o ácido hipocloroso, é a ativação das metaloproteinases de matriz (MMPs) e desativação dos inibidores de

metaloproteinases (TIMPs), que promovem o enfraquecimento da camada fibrosa ocasionando a desestruturação do tecido epitelial intestinal (Karakas; Koenig, 2012; Fournier; Parkos, 2012; Perez *et al.*, 2017).

Tanto o carveol quanto a hesperetina foram capazes de diminuir os níveis de MPO, o marcador da infiltração neutrofílica, quando comparados aos grupos tratados apenas com os seus veículos. Esses resultados podem ser atribuídos a um efeito imunorregulador e uma diminuição da expressão de moléculas de adesão, que dificultam a chegada dessas células para o sítio inflamado.

Os metabólitos secundários da classe dos ácidos fenólicos, como a paeoniflorina, cinamaldeído e dos monoterpenos, como o geraniol, em estudos da avaliação da atividade anti-inflamatória intestinal, tanto no modelo de colite induzida por dextranas quanto por TNBS, demonstraram efeitos protetores do tecido colônico relacionados à diminuição da atividade da MPO (Dou *et al.*, 2013; Medicherla *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2022).

As doenças inflamatórias intestinais tanto em humanos como em modelos animais são caracterizadas pela ativação de polimorfonucleares, que ocasionam a exacerbação nos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) e geram o estresse oxidativo (Matricon *et al.*, 2010; Akanda *et al.*, 2018). Diante dessa premissa, o próximo passo do presente estudo foi investigar se o efeito anti-inflamatório intestinal do carveol e da hesperetina estão relacionados com sua capacidade antioxidante.

O modelo de indução de colite por TNBS é bem conhecido pela redução dos níveis de glutathione nos tecidos do cólon de animais experimentais, que refletem o aumento exacerbado de EROs (Ardite *et al.*, 2000; Witaicenis *et al.*, 2012). Além disso, a depleção dos níveis de GSH também ocorre em seres humanos acometidos com DIIs, principalmente nas camadas musculares (Moura *et al.*, 2015). Evidências clínicas e experimentais sugerem que a depleção de GSH tecidual leva ao aumento de MDA, o principal marcador da lipoperoxidação (Moura *et al.*, 2015; Balmus *et al.*, 2016).

Os resultados dessa avaliação demonstraram que ambas as substâncias foram capazes de aumentar os níveis de GSH e diminuir os níveis de MDA, quando comparados aos seus grupos controles. Esses dados demonstram mais uma vez que o carveol e a hesperetina são detentores de efeito antioxidante, e que tal propriedade contribui para o efeito anti-inflamatório intestinal no modelo avaliado.

O monoterpeno 1,8-cineol (eucaliptol) na fase aguda da inflamação intestinal induzida pelo TNBS demonstrou a restauração dos níveis de GSH tanto em condições

de pré- e pós-tratamento, inclusive na mesma dose utilizada para o monoterpreno avaliado no presente estudo, o carveol (100 mg/kg) (Santos *et al.*, 2004). Já o pré-tratamento por 5 dias com o polifenol resveratrol no mesmo modelo, apresentou efeito protetor do cólon, com diminuição dos escores da lesão, associado a mecanismos antioxidantes que envolveram um aumento no nível de GSH e diminuição dos níveis de MDA (Yildiz *et al.*, 2015).

Uma desregulação na produção e regulação de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β , TNF- α e a IL-6 também têm sido implicadas na patogênese das DIIs, mostrando seu importante papel nos eventos inflamatórios intestinais. Elas estão associadas a sintomas clínicos, tais como a diarreia e manifestações extraintestinais, como artropatias e o eritema nodoso (Strober; Fuss, 2011; Neurath, 2014; Guan; Zhang, 2017).

A IL-1 β em indivíduos com doença de Cronh e colite ulcerativa, bem como, em modelos de inflamação intestinal em animais, pode alterar a permeabilidade do epitélio e facilitar a infiltração de células inflamatórias contribuindo para o dano tecidual. Além disso, essa citocina pode mediar a inflamação intestinal crônica promovendo a acumulação de células linfoides inatas secretoras de IL-17A e células Th17 CD4⁺ (Coccia *et al.*, 2012; Vounotrypidis *et al.*, 2013).

O TNF- α é outra citocina que possui um importante papel nas DIIs, sendo responsável pela ativação da via NF κ B (Sands; Kaplan, 2007; Akanda *et al.*, 2018) e pela regulação das interações de leucócitos com o endotélio vascular, promovendo a inflamação tecidual colônica via aumento na expressão de moléculas de adesão, o que permite a infiltração celular para o sítio da inflamação (Strober; Fuss, 2011; Neurath, 2014). Além disso, essa citocina tem sido um alvo potencial para tratamento das DIIs (Arora; Shen, 2015), sendo grande parte dos agentes imunobiológicos propostos para neutralizar as ações desse mediador inflamatório (Amiot Peyrin-Biroulet, 2015).

A IL-10 é responsável por regular os eventos da inflamação intestinal suprimindo a sinalização das citocinas IL-12, IL-6, IL-1 e TNF- α de macrófagos ativados e bloqueando a habilidade dessas células de estimularem a produção de INF- γ pelas células TH1 (Marlow; Van Gent; Fergusson, 2013; Yamada *et al.*, 2016; Ahluwalia *et al.*, 2018). Polimorfismos no receptor de IL-10 têm sido associados com a colite ulcerativa, que pode se apresentar na primeira infância e entrar em remissão ao longo da vida adulta, com a falta de resposta ao tratamento padrão, incluindo a

terapia imunossupressora e doença perianal grave com abscessos e fístulas. Ulcerações, granulomas e a diarreia sanguinolenta também estão associadas à desregulação da IL-10, bem como polimorfismo em seu receptor (Engelhardt, Grimbacher, 2014).

Os resultados da avaliação do tratamento com o carveol sobre os níveis de citocinas pró e anti-inflamatórias demonstrou que ambas as substâncias são capazes de diminuir os níveis de IL-1 β e TNF- α e trazer os níveis da IL-10 para os níveis basais nos tecidos colônicos submetidos à inflamação pela administração intrarretal do TNBS. Esses achados apontam para um efeito imunomodulador, que pode ser atribuído a um mecanismo compensatório frente à injúria colônica, possivelmente desempenhando um papel central na redução da inflamação da mucosa e impedindo-a de se tornar descontrolada. Este estudo corrobora a literatura descrita por Choi e colaboradores (2010) e Zeng *et al.*, (2020) que estudaram Metileugenol e o ácido clorogênico (CGA), respectivamente, e demonstraram que seu efeito anti-inflamatório intestinal está relacionado ao aumento da expressão de IL-10 e diminuição das concentrações de TNF- α .

D'Alessio *et al.* (2013) conduziu um estudo com o monoterpeno d-limoneno utilizando o modelo de colite induzida por TNBS e demonstrou que seu efeito anti-inflamatório intestinal está relacionado a diminuição significativa das concentrações séricas de TNF- α . Esse efeito ainda foi correlacionado com a inibição da translocação NF κ B induzida em culturas de fibroblastos. Estudos com o geraniol, um outro monoterpeno, também já demonstrou uma diminuição das citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-6 em condições inflamatórias intestinais induzidas por haptenos (Medicherla *et al.*, 2015).

O polifenol paeoniflorina encontrado na espécie *Paeonia lactiflora* Pall, em um estudo que determinou sua atividade anti-inflamatória intestinal também já apresentou efeito imunomodulador com diminuição dos níveis de TNF- α e IL- 6. Esses achados foram correlacionados com uma diminuição da atividade das proteínas ERK, JNK e p38 MAPK via ativação do receptor *Toll-like* 4 (TLR4) (Dou *et al.*, 2013). Já o composto fenólico flavonoide liquiritigenina também no modelo de colite induzida por TNBS apresentou um aumento na expressão de IL-10, o que refletiu na diminuição da ação de citocinas pró-inflamatórias (Min *et al.*, 2015).

Esses achados ajudam a explicar os resultados obtidos com o carveol, que à medida que modulam positivamente os níveis de IL-10, levam a uma regulação negativa da ação das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α .

Diante do efeito antioxidante e imunorregulatório relacionado à atividade anti-inflamatória intestinal promovida pelo carveol, estudos posteriores devem ser conduzidos a fim de investigar uma possível atividade citoprotetora frente à avaliação de componentes responsáveis pela manutenção da barreira intestinal.

Dessa forma, nossos dados demonstraram que o carveol e a hesperetina possuem atividade cicatrizante gástrica e atividade anti-úlceras duodenal. Os mecanismos curativos parecem ser decorrentes da redução do estresse oxidativo (aumento de GSH e SOD com redução de MDA e MPO) e imunomoduladores (redução de TNF- α , IL-1 β , IL-6 e aumento dos níveis de IL-10). Esses resultados são acompanhados pela segurança de sua administração avaliada em um tratamento de 14 dias.

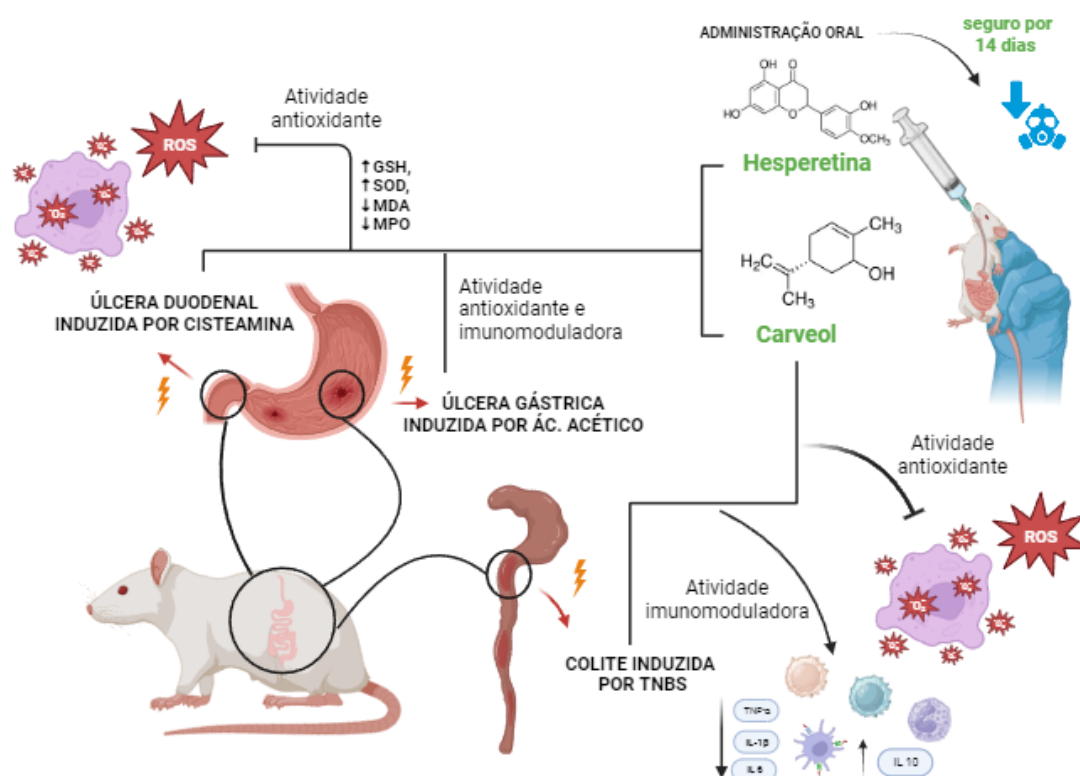
Além disso, o monoterpeneo carveol possui atividade anti-inflamatória intestinal relacionada a atividade antioxidante (aumento de GSH e SOD com redução de MDA e MPO) e imunomoduladora (redução de IL-6, TNF- α e IL-1 β , e aumento de IL-10, e que possivelmente essa atividade está relacionada a mecanismos citoprotetores. Portanto, estes resultados sugerem um potencial uso desta substância para o tratamento da úlcera e inflamação intestinal.

