



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Vanisse Portela Ramos Bulcão Loureiro

**Atividade de *Orbignya phalerata* (babaçu) na prevenção da úlcera péptica
em ratos Wistar: estudo morfológico e de citocinas**

Rio de Janeiro

2022

Vanisse Portela Ramos Bulcão Loureiro

Atividade de *Orbignya phalerata* (babaçu) na prevenção da úlcera péptica em ratos

Wistar: estudo morfológico e de citocinas

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Gerson Ricardo de Souza Domingues

Coorientador: Prof. Dr. Orlando José dos Santos

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

R175 Ramos, Vanisse Portela

Atividade de *Orbignya phalerata* (babaçu) na prevenção da úlcera péptica em ratos Wistar: estudo morfológico e de citocinas / Vanisse Portela Ramos Bulcão Loureiro. – Rio de Janeiro, 2022.
69 f.

Orientador: Prof. Dr. Gerson Ricardo de Souza Domingues
Coorientador: Prof. Dr. Orlando José dos Santos

Tese (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Úlcera Péptica – Teses. 2. Plantas Mediciniais - Teses. 3. Ratos como animal de laboratório – Teses. I. Domingues, Gerson Ricardo de Souza. III. Santos, Orlando José dos. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. IV. Título.

CDU 616.33:633.88

Bibliotecário: Felipe Caldonazzo
CRB7/7341

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Vanisse Portela Ramos Bulcão Loureiro

**Atividade de *Orbignya phalerata* (babaçu) na prevenção da úlcera péptica em ratos
Wistar: estudo morfológico e de citocinas**

Tese apresentada, como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas, da Universidade do
Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 22 de novembro de 2022.

Banca Examinadora: _____

Prof. Dr. Gerson Ricardo de Souza Domingues (orientador)

Hospital Universitário Pedro Ernesto - UERJ

Prof. Dr. Orlando José dos Santos (coorientador)

Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Eduardo Haruo Saito

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Marcos Bettini Pitombo

Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Sebastião Barreto de Brito Filho

Universidade Federal do Maranhão

Rio de Janeiro

2022

A Deus sempre presente em minha história.

Aos meus pais Gaspir e Eulina e às minhas irmãs Vanêssa e Viviane pelo apoio incondicional.

Ao meu esposo Carlos Bulcão, companheiro e cúmplice de todos os momentos.

Aos meus filhos, meus tesouros, Manuela, Mateus e Isabela, por serem o sentido da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, primeiramente, pela grande oportunidade dessa bênção que é o doutorado e por tantas outras concebidas.

Aos meus pais, Gaspir e Eulina, a quem devo tudo, nunca poderei pagar o amor infinito e incondicional. Ao meu esposo, Carlos Bulcão, pela cumplicidade e por saber entender tantas ausências. Aos meus filhos, Manuela, Mateus e Isabela, por serem o sentido da minha vida.

Às minhas irmãs, Vanêssa e Viviane, por me apoiaram e incentivarem a lutar pelos meus sonhos. Aos meus cunhados: Alysson e Gustavo, por toda prestabilidade e suporte.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Gerson Ricardo de Souza Dominguese e Prof. Dr. Orlando José dos Santos. Gerson, por ter acreditado em mim, pela disponibilidade, me orientando mesmo diante da pandemia e a distância. Orlando, com sua competência profissional e humildade, em quem me inspiro para buscar ser sempre melhor. Obrigada a vocês pela paciência, confiança e ensinamentos. Vocês me transformaram.

À Prof.^a Dra. Rita Carvalhal por todo incentivo e puxões de orelha, tudo foi aprendido. A Ilka por toda parceria e amizade. Nada seria possível sem o apoio de vocês. Muito obrigada.

Ao meu chefe, Prof. Dr. Sebastião Barreto de Brito Filho, por todas as oportunidades e incentivo. Serei eternamente grata.

Ao Prof. Dr. Silvio pela ajuda estatística. À Prof.^a Dra. Maria do Socorro Diogenes pela confiança e disponibilidade junto ao laboratório Experimental da Dor.

À minha amiga Rosana, pela confidencialidade e pelas ideias, sempre criativas e salvadoras.

Ao Prof. Me. Marcos pelo cuidado e busca da perfeição no preparo dos extratos.

À Dra. Syomara pela disponibilidade na leitura das lâminas. A Sulayane pelo suporte na imuno-histoquímica.

À estrutura do Hospital Universitário e da Universidade Federal do Maranhão.

Aos membros da Liga Acadêmica de Cirurgia Experimental do Maranhão (LACEMA) envolvidos na pesquisa. Como sempre disse, sem vocês nada seria possível.

A todos os doutores das disciplinas, obrigatórias ou eletivas, pela grande contribuição. Aos amigos conquistados nesse caminho.

Enfim, a todas as pessoas que direta ou indiretamente estiveram envolvidas na construção desse grande sonho; meu muito obrigada.

A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso.

John Ruskin

RESUMO

RAMOS, Vanisse Portela. ***Orbignya phalerata* (babaçu) na prevenção da úlcera péptica em ratos Wistar**: estudo morfológico e citocinas. 2022. 69 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

A doença ulcerosa péptica tem aumentado sua incidência nos últimos anos; acredita-se que seja devido à alta prevalência de infecção por *H. Pylori* no mundo e pelo uso indevido de AINEs pela população. Atualmente, drogas gastroprotetoras são usadas para a prevenção e tratamento das úlceras pépticas, contudo nenhum medicamento é isento de efeitos colaterais. A preocupação com a cura de doenças sempre se fez presente ao longo da história da humanidade. As propriedades do babaçu (*Orbignya phalerata*) vêm sendo estudadas, pois este já foi incorporado pela população do nordeste brasileiro pelos benefícios na prevenção e tratamento de doenças, porém com pouca comprovação científica. O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade do extrato de babaçu em prevenir a resposta inflamatória no tecido gástrico de ratos Wistar, expostos à Indometacina, comparado controle positivo e negativo. Os animais foram distribuídos em três grupos de cinco ratos cada. O Grupo I recebeu o extrato de babaçu, o Grupo II recebeu omeprazol, como controle positivo, e o Grupo III recebeu água destilada, como controle negativo. Essas três substâncias foram administradas por gavagem intragástrica durante três dias consecutivos. No quarto dia foi feita a indução da úlcera com indometacina intragástrica. No quinto dia, realizada a laparotomia com coleta de amostras de sangue e gastrectomia total. As amostras gástricas foram lavadas com tampão salina fosfato, em seguida, a lavagem gástrica e o tecido gástrico foram analisados sistematicamente. Os parâmetros para avaliação foram: presença ou ausência de inflamação, necrose, fibrose, reepitelização, neopapilar e extensão da úlcera na análise histológica da amostra gástrica, bem como os níveis de Interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) na lavagem gástrica e no plasma pelo teste de ELISA usando o kit Quantikine. A avaliação histológica encontrou sinais significativamente maiores de dano tecidual no grupo água destilada quando comparado aos grupos Babaçu e Omeprazol. A análise da lavagem gástrica também mostrou concentrações estatisticamente maiores de IL-6 e TNF- α ($p=0,032$) no grupo controle negativo do que nos grupos Babaçu e Omeprazol. Este estudo demonstrou que o extrato aquoso de babaçu possui a propriedade de prevenir danos nos tecidos gástricos em ratos expostos à indometacina, tal como o Omeprazol, o tratamento farmacêutico estabelecido para a prevenção de úlcera gástrica.