Considerações Finais

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da análise dos resultados obtidos para o carveol e para a hesperetina, frente a modelos que mimetizam a úlcera gástrica, duodenal e a colite ulcerativa, é possível concluir que:

- O carveol e a hesperetina possuem baixa toxicidade por doses repetidas durante 14 dias a partir do modelo de úlceras gástricas induzidas por ácido acético;
- O carveol e a hesperetina possuem atividade cicatrizante gástrica relacionada a mecanismos antioxidantes (restauração dos níveis de GSH e SOD e diminuição dos níveis de MDA e MPO) e imunomoduladores (diminuição dos níveis de IL-1 β , IL-6 e TNF- α e aumento de IL-10);
- O carveol e a hesperetina possuem atividade antiúlcera duodenal relacionada a mecanismos antioxidantes (restauração dos níveis de GSH e SOD e diminuição dos níveis de MDA e MPO);
- O carveol possui atividade anti-inflamatória intestinal relacionada a mecanismos antioxidantes (restauração dos níveis de GSH e SOD e diminuição dos níveis de MDA e MPO) e imunomoduladores (diminuição dos níveis de IL-1 β , IL-6 e TNF- α e aumento de IL-10).



Perspectivas futuras

8 PERSPECTIVAS FUTURAS

Considerando os resultados promissores encontrados para a atividade antiulcerogênica do carveol e da hesperetina, anti-inflamatório intestinal do carveol faz-se necessário investigar outros mecanismos de ação envolvidos nesse efeito farmacológico, como:

- ❖ Investigar os fatores envolvidos no processo de cicatrização da úlcera gástrica induzida por ácido acético;
- ❖ Análise histológica e imunohistoquímica dos cortes da mucosa gástrica para avaliar possíveis indutores da proliferação celular, angiogênese, do remodelamento da matriz extracelular e citoprotetores da barreira intestinal (cortes de tecido colônico)

Além disso, investigar o efeito da hesperetina nas doenças inflamatórias intestinais em modelo de colite ulcerativa aguda em ratos e estudar o efeito anti-inflamatório intestinal do carveol e da hesperetina em modelo que mimetiza a recidiva da retocolite ulcerativa:

- ❖ Realizar uma análise dos mecanismos ciprotesores da barreira intestinal (camada de muco e junções comunicantes).

A partir destes modelos, os tecidos retirados de cada protocolo específico serão utilizados para:

- ❖ Analisar por histologia e imunohistoquímica os estômagos, duodenos e cólons;
- ❖ Avaliar uma possível atividade antioxidante;
- ❖ Verificar o efeito sobre a produção de citocinas pró e anti-inflamatórias

Referências

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, C., ABREU, M. T., TURNER, J. R. Pattern Recognition Receptor Signaling and Cytokine Networks in Microbial Defenses and Regulation of Intestinal Barriers: Implications for Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology**, v. 162, p. 1602-1616, 2022.
- ADINORTEY, M. B. *et al.* In Vivo Models Used for Evaluation of Potential Antigastroduodenal Ulcer Agents. **Ulcers**, v. 2013, p. 1–12, 2013.
- ADLER, R. S., GALLAGHER, G.T., SZABO, S. Duodenal ulcerogens cysteamine and propionitrile decrease duodenal neutralization of acid in the rat. **Dig Dis Sci**, v. 28, n. 8, p. 716–723, 1983.
- AGRAWAL, M.; COLOMBEL, J. F. Treat-to-target in inflammatory bowel diseases, what is the target and how do we treat?. **Gastrointestinal Endoscopy Clinics**, v. 29, n. 3, p. 421-436, 2019.
- AHLUWALIA, B. *et al.* Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. **Scand J Gastroenterol** 53(4), 379-389, 2018.
- AHMAD, A. A. *et al.* Peptic ulcer: Current prospects of diagnostic and nanobiotechnological trends on pathogenicity. **Process Biochemistry**, v. 85, 51-59, 2019.
- AHN, K. The worldwide trend of using botanical drugs and strategies for developing global drugs. **BMB reports** v. 50, n. 3, p. 111–116, 2017.
- AKANDA, Md Rashedunnabi *et al.* Anti-inflammatory and gastroprotective roles of *rabdosia inflexa* through downregulation of pro-inflammatory cytokines and MAPK/NF- κ B signaling pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 2, p. 584, 2018.
- ALHARBI, R. S. *et al.* Genetic association study of NOD2 and IL23R amino acid substitution polymorphisms in Saudi Inflammatory Bowel Disease patients. **Journal of King Saud University – Science**. v. 34, 2022.
- ÁLVAREZ, J. *et al.*, de PIPAON, M. S., & SANZ, Y. (2021). Gut microbes and health. **Gastroenterología y Hepatología**, 44(7), 519-535.
- AMIOT, A.; PEYRIN-BIROULET, L.. Current, new and future biological agents on the horizon for the treatment of inflammatory bowel diseases. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, v. 8, n. 2, p. 66-82, 2015.
- ANANTHAKRISHNAN, A. N. *et al.* Lifestyle, behaviour, and environmental modification for the management of patients with inflammatory bowel diseases: an International Organization for Study of Inflammatory Bowel Diseases consensus. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, v. 7, p. 666-678, 2022.

ANANTHAKRISHNAN, A. N.; XAVIER, R. J. Gastrointestinal diseases. In: **Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases**. Elsevier, p. 16-26, 2020.

ANNAHÁZI, A.; MOLNÁR, T. Optimal Endpoint of Therapy in IBD: An Update on Factors Determining a Successful Drug Withdrawal. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2015, 2015.

ANTONIOU, E. *et al.* The TNBS-induced colitis animal model: An overview. **Annals of Medicine and Surgery**, v. 11, p. 9–15, 2016.

ANVISA. Guia para a Condução de Estudos Não Clínicos de Toxicologia e Segurança Farmacológica Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos, 2013.

ARANGANATHAN, S.; NALINI, N. Efficacy of the potential chemopreventive agent, hesperetin (citrus flavanone), on 1,2-dimethylhydrazine induced colon carcinogenesis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 10, p. 2594–2600, 2009.

ARDITE, E. *et al.* Replenishment of glutathione levels improves mucosal function in experimental acute colitis. Laboratory investigation; **Journal of technical methods and pathology**, v. 80, n. 5, p. 735–744, 2000.

ARORA, Z.; SHEN, B.. Biological therapy for ulcerative colitis. **Gastroenterology report**, v. 3, n. 2, p. 103-109, 2015.

ASAAD, G. F.; MOSTAFA, R. E. Lactoferrin mitigates ethanol-induced gastric ulcer via modulation of ROS/ICAM-1/Nrf2 signaling pathway in Wistar rats. **Iran J Basic Med Sci**. V. 12, p. 1522-1527, 2022.

ASAKURA, H.; KITAHORA, T. Antioxidants and polyphenols in inflammatory bowel disease: ulcerative colitis and Crohn disease. In: **Polyphenols: prevention and treatment of human disease**. Academic Press, p. 279-292, 2018.

ASHFORD, M. Gastrointestinal tract–physiology and drug absorption. **Aulton's Pharmaceutics E-Book: The Design and Manufacture of Medicines**, p. 300, 2017.

ASWANI-OMPRAKASH, T.; SHAH, N. D. Sociocultural Considerations for Food-Related Quality of Life in Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology Clinics**, v. 51, n. 4, p. 885-895, 2022.

ATHAYDES, B. R. *et al.* NU. Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) prevents indomethacin-induced gastric ulcer in mice. **Food Research International**, 2018.

AXELRAD, J. E.; FAYE, A. S.; HOLMER, A. K. Cancer in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology Clinics**, v. 51, n. 3, p. 649-666, 2022.

AYALA, A.; MUNOZ, M. F.; ARGUELLES, S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanism of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxide Med Cell Longev**, v. 2014, 2014.

- AZIZ, R. S. *et al.* Oxyresveratrol ameliorates ethanol-induced gastric ulcer via downregulation of IL-6, TNF- α , NF- κ B, and COX-2 levels, and upregulation of TFF-2 levels. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 110, 554–560, 2019.
- BAANANOU, S. *et al.* Extraction of the volatile oil from *Carum carvi* of Tunisia and Lithuania by supercritical carbon dioxide: chemical composition and antiulcerogenic activity. **Natural Product Research**, v. 27, n. 22, p. 2132–2136, 2013.
- BAI, X. *et al.* Changes in MMP-2, MMP-9, inflammation, blood coagulation and intestinal mucosal permeability in patients with active ulcerative colitis. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 20, n. 1, p. 269-274, 2020.
- BALMUS, I. *et al.* The implications of oxidative stress and antioxidant therapies in Inflammatory Bowel Disease: Clinical aspects and animal models. **Saudi Journal of Gastroenterology**, v. 22, n. 1, p. 3, 2016.
- BAMOLA, V. Deepak *et al.* Role of a probiotic strain in the modulation of gut microbiota and cytokines in inflammatory bowel disease. **Anaerobe**, v. 78, p. 102652, 2022.
- BARAZANDEH *et al.* Epidemiology of peptic ulcer disease: endoscopic results of a systematic investigation in iran. Middle East **Journal of Digestive Diseases**, v. 4 (2), p. 90, 2012.
- BARBOSA, H. Abordagem fitoquímica de metabólitos secundários em *Solanum acanthodes* (SOLANACEAE) HOOK. **Journal of Basic Education**, v. 4, n. 1, p. 30-41, 2017.
- BARBOSA, L. C. S. Morfoanatomia e fitoquímica de *Cymbopogon densiflorus* (Steud.) Stapf e *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle (Poaceae: Panicoideae). **Revista de Biologia Neotropical/Journal of Neotropical Biology**, v. 4, n. 1, p. 80-81, 2007.
- BARMEYER, C.; FROMM, M.; SCHULZKE, J. D. Active and passive involvement of claudins in the pathophysiology of intestinal inflammatory diseases. **Pflügers Archiv-European Journal of Physiology**, v. 469, p. 15-26, 2017.
- BASTOS, K. R. B. *et al.* Role of Endogenous IFN- γ in Macrophage Programming Induced by IL-12 and IL-18. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 27, n. 5, p. 399–410, 2007.
- BAUMGART, D. C.; SANDBORN, W. J. Crohn's disease. **The Lancet**, v. 380, n. 9853, p. 1590–1605, 2012.
- BEAUMONT, Martin *et al.* Detrimental effects for colonocytes of an increased exposure to luminal hydrogen sulfide: the adaptive response. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 93, p. 155-164, 2016.
- BEIRANVAND, M. A review of the most common in vivo models of stomach ulcers and natural and synthetic anti-ulcer compounds: A comparative systematic study. **Phytomedicine Plus**. v. 2, 2022.

BELL, C. J.; GALL, D. G.; WALLACE, J. L. (1995). Disruption of colonic electrolyte transport in experimental colitis. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, vol. 268 no.4, pp. G622-G630.

BINDER, H. J. Mechanisms of diarrhea in inflammatory bowel diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1165, p. 285–293, 2009.

BJARNASON, I. *et al.* Mechanisms of Damage to the Gastrointestinal Tract From Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. **Gastroenterology**, Feb; v. 154, p. 500-514, 2018.

BOEING, T. *et al.* Antiulcer mechanisms of *Vernonia condensata* Baker: A medicinal plant used in the treatment of gastritis and gastric ulcer. **Journal of ethnopharmacology**, v. 184, p. 196–207, 2016.

BONAMIN, F. *et al.* The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: The role of β -myrcene in preventing peptic ulcer disease. **Chem Biol Interact**. V. 212, p. 11–19, 2014.

BOURGONJE, A. R. *et al.* Personalized redox medicine in inflammatory bowel diseases: an emerging role for HIF-1 α and NRF2 as therapeutic targets. **Redox Biology**, p. 102603, 2023.

BOUTEMINE, I. *et al.* Gastroprotective, therapeutic and anti-inflammatory activities of *Pistacia lentiscus* L. fatty oil against ethanol-induced gastric ulcers in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 2018.

BROWN, G. C. The endotoxin hypothesis of neurodegeneration. **J. Neuroinflammation**, v.16, n. 1, 180, 2019.

BROWNLEE, I. The impact of dietary fibre intake on the physiology and health of the stomach and upper gastrointestinal tract. v. 4, p. 155–169, 2014.

BRUNTON, L. L. *Bases Farmacologicas Da Terapeutica De Goodman E Gilman*. Artmed, ed. 13a, 2018.

BURCELIN, R. *et al.* Implication des bactéries orales et intestinales dans le décours des maladies cardio-métaboliques et du diabète de type 2. Role of buccal and intestinal microbiota in the ontology of cardiometabolic diseases and type 2 diabetes. **Médecine des Maladies Métaboliques**. v. 16, n. 2, 121-133, 2022.

CALYNIUK, B. *et al.* Malondialdehyde (MDA) - product of lipid peroxidation as marker of homeostasis disorders and aging. **Annales Academiae Medicae Silesiensis**, v. 70, p. 224–228, 2016.

CAMPBELL, I. The mouth, stomach and intestines. **Anaesthesia & Intensive Care Medicine**, v. 16, n. 1, p. 37–39, 2015.

CARDOSO-TEIXEIRA, A. C., *et al.* Hydroxyl group and vasorelaxant effects of perillyl alcohol, carveol, limonene on aorta smooth muscle of rats. **Molecules**, v. 23, n. 6, p. 1–13, 2018.

CHAN, F. K. L *et al.* Gastrointestinal safety of celecoxib versus naproxen in patients with cardiothrombotic diseases and arthritis after upper gastrointestinal bleeding (CONCERN): an industry-independent, double-blind, double-dummy, randomised trial. **The Lancet**, v. 389, n. 10087, p. 2375-2382, 2017.

CHANET, A. *et al.* Flavanone metabolites decrease monocyte adhesion to TNF α -activated endothelial cells by modulating expression of atherosclerosis-related genes. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 4, p. 587–598, 2013.

CHANG, J. T. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Diseases. **N. Engl. J. Med.** 383, 2652–2664. 2020.

CHEN, B. *et al.* Inflammatory Bowel Disease and Cardiovascular Diseases. **The American Journal of Medicine**. v. 135, p. 1453-1460, 2022.

CHEN, D. *et al.* Depression and risk of gastrointestinal disorders: a comprehensive two-sample Mendelian randomization study of European ancestry. **Psychological Medicine**, p. 1-13, 2023.

CHEN, S. *et al.* Targeting myeloperoxidase (MPO) mediated oxidative stress and inflammation for reducing brain ischemia injury: Potential application of natural compounds. **Front Physiol**. V. 11, p. 1–16, 2020.

CHEN, Y. C.; SHEN, S. C.; LIN, H. Y. Rutinoside at C7 attenuates the apoptosis-inducing activity of flavonoids. **Biochemical Pharmacology**, v. 66, n. 7, p. 1139–1150, 2003.

CHENG, Y. *et al.* Targeting uPA-uPAR interaction to improve intestinal epithelial barrier integrity in inflammatory bowel disease. **eBioMedicine**, v. 75, 2022.

CHOI, J. *et al.* Paradoxical effects of constitutive human IL-32 γ in transgenic mice during experimental colitis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 49, p. 21082-21086, 2010.

CHOI, K.-S. *et al.* Attenuation of cysteamine-induced duodenal ulcer with *Cochinchina momordica* seed extract through inhibiting cytoplasmic phospholipase A2/5-lipoxygenase and activating γ -glutamylcysteine synthetase. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 27, p. 13-22, 2012.

CLARKE, K. *et al.*, Indications for the Use of Proton Pump Inhibitors for Stress Ulcer Prophylaxis and Peptic Ulcer Bleeding in Hospitalized Patients. **The American Journal of Medicine**. v. 135, 313-317, 2022.

COCCIA, M. *et al.* IL-1 β mediates chronic intestinal inflammation by promoting the accumulation of IL-17A secreting innate lymphoid cells and CD4+ Th17 cells. **Journal of Experimental Medicine**, v. 209, n. 9, p. 1595-1609, 2012.

COOPER, A. J. L.; HANIGAN, M. H. Metabolism of glutathione S-conjugates: multiple pathways. **Comprehensive toxicology**, p. 363, 2018.

CORRIDONI, D.; ARSENEAU, K. O.; COMINELLI, F. Inflammatory bowel disease. **Immunology Letters**, v. 161, p. 231-235, 2014.

COSKUN, M. *et al.* Pharmacology and optimization of thiopurines and methotrexate in inflammatory bowel disease. **Clinical pharmacokinetics**, v. 55, p. 257-274, 2016.

CROWELL, P. L. *et al.* Identification of metabolites of the antitumor agent d-limonene capable of inhibiting protein isoprenylation and cell growth. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v. 31, p. 205-212, 1992.

D'ALESSIO, P. A. *et al.* Oral administration of d-Limonene controls inflammation in rat colitis and displays anti-inflammatory properties as diet supplementation in humans. **Life Sciences**, v. 92, n. 24–26, p. 1151–1156, 2013.

DA LUZ *et al.* Effectiveness of the polyphenols-rich *Sedum dendroideum* infusion on gastric ulcer healing in rats: Roles of protective endogenous factors and antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 278, 2021.

DA SILVA, D. M. *et al.* Effect of allantoin on experimentally induced gastric ulcers: Pathways of gastroprotection. **European journal of pharmacology**, v. 821, p. 68-78, 2018.

DA SILVA, F. V. *et al.* Beta-cyclodextrin enhanced gastroprotective effect of (–)-linalool, a monoterpene present in rosewood essential oil, in gastric lesion models. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 389, n. 11, p. 1245-1251, 2016

DA SILVA, F. V., DE BARROS FERNANDES, H., OLIVEIRA, I. S. *et al.* Beta-cyclodextrin enhanced gastroprotective effect of (–)-linalool, a monoterpene present in rosewood essential oil, in gastric lesion models. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, n. 389, v. 11, p. 1245–1251, 2016.

DALCIN, Carlos Alberto Machado; AGUERA, Raul Gomes; DA SILVA ECKER, Alessandra Barrochelli. O TRANSPLANTE FECAL E SUA POSSÍVEL APLICAÇÃO NO TRATAMENTO DA OBESIDADE: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Uningá**, v. 56, n. 4, p. 1-11, 2019.

DAMMS-MACHADO, A. *et al.* Gut permeability is related to body weight, fatty liver disease, and insulin resistance in obese individuals undergoing weight reduction. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 105. n. 1, 127–135. 2017.

DANESE, S.; VUITTON, L.; PEYRIN-BIROULET, L. Biologic agents for IBD: Practical insights. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 12, n. 9, p. 537–545, 2015.

DARGAHI, N. *et al.* Immunomodulatory effects of probiotics: Can they be used to treat allergies and autoimmune diseases?. **Maturitas**, v. 119, p. 25-38, 2019.

DASSOPOULOS, T. et al. Ulcerative colitis care pathway. **Gastroenterology**, v. 149, n. 1, p. 238-245, 2015.

DE CARVALHO, Katharinne Ingrid Moraes et al. Geraniol—a flavoring agent with multifunctional effects in protecting the gastric and duodenal mucosa. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 387, p. 355-365, 2014.

DE FIGUEIREDO, F. G. et al. In vitro dynamic gastrointestinal digestion of model infant formulas. In: **15th International Hydrocolloids Conference**. 2020.

DE LIMA SERAFIM, C. A. et al. (-) -Carveol Prevents Gastric Ulcers via Cytoprotective, Antioxidant, Antisecretory and Immunoregulatory Mechanisms in Animal Models. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12. 2021

DE SOUZA, M. C. et al. Gastroprotective effect of limonene in rats: Influence on oxidative stress, inflammation and gene expression. **Phytomedicine**, v. 53, p. 37–42, 2019.

DESHPANDE, Prajakta; GOGIA, Neha; SINGH, Amit. Exploring the efficacy of natural products in alleviating Alzheimer's disease. **Neural regeneration research**, v. 14, n. 8, p. 1321, 2019.

DESHPANDE, S. S.; SHAH, G. B.; PARMAR, N. S. Antiulcer activity of Tephrosia purpurea in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 35, n. 3, p. 168–172, 2003.

DIAS, P. C. et al. Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of Rosmarinus officinalis. **J. Ethnopharmacology**, 69: 57-62, 2000.

DI'NARZO, A. F. et al. Integrative Analysis of the Inflammatory Bowel Disease Serum Metabolome Improves Our Understanding of Genetic Etiology and Points to Novel Putative Therapeutic Targets. **Gastroenterology**, v. 132, p. 828-843, 2022.

DING, X.; YANG, X.; WANG, H. Methodology, efficacy and safety of fecal microbiota transplantation in treating inflammatory bowel disease. **Medicine in Microecology**, v. 6, December 2020.

DO CARMO, Mônica Cristina Lopes et al. Passiflora edulis extract effects on probiotic and pathogenic modulation for healthier microbiota. **Nutrire**, v. 45, p. 1-8, 2020.

DO CARMO, T. L. L., et al. Reactive oxygen species and other biochemical and morphological biomarkers in the gills and kidneys of the Neotropical freshwater fish, Prochilodus lineatus, exposed to titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 23, p. 22963–22976, 2018.