Palavras-chave: Prevenção. Úlcera péptica. Plantas medicinais. Ratos.

ABSTRACT

RAMOS, Vanisse Portela. ***Orbignyaphalerata* (babaçu) in the prevention of peptic ulcer in Wistar rats: morphological and cytokine study.** 2022. 69 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Peptic ulcer disease has increased in incidence in recent years; it is believed to be due to the high prevalence of *H. Pylori* infection in the world and the misuse of NSAIDs by the population. Currently, gastroprotective drugs are used for the prevention and treatment of peptic ulcers, however no drug is free from side effects. The use of plants as medicine is probably as old as the appearance of man himself. The concern with curing diseases has always been present throughout human history. The properties of babassu (*Orbignya phalerata*) have been studied, as it has already been incorporated by the population of northeastern Brazil for its benefits in the prevention and treatment of diseases, but with little scientific evidence. The objective of this study was to evaluate the capacity of babassu extract on prevent inflammatory response in *Wistar* rats' gastric tissue, exposed to Indomethacin, against positive and negative control. The animals were distributed in three groups of five rats each. Group I received the babassu extract, Group II received omeprazole, as positive control, and Group III received distilled water, as negative control. Those three substances were administrated by intragastric gavage. 24 hours after the ulcer induction, with intragastric indomethacin, blood samples were collected, and total gastrectomy was performed. The gastric samples were rinsed with 0,9% saline, then gastric lavage and gastric tissue were systematic analyzed. The parameter for evaluation were presence or absence of Inflammation, Necrosis, Fibrosis, Reepithelization, Neocapillary and Ulcer extension on histologic analysis of the gastric sample, as well as Interleukin-6 (IL-6) and Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) levels in gastric lavage and plasma. The histologic assessment has found significantly higher signals of tissue damage, in number, on distilled water group when compared with Babassu group and Omeprazole. The gastric lavage analysis has also shown significant statistically higher concentrations of IL-6 and TNF- α in gastric lavage($p=0,032$) in negative control group than in both Babassu and Omeprazole groups. Finally, this study has found that Aqueous Babassu Extract has the property of prevent gastric damage tissue in rats exposed to indomethacin, such property was found to be equivalent to the Omeprazole property, the establish pharmaceutical treatment for preventing

Keywords: Prevention. Peptic ulcer. Medicinal plants. Rats.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-------------|--|----|
| Figura 1 - | Babaçu para experimentação | 20 |
| Figura 2 - | Mesocarpo do babaçu | 20 |
| Figura 3 - | Mesocarpo do babaçu em pó | 20 |
| Figura 4 - | Bomba suctora para filtração | 21 |
| Figura 5 - | Frascos escuros para conservação do extrato | 22 |
| Figura 6 - | Balança de alta capacidade | 22 |
| Figura 7 - | Estufa | 23 |
| Figura 8 - | Animais para experimentação | 24 |
| Figura 9 - | Administração por gavagem intra-gástrica | 24 |
| Figura 10 - | Fluxograma do desenho experimental | 25 |
| Figura 11 - | Amostra de Quetamina e Xilazina | 26 |
| Figura 12 - | Amostra de sangue intracardiaco | 27 |
| Figura 13 - | <i>Eppendorf</i> com sangue intracardiaco | 27 |
| Figura 14 - | Peça gástrica | 28 |
| Figura 15 - | Úlceras macroscópicas em estômago | 32 |
| Figura 16 - | Fotomicrografias de úlceras com coloração hematoxilina - eosina, 10x aumento | 34 |
| Gráfico 1 - | Análise sanguínea e sobrenadante da interleucina-6 | 36 |
| Gráfico 2 - | Análise sanguínea e sobrenadante do fator de necrose tumoral alfa | 37 |
| Gráfico 3 - | Regressão da densidade óptica de TNF- α | 38 |
| Gráfico 4 - | Regressão da densidade óptica de IL-6 | 39 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 1 – | Características macroscópicas da lesão gástrica induzida | 32 |
| Tabela 2 – | Característica histológica da lesão gástrica induzida | 33 |
| Tabela 3 – | Testes de Kruskal Wallis e de Dunn | 39 |
| Tabela 4 - | Testes de ANOVA e de Tukey | 40 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------|---|
| AINEs | Anti-inflamatório não esteroidais |
| ANOVA | Análise de Variância |
| CAFe | Comunidade Acadêmica Federada |
| CAPES | Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior |
| CEUA | Comitê de Ética no Uso de Animais |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| EDTA | Ácido Etilenodiaminoacético |
| ELISA | Ensaio Imunoabsorvente Ligado à Enzima |
| FNT | Fator de necrose tumoral |
| H2Ras | Receptores H2 da histamina |
| H. pylori | <i>Helicobacter pylori</i> |
| HU | Hospital Universitário |
| IBP | Inibidor de Bomba de Prótons |
| IL-6 | Interleucina-6 |
| LACEMA | Liga Acadêmica de Cirurgia Experimental do Maranhão |
| MIQCB | Movimentos Interestaduais de Quebradeiras de Coco Babaçu |
| PBS | Tampão salina fosfato |
| UERJ | Universidade do Estado do Rio de Janeiro |
| UFMA | Universidade Federal do Maranhão |

SUMÁRIO

| | | |
|--------|---|----|
| | INTRODUÇÃO | 13 |
| 1 | OBJETIVOS | 17 |
| 1.1 | Geral | 17 |
| 1.2 | Específicos | 17 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODO | 18 |
| 2.1 | Tipo de estudo | 18 |
| 2.2 | Local e período | 18 |
| 2.3 | Drogas e produtos químicos | 18 |
| 2.4 | Material vegetal | 19 |
| 2.5 | Preparação do extrato aquoso | 19 |
| 2.6 | Animais | 23 |
| 2.7 | Organização amostral | 24 |
| 2.8 | Desenho experimental | 25 |
| 2.9 | Morte dos animais | 26 |
| 2.10 | Destino das carcaças | 26 |
| 2.11 | Análise do sangue | 26 |
| 2.12 | Análise das lesões gástricas | 28 |
| 2.12.1 | <u>Análise macroscópica</u> | 29 |
| 2.12.2 | <u>Análise histológica (microscópica)</u> | 29 |
| 2.13 | Tabulação e análise de dados | 30 |
| 2.14 | Aspectos éticos | 30 |
| 3 | RESULTADOS | 32 |
| 3.1 | Características macroscópicas | 32 |
| 3.2 | Características histológicas | 33 |
| 4 | DISCUSSÃO | 41 |
| | CONCLUSÃO | 46 |
| | REFERÊNCIAS | 47 |
| | APÊNDICE – Protocolo de análise macroscópica / histológica e avaliação dos animais | 51 |
| | ANEXO A - Protocolo de análise macroscópica | 66 |

| | |
|---|----|
| ANEXO B - Protocolo de análise histológica | 67 |
| ANEXO C - Aprovação do Comitê de Ética em Uso de Animais | 69 |