DORNELAS, Ana Júlia Santana et al. A incidência de úlcera péptica em usuários crônicos de anti-inflamatórios não esteroides. **Revista Eletrônica Acervo Médico**, v. 23, n. 3, p. e12007-e12007, 2023.

DOU, Wei et al. Protective effect of naringenin against experimental colitis via suppression of Toll-like receptor 4/NF- κ B signalling. **British Journal of Nutrition**, v. 110, n. 4, p. 599-608, 2013.

DUDZIŃSKA, E. et al. Oxidative stress and effect of treatment on the oxidation product decomposition processes in IBD. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, 2018.

DUNNILL, C. et al. Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process. **International Wound Journal**, v. 14, n. 1, p. 89–96, 2017.

DUNNILL, Christopher et al. Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process. **International wound journal**, v. 14, n. 1, p. 89-96, 2017.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, 112, 4–29, 2016.

DZUL-BEH, A. J. et al. Mulinane- and Azorellane-Type Diterpenoids: A Systematic Review of Their Biosynthesis, Chemistry, and Pharmacology. **Biomolecules**. V. 9, p. 1333, 2020.

ECHEVERRIGARAY, S., ZACARIA, J., BELTRÃO, R. Nematicidal Activity of Monoterpenoids Against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. **Phytopathology**, v. 100, n. 2, 199–203, 2010.

EFTHYMAKIS, K., NERI, M. The role of Zinc L-Carnosine in the prevention and treatment of gastrointestinal mucosal disease in humans: a review. **Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology**. v 46, 2022.

EL-DAKROURY, W. A. et al. Famotidine-loaded solid self-nanoemulsifying drug delivery system demonstrates exceptional efficiency in amelioration of peptic ulcer. **International Journal of Pharmaceutics**, v 611, 2022.

ELSHAZLY, S. M.; ABD EL MOTTELEB, D. M.; IBRAHIM, I. A. A. E. H. Hesperidin protects against stress induced gastric ulcer through regulation of peroxisome proliferator activator receptor gamma in diabetic rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 291, p. 153–161, 2018.

ELSON, C. O. et al. Experimental models of inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 109, n. 4, p. 1344-1367, 1995.

ENGELHARDT, K. R.; GRIMBACHER, B.. IL-10 in humans: lessons from the gut, IL-10/IL-10 receptor deficiencies, and IL-10 polymorphisms. **Interleukin-10 in Health and Disease**, p. 1-18, 2014.

ERKES, D. A.; SELVAN, S. R. Hapten-induced contact hypersensitivity, autoimmune reactions, and tumor regression: Plausibility of mediating antitumor immunity. **Journal of Immunology Research**, v. 2014, 2014.

ESTERBAUER, H. AND K. H CHEESEMAN. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. **Methods in enzymology** (Elsevier). 1990

FAN, W., *et al.* Genistein-Derived ROS-Responsive Nanoparticles Relieve Colitis by Regulating Mucosal Homeostasis. **ACS Applied Materials & Interfaces**, 13(34), 40249–40266. 2021.

FAURE, P.; LAFOND, J. L. Measurement of plasma sulphhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. In A. E. *et al.* FAVIER (Ed.), **Analysis of free radicals in biological systems**, p. 237–248, 1995.

FEHER, J. J. **Quantitative human physiology: an introduction**. Academic press, 2017.

FERREIRA, R. S. *et al.* Relationship between intestinal microbiota, diet and biological systems: an integrated view. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 62, n. 5, p. 1166-1186, 2022.

FORMIGA, R. *et al.* Effect of p-cymene and rosmarinic acid on gastric ulcer healing – Involvement of multiple endogenous curative mechanisms. **Phytomedicine**. v 86, 2021.

FORNAI, L. *et al.* Pathophysiology of gastric ulcer development and healing: molecular mechanisms and novel therapeutic options. **Peptic ulcer disease Jianyuan Chai**, IntechOpen, 2011.

FOURNIER, B. M.; PARKOS, C. A. The role of neutrophils during intestinal inflammation. **Mucosal immunology**, v. 5, n. 4, p. 354-366, 2012.

FRANCOMANO *et al.* β -Cariofileno: Um Sesquiterpeno com Inúmeras Propriedades Biológicas. **Appl. ciência** , v. 9 , p. 5420, 2019.

GAO, Xinghua *et al.* Chronic stress promotes colitis by disturbing the gut microbiota and triggering immune system response. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 13, p. E2960-E2969, 2018.

GARG, A. *et al.* Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 8, p. 655–669, 2001.

GASPARINI, R. G *et al.* Inflammatory bowel disease epidemiology in São Paulo state, Brazil. **Clinical and experimental gastroenterology**, p. 423-429, 2018.

GAUCHER, Caroline *et al.* Glutathione: antioxidant properties dedicated to nanotechnologies. **Antioxidants**, v. 7, n. 5, p. 62, 2018.

GIMENEZ-BASTIDA, J. A. *et al.* Hesperetin and its sulfate and glucuronide metabolites inhibit TNF-[small alpha] induced human aortic endothelial cell migration and decrease plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) levels. **Food & Function**, v. 7, n. 1, p. 118–126, 2016.

GOKULNATH, D. Gastrointestinal Tract. BYJU's, 2021.

GONG, Y. *et al.* Inhibitory effect of hesperetin on α -glucosidase: Molecular dynamics simulation integrating inhibition kinetics. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, n. Supplement C, p. 32–39, 2017.

GUAN, Q., ZHANG, J. Recent Advances: The Imbalance of Cytokines in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. **Mediators of Inflammation**, 2017, 2017.

GUO, Z. The modification of natural products for medical use. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 7, n. 2, p. 119–136, 2017.

GUO, Zhiling *et al.* Deciphering the particle specific effects on metabolism in rat liver and plasma from ZnO nanoparticles versus ionic Zn exposure. **Environment international**, v. 136, p. 105437, 2020.

GUPTA, M. *et al.* Plants and phytochemicals for treatment of peptic ulcer: An overview. **South African Journal of Botany**, v. 138, 105-114, 2021.

HAMID, M. A., A. BERRI, M. A. Cerebral venous thrombosis secondary to ulcerative colitis: A case report with a literature review. **Radiology Case Reports**, v. 18, p. 1201-1204, 2023.

HAN, G.; CEILLEY, R. Chronic Wound Healing: A Review of Current Management and Treatments. **Adv Ther**, v.34, p. 599–610, 2017.

HANAUER, S. B. New steroids for IBD: progress report. **Gut**, v. 51, n. 2, p. 182 3, 2002.

HARBORD, Marcus *et al.* Third European evidence-based consensus on diagnosis and management of ulcerative colitis. Part 2: current management. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 11, n. 7, p. 769-784, 2017.

HAVENS, Joaquim M. *et al.* Disparities in peptic ulcer disease: A nationwide study. **The American Journal of Surgery**, v. 216, n. 6, p. 1127-1128, 2018.

HIJOS-MALLADA, G., SOSTRES, C., GOMOLLÓ, F. AINE, toxicidad gastrointestinal y enfermedad inflamatoria intestinal. **Gastroenterología y Hepatología**, 2021.

HOLMAN, Johanna *et al.* Interplay of broccoli/broccoli sprout bioactives with gut microbiota in reducing inflammation in inflammatory bowel diseases. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 113, p. 109238, 2023.

HSU, C. W. et al. Bound states in the continuum. **Nature Reviews Materials**, v. 1, n. 9, p. 1-13, 2016.

HUANG, R. et al. Lactobacillus and intestinal diseases: Mechanisms of action and clinical applications. **Microbiological Research**, v. 260, p. 127019, 2022.

HUI, S.; FANGYU, W. ScienceDirect Protective effects of bilobalide against ethanol-induced gastric ulcer in *vivo* / *vitro*. **Biomedicine et Pharmacotherapy**, 2017.

HURLEY, S. et al. A breast cancer case-control study of polybrominated diphenyl ether (PBDE) serum levels among California women. **Environment international**, v. 127, p. 412-419, 2019.

IQBAL, I., WALAYAT, K., KAKAR, M. U., MA, J. Automated identification of human gastrointestinal tract abnormalities based on deep convolutional neural network with endoscopic images. **Intelligent Systems with Applications**, 16, 2022.

ISHIGURO, K. et al. Novel mouse model of colitis characterized by hapten-protein visualization. **Biotechniques**, v. 49, n. 3, p. 641-648, 2010.

IYER, S. S.; CHENG, G.. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. **Critical Reviews™ in Immunology**, v. 32, n. 1, 2012.

JAIN, K. S. et al. Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Pune, v. 15, p. 1181-1205. 2007

JIMINEZ, J. A. et al. Animal models to study acute and chronic intestinal inflammation in mammals. **Gut Pathogens**, v. 7, n. 1, p. 29, 2015.

JOHANSSON, M. E. V et al. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 105, n. 39, p. 15064-15069, 2008.

JONES, D. P. et al. Dietary sulfur amino acid effects on fasting plasma cysteine/cystine redox potential in humans. **Nutrition**, v. 27, n. 2, p. 199–205, 2011.

JONES, D. P. et al. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. **Methods in Enzymology**. v. 348, p. 93–112, 2002.

JONES, H. R. et al. The role of neutrophils in inflammation resolution. **Seminars in Immunology**, v. 28, n. 2, p. 137–145, 2016.

JOO, M.; KIM, H. S. Anti-inflammatory Effects of Flavonoids on TNBS-induced Colitis of Rats. **The Korean journal o physiology & pharmacology**:, v. 19, n. 1, p. 43–50, 2015.

KANEKO, M. *et al.* Presumptive complicating *Clostridium paraputrificum* bacteremia as a presenting manifestation in a patient with undiagnosed ulcerative colitis followed by acute colonic pseudo-obstruction. **IDCases**, v. 31, 2023.

KARAKAS, M.; KOENIG, W. Myeloperoxidase production by macrophage and risk of atherosclerosis. **Current Atherosclerosis Reports**, v. 14, n. 3, p. 277–283, 2012.

KARAMPOUR, N. S. *et al.* Gastroprotective effect of zingerone on ethanol-induced gastric ulcers in rats. **Medicina (Lithuania)**, v. 55, n. 3, p. 1–9, 2019.

KATARY MA, S. A. Gastroprotective Effect of Vanillin on Indomethacin-Induced Gastric Ulcer in Rats: Protective Pathways and Anti-Secretory Mechanism. **Clinical and Experimental Pharmacology**, v. 7, n. 2, 2017.

KAVITT, R. T. *et al.* Diagnosis and Treatment of Peptic Ulcer Disease. **The American Journal of Medicine**, v. 132, 447-456, 2019.

KEMPENICH, J. W.; SIRINEK, K. R.. Acid Peptic Disease. *Surgical Clinics of North America*, v. 98, n. 5, p. 933–944, 2018.

KENDALL, A. C. *et al.* The isolation and characterisation of a catalase-deficient mutant of barley (*Hordeum vulgare* L.). **Planta**, v. 159, n. 6), p. 505–511, 1983.

KHOMENKO, T. *et al.* Role of iron in the pathogenesis of cysteamine-induced duodenal ulceration in rats. American journal of physiology. **Gastrointestinal and liver physiology**, v. 296, n. 27, p. G1277–G1286, 2009.

KHOUBNASABJAFARI, M.; ANSARIN, K.; JOUYBAN, A. Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. **BiolImpacts**, v. 5, n. 3, p. 123–127, 2015.

KIESLER, P.; FUSS, I. J.; STROBER, W. Experimental Models of Inflammatory Bowel Diseases. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, v. 1, n. 2, p. 154–170, 2015.

KIM, D. H.; CHEON, J. H. Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease and Recent Advances in Biologic Therapies. **Immune Network**, v. 17, n. 1, p. 25, 2017.

KIM, H. *et al.* Antioxidant and probiotic properties of Lactobacilli and Bifidobacteria of human origins. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 25, n. 3, p. 421-430, 2020.

KIM, J. Y. *et al.* Hesperetin: a potent antioxidant against peroxynitrite. **Free radical research**, v. 38, n. 7, p. 761-769, 2004.

KIM, Y. *et al.* Gastroprotective Effects of Paeonia Extract Mixture HT074 against Experimental Gastric Ulcers in Rats. **Evid Based Complement Alternat Med**, 17, 2019, 2019.

KIM, Y. S.; HO, S. B. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. **Current Gastroenterology Reports**. v. 12, n. 5, p. 319-330, 2010.

KNOX, N. C. *et al.* The gut microbiome in inflammatory bowel disease: lessons learned from other immune-mediated inflammatory diseases. **Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG**, v. 114, n. 7, p. 1051-1070, 2019.

KOBAYASHI, S. *et al.* Effects of lansoprazole on the expression of VEGF and cellular proliferation in a rat model of acetic acid-induced gastric ulcer. **Journal of Gastroenterology**, v. 45, n. 8, p. 846–858, 2010.

KOBAYASHI, Shun *et al.* Effects of lansoprazole on the expression of VEGF and cellular proliferation in a rat model of acetic acid-induced gastric ulcer. **Journal of gastroenterology**, v. 45, p. 846-858, 2010.

KOTZE, P. G. *et al.* New insights on the surgical management of ulcerative colitis in the 21st century. **The Lancet Gastroenterology & Hepatology**, 2022.

KRAWISZ, J. E., SHARON, P., STENSON, W. F. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models. **Gastroenterology**, v. 87, n. 6, p. 1344–1350, 1984.

KUMADOH, D. *et al.* A review on anti-peptic ulcer activities of medicinal plants used in the formulation of Enterica, Dyspepsia and NPK 500 capsules. **Heliyon**, v. 7, n. 12, 2021.

KUNA, L. *et al.* Peptic ulcer disease: a brief review of conventional therapy and herbal treatment options. **J Clin Med.**, v. 3, p. 179, 2019.

LANAS, A.; CHAN, F. K. L. Peptic ulcer disease. **The Lancet**, v. 390, n. 10094, p. 613–624, 2017.

LANDA, Samuel Torres; DUMON, Kristoffel R.; DEMPSEY, Daniel T. Anatomy and Physiology of the Stomach and Pylorus. **The SAGES manual of foregut surgery**, p. 49-64, 2019.

LAU, J. Y. *et al.* Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: Incidence, recurrence, risk factors and mortality. **Digestion**, v. 84, n. 2, p. 102–113, 2011.

LAUCIRICA, I.; IGLESIAS, P. G.; CALVET, X.. Peptic ulcer. **Medicina Clínica (English Edition)**, 2023.

LAUCIRICA, Isabel; IGLESIAS, Pilar Garcia; CALVET, Xavier. Peptic ulcer. **Medicina Clínica (English Edition)**, 2023.

LEE, B. *et al.* Anti-ulcerogenic Effect and HPLC Analysis of the Caffeoylquinic Acid Rich Extract from *Ligularia stenocephala*. **Biol. Pharm. Bull.** 33(3); 493-497, 2011.

LEE, M. W.; KATZ, P. O. Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs, Anticoagulation, and Upper Gastrointestinal Bleeding. **Clinics in Geriatric Medicine**. v.37, p. 31–32, 2021.

LEONARD, Warren J.; LIN, Jian-Xin; O'SHEA, John J. The γ c family of cytokines: basic biology to therapeutic ramifications. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 832-850, 2019.

LI, Mu-xia *et al.* Huangqin decoction ameliorates DSS-induced ulcerative colitis: role of gut microbiota and amino acid metabolism, mTOR pathway and intestinal epithelial barrier. **Phytomedicine**, v. 100, p. 154052, 2022.

Li, W.F. *et al.* Protective effect of chelerythrine against ethanol-induced gastric ulcer in mice. **Chem. Biol. Interact**, 208, 18–27, 2015.

LIATSOS, C. *et al.* *Helicobacter pylori*, gastric microbiota and gastric cancer relationship: unrolling the tangle. **World Journal of Gastrointestinal Oncology**, v. 14, n. 5, p. 959, 2022.

LICHTENBERGER, L. M.; SZABO, S.; REYNOLDS, E. S. Gastric emptying in the rat is inhibited by the duodenal ulcerogens, cysteamine and propionitrile. **Gastroenterology**, v. 73, n. 5, p. 1072–6, 1977.

LIMKETKAI, B. N. *et al.* Dietary interventions for the treatment of inflammatory bowel diseases: an updated systematic review and meta-analysis. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, 2022.

LIN, Chin-Hsien *et al.* Altered gut microbiota and inflammatory cytokine responses in patients with Parkinson's disease. **Journal of neuroinflammation**, v. 16, n. 1, p. 1-9, 2019.

LIU, W. *et al.* Gastroprotective effects of chebulagic acid against ethanol-induced gastric injury in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 278, p. 1–8, 2016.

LIU, Yao-Jun *et al.* Polydatin alleviates DSS-and TNBS-induced colitis by suppressing Th17 cell differentiation via directly inhibiting STAT3. **Phytotherapy Research**, v. 36, n. 9, p. 3662-3671, 2022.

LIU, Zhigang *et al.* Antibody responses to Influenza vaccination are diminished in patients with inflammatory bowel disease on infliximab or tofacitinib. **Journal of Crohn's and Colitis**, p. jjad182, 2023.

LOMBARDI, Vincent C. *et al.* Nutritional modulation of the intestinal microbiota; future opportunities for the prevention and treatment of neuroimmune and neuroinflammatory disease. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 61, p. 1-16, 2018.

LONGO, B. *et al.* Dual role of eugenol on chronic gastric ulcer in rats: Low-dose healing efficacy and the worsening gastric lesion in high doses. **Chemico-Biological Interactions**, v.333, 2021.

LOZON, Y *et al.* Inhibition of human $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors by cyclic monoterpene carveol, **European Journal of Pharmacology**, 2016.

LUSHCHAK, V. I. Glutathione Homeostasis and Functions: Potential Targets for Medical Interventions. **Journal of Amino Acids**, v. 2012, p. 1–26, 2012.

LUZ, B. B. *et al.* Effectiveness of the polyphenols-rich *Sedum dendroideum* infusion on gastric ulcer healing in rats: Roles of protective endogenous factors and antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. **Journal of Ethnopharmacology**. v.278, 2021.

MACHADO, Antje *et al.* Effects of surgical and dietary weight loss therapy for obesity on gut microbiota composition and nutrient absorption. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

MACHADO, F. D. F. *et al.* *Hyptis suaveolens* (L.) Poit protects colon from TNBS-induced inflammation via immunomodulatory, antioxidant and anti-proliferative mechanisms. **Journal of ethnopharmacology**, v. 265, p. 113153, 2021.

MAGIEROWSKA, K., *et al.*, Time-dependent course of gastric ulcer healing and molecular markers profile modulated by increased gastric mucosal content of carbon monoxide released from its pharmacological donor. **Biochemical Pharmacology**. v. 163, 71-83, 2019.

MAGIEROWSKI, M., *et al.* Exogenous and endogenous hydrogen sulfide protects gastric mucosa against the formation and time-dependent development of ischemia/reperfusion-induced acute lesions progressing into deeper ulcerations. **Molecules**, v. 22, n. 2, p. 1–16, 2017.

MAGISTRETTI, M. J.; CONTI, M.; CRISTONI, A. Antiulcer activity of na anthocyanidin from *Vaccinium myrtillus*. **Arzneimittel-Forschung**, v. 38, n. 5, p 686–90, 1988.

MAGISTRETTI, M. J.; CONTI, M.; CRISTONI, A. Antiulcer activity of an anthocyanidin from *Vaccinium myrtillus*. **Arzneimittel-forschung**, v. 38, n. 5, p. 686-690, 1988.

MALFERTHEINER, P.; SCHULZ, C. Peptic Ulcer: Chapter Closed? **Digestive Diseases**, v. 38, n. 2, p. 112–116, 2020.

MALFERTHEINER, Peter; CHAN, Francis KL; MCCOLL, Kenneth EL. Peptic ulcer disease. **The lancet**, v. 374, n. 9699, p. 1449-1461, 2009.

MALIK, Hassaan *et al.* Multi-classification deep learning models for detection of ulcerative colitis, polyps, and dyed-lifted polyps using wireless capsule endoscopy images. **Complex & Intelligent Systems**, p. 1-21, 2023.

MARILD, K. *et al.* Histological remission in inflammatory bowel disease and risk of adverse pregnancy outcomes: A nationwide study. **eClinicalMedicine**, v. 53, November 2022.

MARLOW, G. J.; VAN GENT, D.; FERGUSON, L. R. Why interleukin-10 supplementation does not work in Crohn's disease patients. **World journal of gastroenterology: WJG**, v. 19, n. 25, p. 3931, 2013.

MARQUES, F. M. *et al.* In vitro anti-inflammatory activity of terpenes via suppression of superoxide and nitric oxide generation and the NF- κ B signalling pathway. **Inflammopharmacology**, v. 27, n. 2, p. 281–289, 2019.

MARTIN, P. J. *et al.* Genetic variants associated with inflammatory bowel disease and gut graft-versus-host disease. **Blood advances**, v. 5, 2021.

MARTÍNEZ, Y. *et al.* Role of the phytochemical compounds like modulators in gut microbiota and oxidative stress. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 22, p. 2642-2656, 2020.

MARTINEZ-MONTIEL, M. P. *et al.* Pharmacologic therapy for inflammatory bowel disease refractory to steroids. **Clinical and Experimental Gastroenterology**, v. 8, p. 257–269, 2015.

MARTININO, A. *et al.* Perforated marginal ulcer after gastric bypass for obesity: a systematic review. **Surgery for Obesity and Related Diseases**. v.18, p. 1168–1175, 2022.

MARTON, L.T, *et al.* Omega Fatty Acids and Inflammatory Bowel Diseases: An Overview. **Int J Mol Sci.**, v. 20, n. 19, p. 4851, 2019.

MASOODI, I. *et al.* Biomarkers in the management of ulcerative colitis: a brief review. **German medical science : GMS e-journal**, v. 9, p. 1–7, 2011.