INTRODUÇÃO

Úlcera é o termo usado para designar lesões abertas com perda de tecido. Úlceras pépticas são defeitos na mucosa gastrointestinal que se estendem através da *muscularis mucosae* - a fina camada de músculo liso encontrada em grande parte do tubo digestivo (estômago e/ou duodeno) localizada entre a lâmina própria e a submucosa¹.

Do ponto de vista epidemiológico, a úlcera gastrointestinal é uma doença altamente dinâmica, sendo por isso sua prevalência difícil de ser estimada em razão da subjetividade dos sintomas e da semelhança do quadro clínico com a dispepsia^{2,3}.

Embora seja uma doença frequente, não se conhece de modo preciso a real incidência na população brasileira. As estatísticas variam de 1 a 20%, o que reflete não somente as diferenças nas coletas de dados, mas também profundas variações nas populações estudadas⁴. Estima-se que no Brasil, a prevalência de úlcera em homens seja de 0,2% e 0,1%, nas mulheres; que a taxa de mortalidade nacional seja de 3,0/100 mil habitantes (3,6/100 mil em homens; 2,3/100 mil em mulheres)⁵.

A clássica afirmação de que 10% a 15% da população apresentará doença sintomática pelo menos uma vez ao longo da vida deve ser analisada com reserva^{6,7}.

A etiologia da úlcera péptica está relacionada ao desequilíbrio entre fatores agressores e protetores, promovendo uma interrupção na integridade da mucosa². Entre outros mecanismos, a úlcera péptica é mediada por citocinas inflamatórias, no primeiro pela perda da integridade da mucosa e no segundo pela inibição da secreção das células parietais¹.

A maioria das úlceras pépticas está associada à colonização por *Helicobacter pylori*. Mais de 90% das úlceras do duodeno e cerca de 70% das úlceras do estômago estão associadas ao *Helicobacter pylori*¹. O uso indiscriminado de medicamentos como: anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), agentes antiplaquetários, como ácido acetil salicílico de baixa dose e seletivo, inibidores de reabsorção de serotonina também estão relacionados com a formação da úlcera péptica. Os anti-inflamatórios não hormonais (AINHs) estão associados a menos de 5% das úlceras do duodeno e a cerca de 30% das úlceras do estômago⁴. Menos de 1% das úlceras pépticas estão relacionadas a causas raras como a síndrome de Zollinger-Ellison, a doença de Crohn e a tuberculose, ou têm causas desconhecidas. Fatores como sedentarismo, ingestão alcoólica, comida apimentada, drogas e infecções têm sido implicadas na patogênese².

As apresentações clínicas da úlcera péptica nem sempre podem ser diretamente associadas com os achados morfológicos em exames diagnósticos. Dessa forma, ela pode ser assintomática ou ter como primeira apresentação uma complicação súbita como: perfuração aguda ou hemorragia; ou diagnosticada incidentalmente por endoscopia digestiva alta⁸.

Os objetivos do tratamento são o alívio da dor, a cicatrização da úlcera e a prevenção das complicações. O tratamento também pode evitar a recorrência da doença. Por quase um século, o melhor método de tratamento para a úlcera péptica era o cirúrgico, com resultados geralmente bem-sucedidos, com a opção da vagotomia e vagotomia seletiva. Porém, com o advento da terapia farmacológica, mais úlceras foram tratadas com sucesso por via medicamentosa e o número de casos cirúrgicos diminuiu, sendo a cirurgia realizada em casos refratários e/ou complicação^{8,9}.

Embora não exista um esquema farmacológico terapêutico ideal, vários têm sido usados com sucesso no tratamento da úlcera péptica. As principais classes medicamentosas utilizadas são os inibidores da bomba de prótons (IBPs), os antagonistas dos receptores H₂ da histamina (H₂RAs) e análogos de prostaglandinas. A erradicação do *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), dada sua prevalência, por meio do uso de um inibidor da bomba de prótons (IBP) e dois antimicrobianos é muito realizada. No entanto, o tratamento medicamentoso não é isento de efeitos colaterais¹⁰.

O uso de plantas medicinais está cada vez mais difundido como tratamento coadjuvante à terapia vigente. O uso de plantas como medicamento é provavelmente tão antigo quanto o aparecimento do próprio homem. A preocupação com a cura de doenças sempre se fez presente ao longo da história da humanidade¹¹.

Bem antes do surgimento da escrita, o homem já utilizava ervas para fins alimentares e medicinais. Buscando as espécies vegetais mais apropriadas para sua alimentação ou para cura de seus males, nossos ancestrais foram descobrindo as que serviam para se alimentar, se medicar, as que eram venenosas e as que causavam efeitos alucinógenos¹².

Um tratado médico datado de 3.700 a.C., escrito pelo imperador chinês Shen Wung, é um dos mais antigos documentos conhecidos sobre as propriedades medicinais das plantas¹². Existe uma grande quantidade de espécies em todo o mundo e a Amazônia abriga 50% da biodiversidade do Planeta. De acordo com dados de instituições de pesquisas da região, cerca de cinco mil, dentre as 25 mil espécies amazônicas, já foram catalogadas e suas propriedades terapêuticas estudadas^{11,12}.

Do ponto de vista científico, no entanto, ainda é um campo pouco estudado e difundido no país, apesar da riqueza da flora brasileira, ficando os estudos na área mais restritos à antropologia e ao folclore, através da medicina popular¹¹.

Esta tese tem como pesquisa o extrato do babaçu.

O babaçu (*Orbignya phalerata*) também chamado bauaçu, baguaçu, auaçu, aguaçu, guaguaçu, uauaçu, coco-de-macaco, coco-de-palmeira, coco-naiá, coco-pindoba e palha-branca^{13,14} é uma palmeira nativa do meio norte do Brasil, tendo sua maior produção no Estado do Maranhão. Piauí, Pará e Tocantins também são grandes produtores nacionais¹⁴.