MATRICON, J., BARNICH, N., and ARDID, D. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *Self Nonself* 1(4), 299-309. doi: 10.4161/self.1.4.13560. 2010

MAYER-BARBER, K. D.; YAN, B. Clash of the Cytokine Titans: Counter-regulation of interleukin-1 and type I interferon-mediated inflammatory responses. **Cellular and Molecular Immunology**, v. 14, n. 1, p. 22–35, 2017.

MEDEIROS, C. I. S.; COSTA, T. P. Repercussão da microbiota intestinal na modulação do sistema nervoso central e sua relação com doenças neurológicas. **Revista de ciências médicas e biológicas**, v. 19, n. 2, p. 342-346, 2020.

MEDICHERLA, K. *et al.* Oral administration of geraniol ameliorates acute experimental murine colitis by inhibiting pro-inflammatory cytokines and NF- κ B signaling. **Food Funct.**, v. 6, n. 9, p. 2984–2995, 2015.

MEHRABANI-TABARI, Amir et al. Lipid Accumulation in Mononuclear Phagocytes Impairs Autophagy and Contributes to Inflammation after Traumatic Brain Injury. 2022.

MEKONNEN, N. *et al.* Conhecimento e práticas etnobotânicas de curandeiros tradicionais em Harar, Haramaya, Bati e Garamuleta, Leste da Etiópia. **Jornal Veterinário Etíope**, v. 2, pág. 40-61, 2017.

MICHAELS, M., MADSEN, K. L. Immunometabolism and microbial metabolites at the gut barrier: lessons for therapeutic intervention in Inflammatory Bowel Disease. **Mucosal Immunology**, 2023.

MIELE, E. *et al.* Nutrition in pediatric inflammatory bowel disease: a position paper on behalf of the Porto Inflammatory Bowel Disease Group of the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 66, n. 4, p. 687-708, 2018.

MIN, J. K. *et al.* Amelioration of trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice by liquiritigenin. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 30, n. 5, p. 858–865, 2015.

MIN, J.-y.; MIN, K.-b. Cumulative exposure to nighttime environmental noise and the incidence of peptic ulcer. **Environment international**, v. 121, p. 1172-1178, 2018.

MINYAYLO, O. *et al.* Polymorphisms of the matrix metalloproteinase 9 gene are associated with duodenal ulcer in a Caucasian population of Central Russia. **Journal of King Saud University – Science**. v 36, 2022.

MISHRA, Abhinav P.; BAJPAI, Ankit; CHANDRA, Suresh. A comprehensive review on the screening models for the pharmacological assessment of antiulcer drugs. **Current clinical pharmacology**, v. 14, n. 3, p. 175-196, 2019.

MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K. Natural products: An evolving role in future drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4769– 4807, 2019.

MITTAL, M. *et al.* Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. **Antioxidants & redox signaling**, v. 20, n. 7, p. 1126-1167, 2014.

MOLLAZADEH, H., *et al.* A. Immune modulation by curcumin: The role of interleukin-10. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 1, p. 89–101, 2019.

MORAMPUDI, V. *et al.* DNBS/TNBS Colitis Models: Providing Insights Into Inflammatory Bowel Disease and Effects of Dietary Fat. **Journal of Visualized Experiments**, n. 84, p. 1–8, 2014.

MORESCO, Eva Marie Y.; LAVINE, Diantha; BEUTLER, Bruce. Toll-like receptors. **Current Biology**, v. 21, n. 13, p. R488-R493, 2011.

MORRIS, G. P. *et al.* Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon. **Gastroenterology**, vol. 96 no.3, pp. 795-803. 22, 1989.

MOSS, Alan C. Optimizing the use of biological therapy in patients with inflammatory bowel disease. **Gastroenterology report**, v. 3, n. 1, p. 63-68, 2015.

MOUDGIL, K. D.; CHOUBEY, D. Cytokines in Autoimmunity: Role in Induction, Regulation, and Treatment. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 31, n. 10, p. 695–703, 2011.

MOURA, F. A. *et al.* Antioxidant therapy for treatment of inflammatory bowel disease: Does it work?. **Redox Biology**, v. 6, p. 617–639, 2015.

NAGATO, A. C. *et al.* Time course of inflammation, oxidative stress and tissue damage induced by hyperoxia in mouse lungs. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 93, n. 4, p. 269–278, 2012.

NAITO Y., KASHIWAGI K., TAKAGI T., *et al.* Intestinal dysbiosis secondary to protonpump inhibitor use. *Digestion* ;97:195–204, 2018.

NEURATH, M. F. Cytokines in inflammatory bowel disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 14, n. 5, p. 329–342, 2014.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Produtos naturais como fontes de novos medicamentos de 1981 a 2014. **J. Nat. Prod.** V. 79, p. 629–661, 2016.

NG, S. C. *et al.* Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease based on results from the Asia-Pacific Crohn's and colitis epidemiology study. **Gastroenterology**, v. 145, n. 1, p. 158-165. e2, 2013.

NI, Josephine *et al.* Gut microbiota and IBD: causation or correlation?. **Nature reviews Gastroenterology & hepatology**, v. 14, n. 10, p. 573-584, 2017.

NIEDERHOFER, L.J.*et al.* Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. **J. Biol. Chem.** v. 278, n. 33, p. 31426-31433, 2003.

NIU, M.-M. *et al.* Bifidobacterium breve alleviates DSS-induced colitis in mice by maintaining the mucosal and epithelial barriers and modulating gut microbes. **Nutrients**, v. 14, n. 18, p. 3671, 2022.

ODENWALD, M.A. *et al.* ZO-1 interactions with F-actin and occludin direct epithelial polarization and single lumen specification in 3D culture. **J Cell Sci.** v. 1, 2017.

OH, S. Y. *et al.* Comparison of experimental mouse models of inflammatory bowel disease. **International journal of molecular medicine**, v. 33, n. 2, p. 333-340, 2014.

OHARA, J. *et al.* Deep learning-based automated quantification of goblet cell mucus using histological images as a predictor of clinical relapse of ulcerative colitis with endoscopic remission. **Journal of Gastroenterology**, v. 57, n. 12, p. 962-970, 2022.

OKABE, S.; AMAGASE, K. An Overview of Acetic Acid Ulcer Models—The History and State of the Art of Peptic Ulcer Research—. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, vol. 28 no.8, pp. 1321-1341. 2005

OLIVEIRA B. M. M., *et al.*, Gastroprotective and gastric healing effects of the aqueous extract of *Casearia sylvestris* in rodents: Ultrasound, histological and biochemical analyzes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 298, 2022.

OLIVEIRA, A. F., CARVALHO, J. R., COSTA, M. F. S., LOBATO, L. C. P., SILVA, R. S., SCHRAMM, J. M.A. Estimativa da prevalência e da mortalidade por complicações da úlcera péptica, Brasil, 2008: uma proposta metodológica. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 24, n. 1, p. 383–394, 2015.

OMOLO, M. O. *et al.* Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 20, p. 2797–2802, 2004.

ORSI, Patrícia Rodrigues; SEITO, Leonardo Noboru; DI STASI, Luiz Claudio. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A tropical medicinal plant with intestinal anti-inflammatory activity in TNBS model of intestinal inflammation in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 151, n. 1, p. 380-385, 2014.7

OTEIZA, P. I.; CREMONINI, E.; FRAGA, C. G. Anthocyanin actions at the gastrointestinal tract: Relevance to their health benefits. **Molecular Aspects of Medicine**, 2022.

PABST, O.; SLACK, E. IgA and the intestinal microbiota: the importance of being specific. **Mucosal immunology**, v. 13, n. 1, p. 12-21, 2020.

PALIWAL, P. *et al.* Pharmacological application of barium containing bioactive glass in gastro-duodenal ulcers. **Materials Science & Engineering C**. 30 June 2018

PARK, B. M. *et al.* Mitigating Effects of *Tenebrio molitor* Larvae Powder Administration in Mice with Dextran Sodium Sulfate (DSS)-Induced Colitis. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 24, n. 5, p. 1751-1758, 2023.

PARK, H. J. *et al.* Gastroprotective Effects of *Paeonia* Extract Mixture HT074 against Experimental Gastric Ulcers in Rats. **Evid Based Complement Alternat Med**, 17, 2019, 2019.

PASHA, I. *et al.* Antiulcerative potential of sweet potato (*Ipomoea batatas*) against aspirin-induced gastric ulcers in a rabbit model. **Nutrition**. v. 103-104, 2022.

PAVLIDIS, P. *et al.* Cytokine responsive networks in human colonic epithelial organoids unveil a molecular classification of inflammatory bowel disease. **Cell Reports**, v. 40, n. 13, 2022.

PAWLIK, M. W. *et al.* The renin-angiotensin system and its vasoactive metabolite angiotensin- (1-7) in the mechanism of the healing of preexisting gastric ulcers . The involvement of mas receptors , nitric oxide , prostaglandins and proinflammatory cytokines. p. 75–91, 2016

PENG, Yujia et al. Prebiotic effects in vitro of anthocyanins from the fruits of *Lycium ruthenicum* Murray on gut microbiota compositions of feces from healthy human and patients with inflammatory bowel disease. **Lwt**, v. 149, p. 111829, 2021.

PÉREZ, S. et al. Redox signaling in the gastrointestinal tract. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 104, p. 75–103, 2017

PÉREZ-RODRÍGUEZ, L. et al. Measuring Oxidative Stress: The Confounding Effect of Lipid Concentration in Measures of Lipid Peroxidation. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 88, n. 3, p. 345–351, 2015.

PESSOA, M. M. B., et al. O papel da microbiota nas doenças inflamatórias intestinais. **Instituto Medeiros de Educação Avançada – IMEA**, pg 75, 2022.

PIOVANI, D. et al. Inflammatory bowel disease: estimates from the global burden of disease 2017 study. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 51, n. 2, p. 261-270, 2020.

POTDAR, A. A. et al. Altered intestinal ACE2 levels are associated with inflammation, severe disease, and response to anti-cytokine therapy in inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 160, n. 3, p. 809-822. e7, 2021.

PRASOON, P., et al. Esophago-gastro-duodenoscopy could be an important tool in the diagnostic dilemma inherent in perforated peptic ulcer: A case report. **Laparoscopic, Endoscopic and Robotic Surgery**. v. 5, 82-84, 2022.

PU, Pei et al. Reducing Antigenicity and Improving Antioxidant Capacity of β -Lactoglobulin through Covalent Interaction with Six Flavonoids. **Foods**, v. 12, n. 15, p. 2913, 2023.

QUARESMA, A. B et al. The globalization of inflammatory bowel disease: the incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in Brazil. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 35, n. 4, p. 259-264, 2019.

QUINTANA-HAYASHI, M. P. et al. Mucus-pathogen interactions in the gastrointestinal tract of farmed animals. **Microorganisms**, v. 6, n. 2, p. 55, 2018.

RAINE, Tim et al. ECCO guidelines on therapeutics in ulcerative colitis: medical treatment. **Journal of Crohn's and Colitis**, v. 16, n. 1, p. 2-17, 2022.

RAMACHANDRAN, A.; JAESCHKE, H.. Acetaminophen toxicity: novel insights into mechanisms and future perspectives. **Gene expression**, v. 18, n. 1, p. 19, 2018.

RAMOS, V. P. Atividade de *Solanum tuberosum* (batata inglesa), *Ipomoea batatas* (batata doce), *Orbignya phalerata* (babaçu) e *Euterpe edules* (juçara) na prevenção e tratamento da úlcera péptica em ratos Wistar. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Centro Biomédico, Faculdade de Ciências Médicas, 2017.

RANDHAWA, P. K. et al. A review on chemical-induced inflammatory bowel disease models in rodents. **The Korean journal of physiology & pharmacology: official**

Journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology, v. 18, n. 4, p. 279, 2014.

RANG, H. P. *et al.* Rang & Dale farmacologia. 8 Rio de Janeiro: Elsevier, p. 760, 2016.

REVATHY, T. A. *et al.* Highly active graphene-supported palladium-nickel alloy nanoparticles for catalytic reduction of 4-nitrophenol. **Applied Surface Science**, v. 449, p. 764-771, 2018.

RIBEIRO, A. R. S. *et al.* Gastroprotective effects of thymol on acute and chronic ulcers in rats: the role of prostaglandins, ATP-sensitive K⁺ channels, and gastric mucus secretion. **Chemico-biological interactions**, v. 244. p. 121-128, 2016

RIBEIRO, A. R. S., *et al.* The effects of baicalein on gastric mucosal ulcerations in mice: Protective pathways and anti-secretory mechanisms. **Chemico-Biological Interactions**, v. 260, p. 33–41, 2017.

ROCHA CALDAS, G. F., *et al.* Gastroprotective Mechanisms of the Monoterpene 1,8-Cineole (Eucalyptol). **PLOS ONE**, v. 10, n. 8, 2015.

ROCHA, M. I. *et al.* Chemical characterization and bioactive potential of *Artemisia campestris* L. subsp. *maritima* (DC) Arcang. essential oil and hydrodistillation residual water. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 276, p. 114146, 2021.

ROCHA, N. F. M. *et al.* Gastroproteção do (-)- α -bisabolol em lesões agudas da mucosa gástrica em camundongos: Os possíveis mecanismos farmacológicos envolvidos. *fundam.* **Clin. Pharmacol.** v. 24, p. 63–71, 2010.

RODRIGUES, M. L. F.; GOMIDE, da S M. M. Acesso à fitoterapia na atenção básica em saúde através da Análise de Redes Sociais (ARS). **Redes: Revista Hispana para el análisis de redes sociales**, v. 30, n. 2, p. 0244-253, 2019.

ROZZA, A. L., *et al.* The gastroprotective effect of menthol: Involvement of anti-apoptotic, antioxidant and anti-inflammatory activities. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. 1–6, 2014.

SABAT, R. *et al.* Biology of interleukin-10. **Cytokine Growth Factor Rev**, v. 21, n. 5, p. 331–44, 2010.

SALES-CAMPOS, H. *et al.* Classical and recent advances in the treatment of inflammatory bowel diseases. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 48, n. 2, p. 96–107, 2015.

SANDS, B. E.; KAPLAN, G. G. The role of TNF α in ulcerative colitis. **The Journal of Clinical Pharmacology**, v. 47, n. 8, p. 930-941, 2007.

SANTOS, F. A. *et al.* 1,8-Cineole (eucalyptol), a monoterpene oxide attenuates the colonic damage in rats on acute TNBS-colitis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 579–584, 2004.

SANTOS, R. C., *et al.* Byrsonima intermedia A. Juss partitions promote gastroprotection against peptic ulcers and improve healing through antioxidant and anti-inflammatory activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, 1112-1123, 2019.

SANZ, Yolanda *et al.* Towards microbiome-informed dietary recommendations for promoting metabolic and mental health: opinion papers of the MyNewGut project. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 6, p. 2191-2197, 2018.

SCHAFER, M.; WERNER, S. Oxidative stress in normal and impaired wound repair. **Pharmacol Res**, v. 58, n. 2, p. 165–71, 2008.

SCHUBERT, M. L. Gastric acid secretion. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v. 32, n. 6, p. 452–460, 2016.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. v. 30, n. 6, p. 578–582, 2014.

SCHULZ, Christian *et al.* H. pylori and its modulation of gastrointestinal microbiota. **Journal of Digestive Diseases**, v. 16, n. 3, p. 109-117, 2015.

SEIWERTH, S. *et al.* BPC 157 and Standard Angiogenic Growth Factors. Gastrointestinal Tract Healing, Lessons from Tendon, Ligament, Muscle and Bone Healing. **Current Pharmaceutical Design**, 24, 1972-1989, 2018.

SEIWERTH, S. *et al.* BPC 157 and Standard Angiogenic Growth Factors. Gastrointestinal Tract Healing, Lessons from Tendon, Ligament, Muscle and Bone Healing. **Current Pharmaceutical Design**, 24, 1972-1989, 2018.

SELDERS, G. S. *et al.* An overview of the role of neutrophils in innate immunity, inflammation and host-biomaterial integration. **Regenerative biomaterials**, v. 4, n. 1, p. 55-68, 2017.

SEPULVEDA, B., *et al.* Gastroprotective activity of synthetic coumarins: Role of endogenous prostaglandins, nitric oxide, non-protein sulfhydryls and vanilloid receptors. **Bioorg Med Chem Lett**. v. 1;26, n. 23, p. 5732-5735, 2016.

SERAFIM, C. A. L. *et al.* O papel da microbiota intestinal na manutenção da homeostase e sua influência nas doenças digestivas: uma revisão. In: Giselle Medeiros da Costa One; Maria Luiza Souto Porto. (Org.). Farmácia: tecnologia a serviço da saúde. 1ed. João Pessoa-PB: **Instituto Medeiros de Educação Avançada IMEA**, v. 1, p. 602-625, 2020.

SGAMBATO, Dolores *et al.* The role of stress in inflammatory bowel diseases. **Current pharmaceutical design**, v. 23, n. 27, p. 3997-4002, 2017.

SHAH, J. M. *et al.*, Su1112: Improving helicobacter pylori testing in patients admitted for upper gi bleeding due to peptic ulcer disease: a quality improvement project. **Gastroenterology**. v. 162, S-507, 2022.

SHAHINFAR, H. *et al.* Administration of dietary antioxidants for patients with inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 63, p. 102787, 2021.

SHAO, Y.; BAO, J. **8 - Rice phenolics and other natural products**. [s.l.] AACCI. Published by Elsevier Inc. in cooperation with AACC International, 2019.

SHARIFI-RAD, M. *et al.* Antiulcer agents: From plant extracts to phytochemicals in healing promotion. **Molecules**, v. 23, n. 7, p. 1751, 2018.

SHELL, E. J. Pathophysiology of Peptic Ulcer Disease. **Physician Assistant Clinics**. v. 6, 603-11, 2021.

SHIPA, S. J. *et al.* An insight into the anti-ulcerogenic potentials of medicinal herbs and their bioactive metabolites. **Journal of Ethnopharmacology**. v 293, 2022.

SIES, H., JONES, D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, 2020.

SILVA, I. *et al.* Chronic experimental model of TNBS-induced colitis to study inflammatory bowel disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, p. 4739, 2022.

SINGH, A. K. *et al.* Aspectos biotecnológicos dos metabólitos vegetais no tratamento da úlcera: uma nova perspectiva. **Biotecnologia. Rep.** v. 18, p. 00256, 2018.

SÖDERHOLM, J.D. *et al.* Chronic stress induces mast cell-dependent bacterial adherence and initiates mucosal inflammation in rat intestine. **Gastroenterology**. v. 123, p. 1099-108, 2019.

SOMENSI, Nauana *et al.* Carvacrol suppresses LPS-induced pro-inflammatory activation in RAW 264.7 macrophages through ERK1/2 and NF- κ B pathway. **International immunopharmacology**, v. 75, p. 105743, 2019.

SONNENBERG, G. F.; ARTIS, D. Innate lymphoid cell interactions with microbiota: implications for intestinal health and disease. **Immunity**, v. 37, n. 4, p. 601-610, 2012.

SORDO, R. D., *et al.* Therapeutic agents affecting the immune system and drug-induced inflammatory bowel disease (IBD): A review on etiological and pathogenetic aspects. **Clinical Immunology**. v. 234, 2022.

SOUZA, H. S.P.; FIOCCHI, C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. **Nature Gastroenterology & Hepatology**. v.13, p. 13-27, 2016.

SPECHLER, S. J. p r o t o n p u m p i n h i b i t o r s What the Internist Needs to Know. **Medical Clinics of NA**, p. 1–14, 2018.

STROBER, W. et al. Mucosal immunoregulation and inflammatory bowel disease: new insights from murine models of inflammation. **Scandinavian journal of immunology**, v. 48, n. 5, p. 453-458, 1998.

STROBER, W.; FUSS, I. J. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. **Gastroenterology**, v. 140, n. 6, p. 1756-1767. e1, 2011.

SULTAN, K. S.; BERKOWITZ, J. C.; KHAN, S. Combination therapy for inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics**, v. 8, n. 2, p. 103, 2017.

SUZUKI, Y. et al. Anti-ulcer effects of antioxidants, quercetin, α -tocopherol, nifedipine and tetracycline in rats. **The Japanese Journal of Pharmacology**, v. 78, n. 4, p. 435-441, 1998.

SZABO, S. Duodenal ulcer disease. Animal model: cysteamine-induced acute and chronic duodenal ulcer in the rat. **The American journal of pathology**, vol. 93 no.1, pp. 273. 1978.

SZABO, SANDOR; REICHLIN, SEYMOUR. SOMATOSTATIN IN RAT TISSUES IS DEPLETED BY CYSTEAMINE ADMINISTRATION. **Endocrinology**, v. 109, n. 6, p. 2255-2257, 1981.

SZALAI, Z. et al. Novel features of the rat model of inflammatory bowel induced acute colitis. **Acta Biologica Szegediensis**, v. 58, n. 2, p. 127–132, 2014.

SZALAY, Balázs et al. Adaptive immunity in ankylosing spondylitis: phenotype and functional alterations of T-cells before and during infliximab therapy. **Clinical and Developmental Immunology**, v. 2012, 2012.

TAHA, A. S. et al. Gastric epithelial anti-microbial peptides—histological correlation and influence of anatomical site and peptic ulcer disease. **Digestive and Liver Disease**. v. 37, 51-56, 2005

TAKAGI, K.; OKABE, S.; SAZIKI, R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 19, n. 3, p. 418–26, 1969.

TAKEUCHI, K., AMAGASE, K. Roles of Cyclooxygenase, Prostaglandin E2 and EP Receptors in Mucosal Protection and Ulcer Healing in the Gastrointestinal Tract. **Current Pharmaceutical Design**, v. 24, n. 18, p. 2002–2011, 2018.

TAN, Y-R. et al., The role of endoplasmic reticulum stress in regulation of intestinal barrier and inflammatory bowel disease. **Experimental Cell Research**, 2023.

TARNAWSKI, A. S.; AHLUWALIA, A.; JONES, M. K. The mechanisms of gastric mucosal injury: Focus on microvascular endothelium as a key target. **Curr. Med. Chem.**, v. 19, n. 1, p. 141 4–15, 2012.