Nessas regiões vivem as mulheres quebradeiras de coco babaçu. Mais de 300 mil trabalhadoras rurais que vivem em função do extrativismo da palmeira e criaram em 1995, o Movimento Interestadual das Quebradeiras de Coco Babaçu (MIQCB). Movimento que luta pelo reconhecimento das quebradeiras de coco como uma categoria profissional^{14,15}. Da árvore do babaçu se extrai o seu sustento. As palhas das folhas são transformadas em cestos; a casca do coco, em carvão e a castanha em azeite e sabão. Organizadas, criaram cooperativas para produção e comercialização de seus produtos, como farinha, azeite, sabonete e outros derivados^{13,15}.

O coco babaçu é constituído por quatro partes. O epicarpo, endocarpo, mesocarpo e a amêndoa. O pó do mesocarpo do coco babaçu é popularmente conhecido como amido e tem sido usado como alimento e como medicamento por apresentar atividade anti-inflamatória, imunomoduladora, analgésica e antipirética¹⁴.

A úlcera foi induzida com Indometacina (Indocid)[®] que é um anti-inflamatório não esteroide (AINE) inibidor das prostaglandinas, indicado no tratamento de: estados ativos de artrite reumatoide, artrite reumatoide juvenil moderada a severa, osteoartrite, artropatia degenerativa do quadril, espondilite anquilosante e artrite gotosa aguda^{4,16}.

A indometacina também é usada nos distúrbios músculo esqueléticos agudos, como: bursite, tendinite, sinovite, tenossinovite, capsulite de ombro, entorses e distensões¹⁶. Lombalgia, febre, inflamação, dor, trismo, edema após procedimentos odontológicos¹⁶. Inflamação, dor e edema após procedimentos cirúrgicos ortopédicos e procedimentos não cirúrgicos associados com redução e imobilização de fraturas ou deslocamentos¹⁶. Dor e sintomas associados da dismenorreia primária¹⁶.

A absorção é máxima dentro das 0,5 a 2 horas após a ingestão da dose recomendada. O tempo médio para início da ação é de 30 minutos¹⁶.

A alimentação reduz a taxa de absorção da indometacina (e da maioria dos AINE), mas tem pouco efeito na sua excreção¹⁶.

Como qualquer medicamento, a Indometacina possui reações adversas, distúrbios gastrointestinais como náuseas, vômitos, azia, constipação intestinal, diarreia, formação de úlceras podem ser diminuídas com redução da dose ou ingestão do Indocid® com alimentos ou antiácidos¹⁶.

A utilização de plantas na prevenção e no tratamento de doenças é uma prática milenar¹⁴. Diversos estudos têm sido realizados utilizando-se plantas e demonstrando que podem ser úteis no tratamento coadjuvante de úlceras gástricas em humanos e vários modelos animais por meio de diferentes mecanismos. Um estudo de revisão recente comprovou que as plantas medicinais são efetivas na condução da úlcera gástrica^{12,17-19}.

A realização dessa pesquisa se justifica pela relevância dos impactos da úlcera péptica na qualidade de vida da população afetada, bem como diminutas pesquisas que comprovem a eficácia do uso do extrato de *Orbignya phalerata* (babaçu) como agente protetor gástrico, utilizando metodologia de indução de úlcera péptica com Indometacina em ratos wistar.

1 OBJETIVOS

1.1 Geral

Estudar a atividade antiulcerogênica do extrato do babaçu em ratos Wistar antes da indução de úlcera péptica.

1.2 Específicos:

- a) determinar efeitos do extrato do babaçu frente a indução de úlcera péptica em ratos Wistar;
- b) comparar a atividade antiulcerogênica do extrato do babaçu e a profilaxia convencional de úlcera péptica em ratos Wistar antes da indução de úlcera péptica;
- c) avaliar o processo inflamatório dos estômagos submetidos à lesão gástrica induzida pelo anti-inflamatório Indometacina.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo experimental com ratos Wistar.

2.2 Local e período

O extrato preparado no laboratório de Química da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), localizado no campus do Bacanga da UFMA.

A experimentação ocorreu no Laboratório Experimental da Dor, da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) com suporte da Prof.^a Dra. Maria do Socorro de Sousa Cartágenes, do Veterinário Hugo Leite e de membros da Liga Acadêmica de Cirurgia Experimental do Maranhão (LACEMA), localizado no prédio da Pós-Graduação da Universidade Federal do Maranhão. A experimentação foi realizada no período de 21 a 25 de fevereiro de 2022. A análise histopatológica realizada no Laboratório de Patologia do HUUFMA, por uma única patologista, localizado no Hospital Universitário (HU). A análise imuno-histoquímica foi realizada no Laboratório Multisetorial da UFMA por uma única bioquímica.

O estudo sucedeu-se no período de 2018 a 2022.

2.3 Drogas e produtos químicos

Foram utilizados Omeprazol (Cimed[®]), Água destilada, Indometacina (Indocid, Aspen Pharma[®]) Quetamina (Ketalar, Pfizer[®]), Xilazina (Acepran, 1% Vetnil[®]), anticoagulante EDTA e formol a 10%.

O Omeprazol foi utilizado pela manhã com o animal em jejum na dose de 20mg/kg. A cápsula foi aberta e seu conteúdo administrado por gavagem imediatamente

após diluição dos microgrânulos intactos em água fria, conforme orientado na bula do medicamento²⁰.

A úlcera foi induzida por gavagem intragástrica com Indometacina (Indocid)[®] na concentração de 30mg/Kg¹⁹.

2.4 Material vegetal

Foi utilizado 500g do mesocarpo do babaçu obtido de produtores locais em São Luís-MA, autenticado por profissional capacitado e lavado com tampão salina fosfato com ph 7,2 (PBS).

2.5 Preparação do extrato aquoso

O babaçu está catalogado no Herbário Ático Seabra do Departamento de Farmácia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão com número 01371.

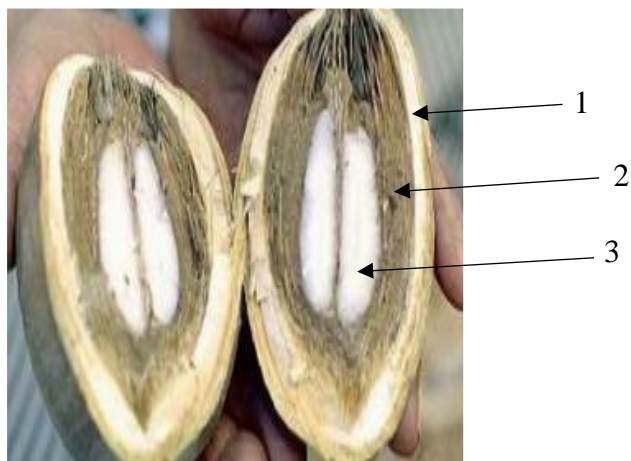
Do babaçu foi utilizado o pó do mesocarpo (que corresponde a parte entre a semente e a casca; quando maduro, ao ser retirado da casca, transforma-se em pó) (Figuras 1, 2 e 3, a seguir). O mesocarpo do babaçu foi utilizado na concentração de 500mg/kg de peso do animal oferecido por gavagem intragástrica. Dosagem testada e liberada pelo CEUA sem toxicidade ao animal.

Figura 1 - Babaçu para experimentação



Fonte: A autora, 2022.

Figura 2 - Mesocarpo do babaçu



Legenda: Setas 1: casca; 2: mesocarpo; 3: semente.
Fonte: A autora, 2022.

Figura 3 - Mesocarpo do babaçu em pó



Fonte: A autora, 2022.

Esse produto diluído numa proporção de 1g da massa obtida para 3mL de água destilada (para permitir diluição) e deixado em extração durante 24 horas. Depois submetido a três filtrações por três dias consecutivos para obtenção e utilização de extrato aquoso. A filtração permitiu a separação em duas fases: uma líquida e outra semissólida. A utilizada em nossa pesquisa foi a fase líquida. A fase semissólida foi desprezada. A filtração nos dois primeiros dias se processou com auxílio de filtro de papel (103, Melitta®). No terceiro dia para última filtragem, foi utilizada uma bomba suctora (72 marca HP®) acoplada a um frasco de laboratório Kitassatu com algodão e auxílio de uma mangueira de sucção, para retirar impurezas ainda presentes (Figura 4).

Figura 4 - Bomba suctora para filtração



Fonte: A autora, 2022.

Após o preparo, o extrato foi armazenado em frascos escuros para evitar incidência de luz e diminuir ação oxidativa que pudessem alterar os componentes químicos do mesmo (Figura 5).

Figura 5 - Frascos escuros para conservação do extrato



Fonte: A autora, 2022.

Para obtenção do peso seco do extrato, foi utilizado um frasco, pesado (balança marca: Uni Bloc[®] de alta capacidade) (Figura 6) e adicionado 0,5mL do extrato com colocação em estufa (marca: Médica[®], 40L) a 80°C para retirada de toda a umidade, para cálculo do rendimento (Figura 7, a seguir).

Figura 6 - Balança de alta capacidade



Fonte: A autora, 2022.

Figura 7 - Estufa



Fonte: A autora, 2022.

2.6 Animais

Foram utilizados 15 ratos, machos, adultos da linhagem albina Wistar pesando entre 180 e 240 gramas; obtidos no Biotério da Universidade Federal do Maranhão.

Com seis semanas de vida os animais foram transferidos para o Laboratório Experimental da Dor da UFMA para adaptação por duas semanas. Os animais foram mantidos em gaiolas, com tampa gradeada, zincada e fundo forrado com xilana. Cinco ratos por gaiolas. As gaiolas higienizadas três vezes por semana. Todos os animais mantidos no laboratório por períodos diários de 12 horas de luz, sob fluxo contínuo de ar e à temperatura ambiente. Água e ração oferecidos *ad libitum* (Figura 8, a seguir). Todos os itens pertinentes ao experimento, como aquisição, transporte, condições do biotério, nutrição, cuidados veterinários e registros, foram seguidos de acordo com os Princípios Internacionais Orientadores para a Pesquisa Biomédica Envolvendo Animais e os pesquisadores procuraram tratar os animais evitando ou minimizando os desconfortos, riscos ou dor, como imperativos éticos.

Figura 8 - Animais para experimentação



Fonte: A autora, 2022.

2.7 Organização amostral

Os animais foram distribuídos em três grupos de cinco animais cada.

O grupo I recebeu extrato aquoso de babaçu (500g/Kg). O grupo II recebeu Omeprazol (20mg/Kg). O grupo III recebeu água destilada no volume correspondente ao extrato administrado.

Os produtos foram administrados por gavagem intragástrica (Figura 9), por três dias consecutivos. No quarto dia, a úlcera foi induzida com Indometacina (30mg/Kg). No quinto dia, foi provocada a morte dos animais para pesquisa.

Figura 9 - Administração por gavagem intra-gástrica



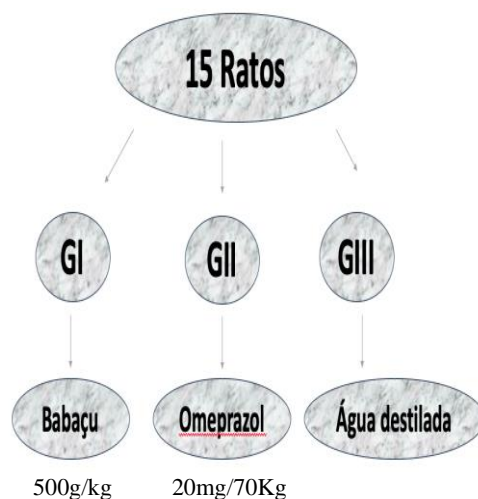
Fonte: A autora, 2022.

Após anestesia com solução de Xilazina e Quetamina na pata do animal, cada rato foi submetido a epilação abdominal como preparo para a laparotomia, gastrectomia total e aspirado sanguíneo.

2.8 Desenho experimental

Como representado no fluxograma do desenho experimental (Figura 10), cada grupo (Babaçu, Omeprazol e Indometacina) se apresentou com cinco animais (GI, GII e GIII).

Figura 10 - Fluxograma do desenho experimental



Nota: Gavagem realizada por 3 dias consecutivos. No quarto dia úlcera induzida com Indometacina nos três grupos. No quinto dia realizada laparotomia e coleta das amostras.

Fonte: A autora, 2022.

A princípio, foi realizada experimentação com cinco animais pilotos para comprovação da formação da úlcera e teste de suas características.

2.9 Morte dos animais

A morte dos animais foi realizada por meio de aprofundamento anestésico usando Quetamina + Xilazina (Figura 11) (3 a 4x a dose anestésica habitual 100mg/Kg de peso e 10mg/Kg de peso - respectivamente).

Figura 11 - Amostra de Quetamina e Xilazina



Fonte: A autora, 2022.

2.10 Destino das carcaças

As carcaças dos ratos dispensadas no lixo biológico/infectante do laboratório Multiusuário da UFMA.

2.11 Análise do sangue

A coleta do sangue intracardíaco por punção e aspiração (Figura 12, a seguir) foi realizada em todos os animais no quinto dia de experimentação.

Figura 12 - Amostra de sangue intracardíaco



Fonte: A autora, 2022.

Pelo menos 1mL de sangue foi coletado por punção e aspiração intracardíaca e armazenado em *ependorf*. Cada *ependorf* foi anticoagulado com 2 gotas de EDTA antes de receber o volume sanguíneo aspirado (Figura 13).