TARNAWSKI, A.; AHLUWALIA, A.; K. JONES, M. Gastric Cytoprotection Beyond Prostaglandins: Cellular and Molecular Mechanisms of Gastroprotective and Ulcer Healing Actions of Antacids. **Current Pharmaceutical Design**, v. 19, n. 1, p. 126–132, 2012.

TARNAWSKI, A.S.; AHLUWALIA A. Molecular mechanisms of epithelial regeneration and neovascularization during healing of gastric and esophageal ulcers. **Curr Med Chem**; 19: 16-27, 2012.

TARNAWSKI, Andrzej S.; AHLUWALIA, Amrita. The critical role of growth factors in gastric ulcer healing: the cellular and molecular mechanisms and potential clinical implications. **Cells**, v. 10, n. 8, p. 1964, 2021.

TEMPORÃO HINRICHSEN, L.; FONTOURA, J.; LACERDA, R.. **Eixo Intestino-Cérebro: o papel dos probióticos na ansiedade e depressão**. 2022.

THOMAS, A. S., HANAUER, S., WANG, Y. Immune Checkpoint Inhibitor Enterocolitis vs Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, 2022.

TRIVELLA, D. B. B. *et al.* Descoberta de fármacos a partir de produtos naturais e a abordagem Molecular Power House (MPH). 2022.

TRUONG, V. G. *et al.* Novel endoscopic laser treatment of common bile duct stenosis using balloon catheter-integrated diffusing applicator (BCDA). In: **SPIE Advanced Biophotonics Conference (SPIE ABC 2021)**. SPIE, 2022. p. 15-17.

UNGARO, Y. *et al.* Ulcerative colitis. **Lancet**; 389: 1756–70, 2017.

VAISHNAVA, S. *et al.* The antibacterial lectin RegIII γ promotes the spatial segregation of microbiota and host in the intestine. **Science**, v. 334, n. 6053, p. 255-258, 2011.

VANTERPOOL HÉCTOR, M. *et al.* Tratamiento endoscópico del sangrado digestivo alto por úlcera péptica. **Revista Médica Electrónica**, v. 41, n. 5, p. 1192-1204, 2019.

VENZON, L. *et al.* Essential oil of *Cymbopogon citratus* (lemongrass) and geraniol, but not citral, promote gastric healing activity in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 98, p. 118–124, 2018.

VERRI, A.; MORA, A.; MOURA, V. Cytogenetic tests in evaluation of natural products genotoxicity stemmed of medical plants. **UNINGÁ Review ISSN**, v. 30, n. 1, p. 55-61, 2017.

VIANA, A. F. SC. *et al.* (–)-Myrtenol accelerates healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats and in human gastric adenocarcinoma cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 854, p. 139-148, 2019.

VINCZE, A. *et al.* Organ specific early endothelin release in cysteamine-induced duodenal ulceration in rats. **Proceedings of the Western Pharmacology Society**, v. 39, p. 1996, 1996.

VOUNOTRYPIDIS, P. *et al.* Interleukin-1 associations in inflammatory bowel disease and the enteropathic seronegative spondylarthritis. **Autoimmunity Highlights**, v. 4, n. 3, p. 87–94, 2013.

WALI, A. F. *et al.* Account of some important edible medicinal plants and their socio-economic importance. **Edible Plants in Health and Diseases: Volume 1: Cultural, Practical and Economic Value**, p. 325-367, 2022.

WALJEE, A. K. *et al.* Corticosteroid use and complications in a US inflammatory bowel disease cohort. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, p. 1–14, 2016.

WANG, L. *et al.* Natural Products from Mammalian Gut Microbiota. **Trends in Biotechnology**, p. 1–13, 2017.

WANG, X. *et al.* Gastroprotective activity of polysaccharide from *Herichium erinaceus* against ethanol-induced gastric mucosal lesion and pylorus ligation-induced gastric ulcer, and its antioxidant activities. **Carbohydr Polym.** v. 186, p. 100–109, 2018.

WANG, X. *et al.* Multiple sclerosis and inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis. **Annals of Clinical and Translational Neurology**, v. 9, n. 2, p. 132-140, 2022.

WANG, Z., LUO, H., XIA, H. Theaflavins attenuate ethanol induced oxidative stress and cell apoptosis in gastric mucosa epithelial cells via downregulation of the mitogen activated protein kinase pathway. **Molecular Medicine Reports**, 2018.

WATANABE, T. *et al.* Mechanisms of peptic ulcer recurrence: Role of inflammation. **Inflammopharmacology**, v. 10, n. 4–6, p. 291–302, 2002.

WELLS, Jerry M. *et al.* Homeostasis of the gut barrier and potential biomarkers. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 312, n. 3, p. G171-G193, 2017.

WELTZIEN, H. U. *et al.*. Austin (TX): Landes Bioscience ; 2000-2013 . Molecular Recognition of Haptens by T Cells : More Than One Way to Tickle the Receptor. **Madame Curie Bioscience Database [Internet]**. 2013.

WILSON, R. L.; STEVENSON, C. E. Anatomy and physiology of the stomach. In: **Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract, 2 Volume Set**. Elsevier, 2019. p. 634-646.

WINDSOR, J. W.; KAPLAN, G. G. Evolving epidemiology of IBD. **Current gastroenterology reports**, v. 21, p. 1-9, 2019.

WIRTZ, S. *et al.* Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. **Nat Protoc**, v. 2, n. 3, p. 541-546, 2007.

WITAICENIS, A. *et al.* Suppression of TNBS-induced colitis in rats by 4-methylesculetin, a natural coumarin: Comparison with prednisolone and sulphasalazine. **Chemico-Biological Interactions**, v. 195, n. 1, p. 76–85, 2012.

WOODS, Y. L.; CAREY, F. A. Pathology and histology of the oesophagus and stomach. **Surgery**, v. 35, n. 11, p. 612-618, 2017.

WRIGHT, H. L. *et al.* Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases. **Rheumatology**, v. 49, n. 9, p. 1618–1631, 2010.

XIA B. *et al.* The effects of microbiota-targeted approaches in inflammatory bowel disease: probiotics, probiotic foods, and prebiotics. **Current Opinion in Food Science**, v 49, February 2023.

XIE, X. *et al.* The global, regional and national burden of peptic ulcer disease from 1990 to 2019: a population-based study. **BMC gastroenterology**, v. 22, n. 1, p. 58, 2022.

XING, Mimi *et al.* Human-like collagen promotes the healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats by regulating NOS and growth factors. **Food & function**, v. 11, n. 5, p. 4123-4137, 2020.

XU, M. *et al.* Artificial intelligence in the diagnosis of gastric precancerous conditions by image-enhanced endoscopy: a multicenter, diagnostic study (with video). **Gastrointestinal endoscopy**, v. 94, n. 3, p. 540-548. e4, 2021.

YADAV, P. *et al.* Genetic Factors Interact With Tobacco Smoke to Modify Risk for Inflammatory Bowel Disease in Humans and Mice. **Gastroenterology**, v. 153, n. 2, p. 550–565, 2017.

YAMADA, A. *et al.* Role of regulatory T cell in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. **World Journal of Gastroenterology**, v. 22, n. 7, p. 2195–2205, 2016.

YAMAMOTO, M. *et al.* Hesperidin metabolite hesperetin-7-O-glucuronide, but not hesperetin-3[prime or minute]-O-glucuronide, exerts hypotensive, vasodilatory, and anti-inflammatory activities. **Food & Function**, v. 4, n. 9, p. 1346–1351, 2013.

YANDRAPU, H., SAROSIEK, J. Protective Factors of the Gastric and Duodenal Mucosa: An Overview. **Current Gastroenterology Reports**, v. 17, n. 6, p. 1–8, 2015.

YANDRAPU, H.; SAROSIEK, J. Protective Factors of the Gastric and Duodenal Mucosa: An Overview. **Curr. Gastroenterol. Rep.**, v. 17, n. 6, p. 1–8, 2015.

YANG, F. *et al.* SDH, a novel diarylheptane compound, is a potential treatment for inflammatory bowel disease by restoring epithelial barrier function. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 151, July 2022.

YANG, X. *et al.* Vonoprazan: A Novel and Potent Alternative in the Treatment of Acid-Related Diseases. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 63, n. 2, p. 302–311, 2018.

YAZDI, A. S., GHORESCHI, K. The Interleukin-1 Family. In: Ma X. (eds) *Regulation of Cytokine Gene Expression in Immunity and Diseases*. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, vol 941. Springer, Dordrecht (pp. 21–29), 2016.

YEO *et al.* Humulene Inhibits Acute Gastric Mucosal Injury by Enhancing Mucosal Integrity. **Antioxidants** v. 10, p. 761, 2021.

YILDIZ, G. *et al.* Resveratrol pretreatment ameliorates TNBS colitis in rats. **Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery**, v. 9, n. 2, p. 134–140, 2015.

YUKSEL, H. *et al.* Effectiveness of breathing exercises during the second stage of labor on labor pain and duration: a randomized controlled trial. **Journal of integrative medicine**, v. 15, n. 6, p. 456–461, 2017.

YUN, S. *et al.* Gastroprotective effect of mature silkworm, *Bombyx mori* against ethanol-induced gastric mucosal injuries in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 39, n. October, p. 279–286, 2017.

ZENG, Junhao *et al.* Chlorogenic Acid Suppresses miR-155 and Ameliorates Ulcerative Colitis through the NF- κ B/NLRP3 Inflammasome Pathway. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 64, n. 23, p. 2000452, 2020.

ZENG, Y. *et al.* A novel gut-restricted RIPK1 inhibitor, SZ-15, ameliorates DSS-induced ulcerative colitis. **European Journal of Pharmacology**, v. 937, 2022.

ZHANG, J., *et al.* Neuroprotective Effects of Theaflavins Against Oxidative Stress-Induced Apoptosis in PC12 Cells. **Neurochemical Research**, v. 41, n. 12, p. 3364–3372, 2016.

ZHANG, X. *et al.* Biocompatible, adhesive and stable GelMAc/PVAMA/MPDA@Cur hydrogels regulate immune response to improve endoscopic submucosal dissection-induced gastric ulcer healing *in vivo*. **Applied Materials Today**, v. 28, 2022.

ZHANG, Y. *et al.* Alpha-boswellic acid protects against ethanol-induced gastric injury in rats: involvement of nuclear factor erythroid-2-related factor 2/heme oxygenase-1 pathway. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, n. 4, p. 514–522, 2016.

ZHOU, J. *et al.* Programmable probiotics modulate inflammation and gut microbiota for inflammatory bowel disease treatment after effective oral delivery. **Nature Communications**, v. 13, n. 1, p. 3432, 2022.

ZHU, J. *et al.* Genetic liability to acne is associated with increased risk of inflammatory bowel disease: A Mendelian randomization study. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 87, p. 702–703, 2022.

ZHU, Q. *et al.* Epithelial dysfunction is prevented by IL-22 treatment in a *Citrobacter rodentium*-induced colitis model that shares similarities with inflammatory bowel disease. **Mucosal Immunology**, v. 15, p. 1338-1349, 2022.