Figura 13 - *Eppendorf* com sangue intracardíaco

Fonte: A autora, 2022.

Os *ependorfs* foram numerados de R1 a R15 (correspondendo aos 15 animais estudados) e encaminhados aos cuidados de uma única bioquímica para análise citocinas, com objetivo de mascaramento para evitar viés de aferição.

Realizada centrifugação 3000rpm por 5 minutos e coletado o soro que foi congelado no freezer a -80°C .

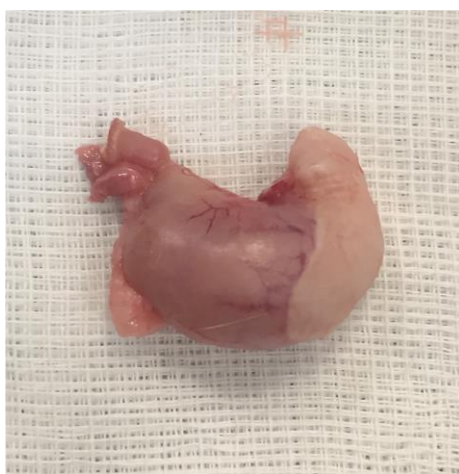
Os níveis de interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (FNT) foram medidos usando o Kit Quantikine ELISA.

2.12 Análise das lesões gástricas

A gastrectomia total foi realizada em todos os animais no quinto dia de experimentação.

A peça gástrica foi retirada compreendendo todo o estômago, com margem de 0,5cm do esôfago distal e 0,5cm do duodeno proximal (Figura14).

Figura 14 - Peça gástrica



Fonte: A autora, 2022.

Os estômagos dos animais foram abertos pela grande curvatura, retirado excesso de ração, lavados delicadamente com PBS (tampão salina fosfato com pH 7,2) esse sobrenadante foi armazenado em tubos falcon e numerados de R1-R15 (correspondendo aos 15 animais estudados) foi realizada inicialmente análise macroscópica das peças.

O produto do lavado do estômago (sobrenadante) foi encaminhado de forma numerada R1-R15 para análise de citocinas e armazenado em tubos de *ependorfs*; entregues a uma única imuno-histoquímica com objetivo de mascaramento para evitar viés de aferição.

Os estômagos foram fixados abertos em isopor, imersos em formol a 10%, e encaminhadas a uma única patologista. Utilizado microscópio óptico tetraocular, com ocular de 10x e objetivas de 4x e 10x.

2.12.1 Análise macroscópica

A análise macroscópica se baseou na presença ou ausência de úlcera, hemorragia, hiperemia de mucosa e perda de prega mucosa, conforme Curso Iberoamericano de Validação de Plantas Medicinais com Atividades Gastrointestinais realizado pela Escola Paulista de Medicina em 2002 (ANEXO A).

Foram analisados presença ou ausência de úlcera, hiperemia de mucosa, prega mucosa, hemorragia.

2.12.2 Análise histológica (microscópica)

As peças gástricas foram fixadas com tachinhas em isopor e imersas em formol a 10%. Foram enviadas para análise histopatológica por um único profissional capacitado no Serviço de Patologia do HUUFMA.

Com análise do número e características das úlceras, identificação de inflamação, reepitelização, colagenização, fibrose e neoformação capilar; critérios baseados no curso Iberoamericano de Validação de Plantas Medicinais com Atividades Gastrointestinais realizado pela Escola Paulista de Medicina em 2002 (ANEXO B).

Dessa forma, para caracterizar presença de inflamação, foram utilizados os critérios: presença ou ausência de neutrófilos, alteração vascular e edema.

A necrose foi considerada ausente quando não existiam focos de necrose junto à úlcera e presente, quando esta envolvia a úlcera.

A proliferação fibroblástica foi considerada ausente, quando não houve fibroblastos no campo da úlcera e presente, quando fibroblastos estiveram proliferados.

A fibrose (colagenização) foi considerada ausente quando não existiam fibras colágenas depositadas e presente, quando havia deposição de fibras colágenas.

A reepitelização foi considerada ausente quando na área de úlcera não havia proliferação das células epiteliais e presente quando a área de úlcera se encontrava recoberta pela proliferação epitelial.

A extensão do infiltrado na parede foi classificada de acordo com a profundidade de acometimento da úlcera. Se a extensão atingisse a mucosa, submucosa, muscular ou

serosa.

A neoformação capilar foi classificada quanto a sua ausência ou presença na peça gástrica analisada.

Foi criada uma planilha onde os dados de cada animal foram discriminados para análise estatística após (APÊNDICE).

2.13 Tabulação e análise de dados

Os dados foram avaliados pelo programa *NCSS 11 Statical Software* (2016). Para avaliar a relação da concentração do mesocarpo de babaçu (pg) e densidade óptica de IL-6 e TNF- α foi aplicado o teste de regressão linear. A comparação da concentração das variáveis dependentes, IL-6 e TNF- α , em relação aos 3 grupos testados, ou seja, controle negativo (água destilada ou salina), controle positivo (omeprazol) e o mesocarpo de babaçu inicialmente aplicou-se o teste de normalidade de Shapiro Wilk. Havendo normalidade a comparação entre os três grupos foi feita pelo teste paramétrico de Análise de Variância (ANOVA) e o *post hoc* pelo teste de Tukey. Naquelas variáveis que não tiveram normalidade a comparação entre os três grupos foi feita pelo teste não paramétrico de Kruskal Wallis, seguido pelo teste de Dunn para a comparação *post hoc* das medianas duas a duas. O nível de significância para se rejeitar a hipótese de nulidade foi de 5%, ou seja, considerando como estatisticamente significativo um valor de $p < 0,05$.

2.14 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Maranhão com protocolo de número: 23115.019043/2017-23 (ANEXO C).

Foram respeitados os direitos dos animais utilizados na pesquisa dentro dos padrões legais, em apoio à Lei nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, regulamentado no inciso VII, do § 1º, art.225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso de animais para fins de ensino e/ou pesquisa científica.

Durante todo o decorrer da pesquisa, foi meta da equipe executora provocar o mínimo de sofrimento físico ou mental aos animais.

3 RESULTADOS

3.1 Características macroscópicas

Tabela 1- Características macroscópicas da lesão gástrica induzida

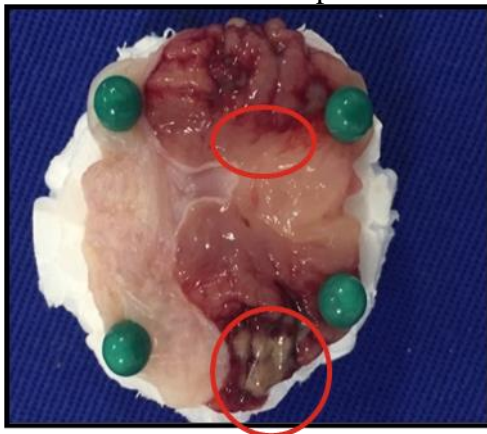
| Grupo | Úlcera | | Hiperemia mucosa | | Perda de prega | | Hemorragia | |
|-----------------|---------|----------|------------------|----------|----------------|----------|------------|----------|
| | Ausente | Presente | Ausente | Presente | Ausente | Presente | Ausente | Presente |
| Babaçu (GI) | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Omeprazol (GII) | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Água (GIII) | 0 | 5 | 0 | 5 | 0 | 5 | 0 | 5 |

Nota: $p=0,034$.

Fonte: A autora, 2022.

A Figura 15 corresponde à identificação de duas úlceras gástricas macroscópicas com visualização de necrose, hiperemia e edema periulcera, destacadas em círculos vermelhos.

Figura 15 - Úlceras macroscópicas em estômago



Nota: Rato 11; Grupo III Água destilada.

Fonte: A autora, 2022.

3.2 Características histológicas

Tabela 2 - Característica histológica da lesão gástrica induzida

| Grupo | Inflamação | | Necrose | | Fibrose | | Reepitelização | | Neocapilar | |
|-----------------|------------|---|---------|---|---------|---|----------------|---|------------|---|
| | A | P | A | P | A | P | A | P | A | P |
| Babaçu (GI) | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Omeprazol (GII) | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Água (GIII) | 0 | 5 | 0 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |

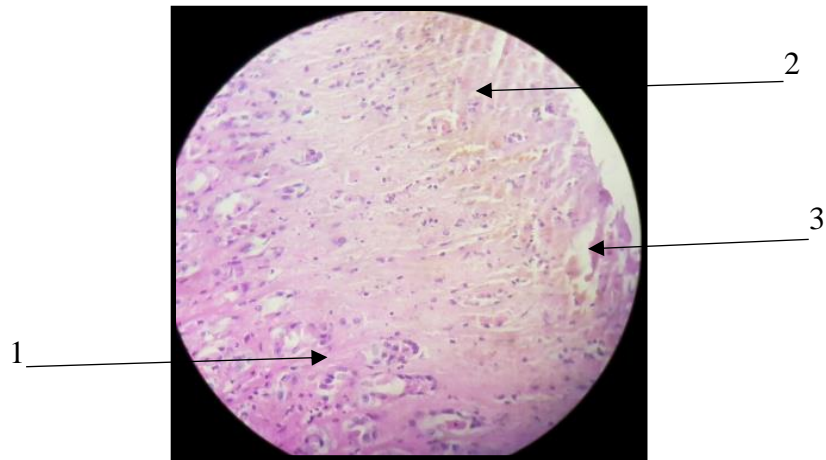
Legenda: A: Ausente P: Presente.

Nota: p=0,034.

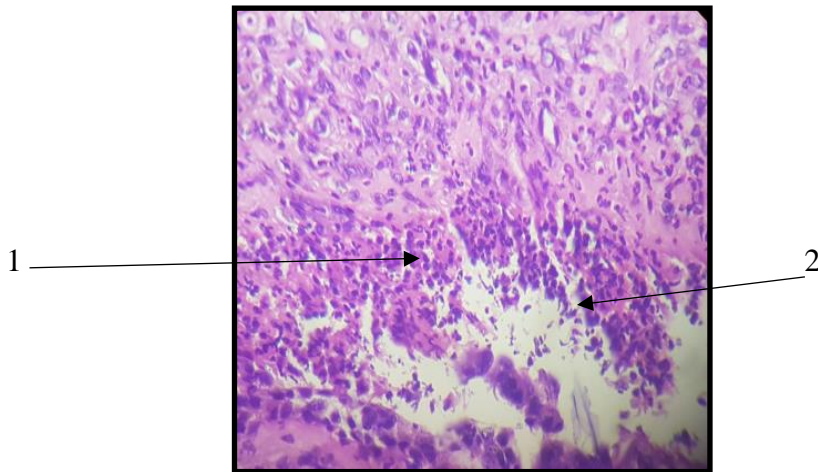
Fonte: A autora, 2022.

A Figura 16, a seguir, corresponde à sequência de fotomicrografias a partir da análise de microscópio óptico com estudo de úlceras fixadas com coloração hematoxilina-eosina e análise de 10x aumento.

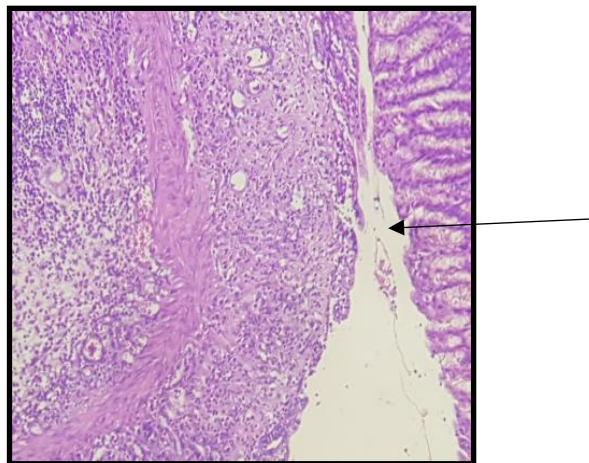
Figura 16 - Fotomicrografias de úlceras com coloração hematoxilina - eosina, 10x aumento



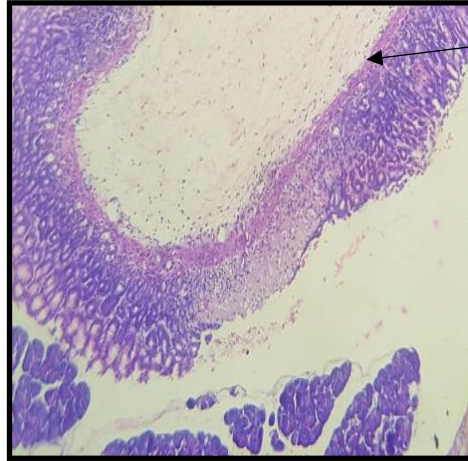
Rato11 (Grupo III água destilada) 1. infiltrado inflamatório, 2. sangue, 3. úlcera com perda de mucosa



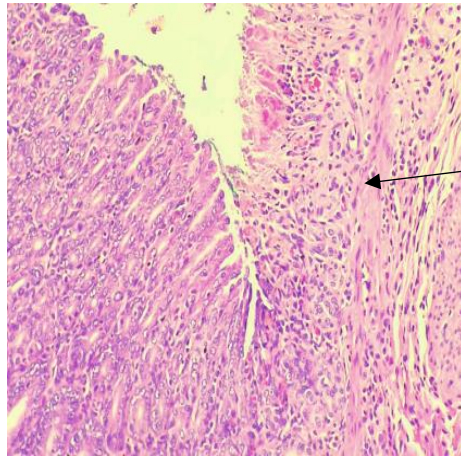
Rato12 (Grupo III água destilada) 1. afluxo de neutrófilos; 2. úlcera com perda de mucosa,



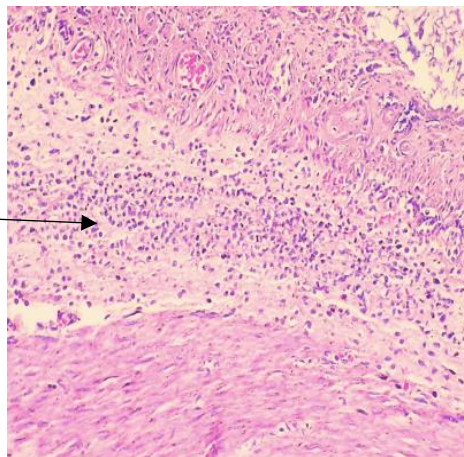
Rato13. (Grupo III água destilada) úlcera em muscular própria



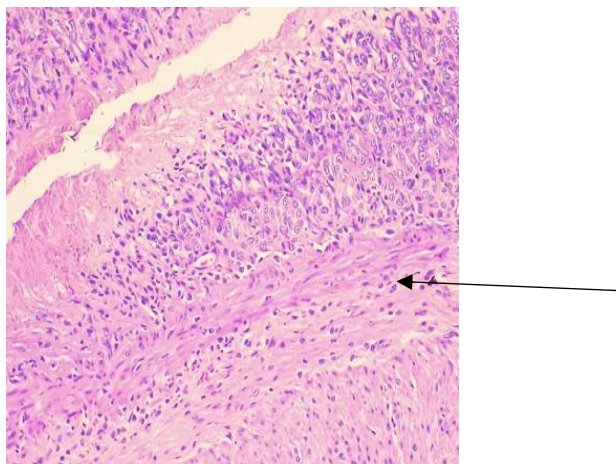
Rato 15 (Grupo III água destilada) transição entre úlcera e mucosa não ulcerada



Rato 3. (Grupo I Babaçu) células inflamatórias



Rato 7. (Grupo II Omeprazol) inflamação em submucosa

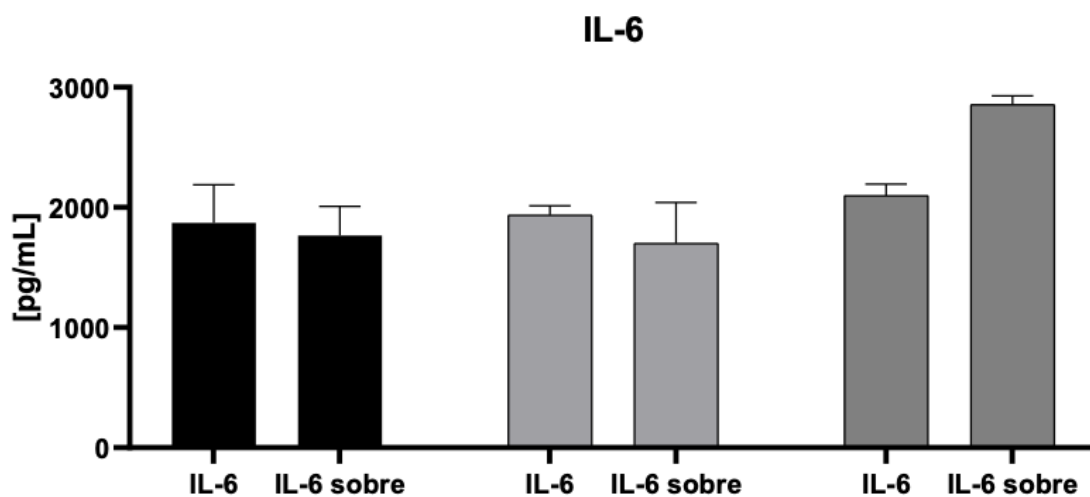


Rato 9. (Grupo II Omeprazol) infiltrado inflamatório
Fonte: A autora, 2022.

Nesta pesquisa, a profundidade da úlcera nos grupos babaçu e omeprazol atingiram a submucosa, enquanto no grupo água destilada a úlcera foi ainda mais profunda atingindo a muscular própria.

Quando analisada a interleucina-6, apenas a amostra do sobrenadante teve significância estática ($p=0,0002$); a análise sanguínea teve $p=0,868$ (Gráficos 1 e 2).

Gráfico 1 - Análise sanguínea e sobrenadante da Interceleucina-6



Legenda:

■ Grupo Babaçu

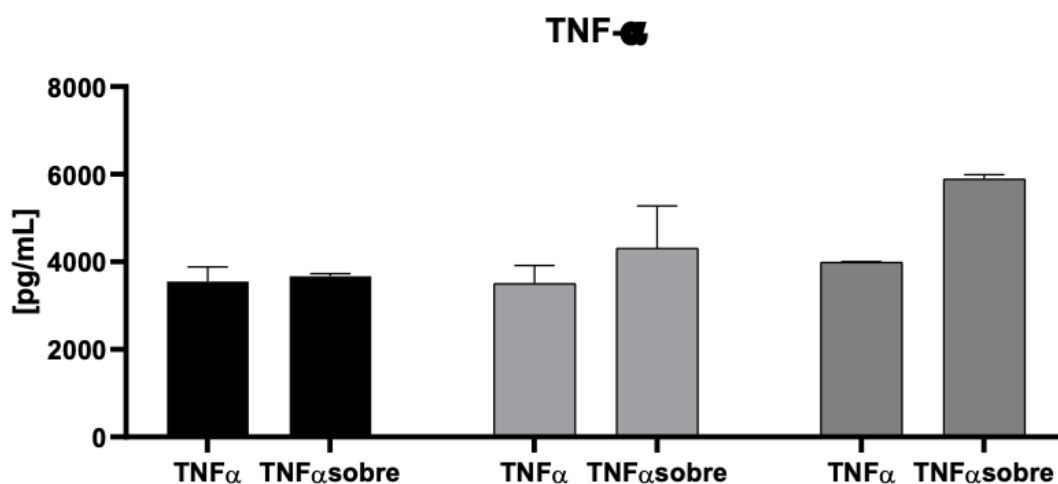
■ Grupo Omeprazol

■ Grupo Água Destilada

Nota: $p=0,0002$.

Fonte: A autora, 2022.

Gráfico 2 - Análise sanguínea e sobrenadante do fator de necrose tumoral alfa



Legenda:

■ Grupo Babaçu

■ Grupo Omeprazol

■ Grupo Água Destilada

Nota: $p=0,0001$.

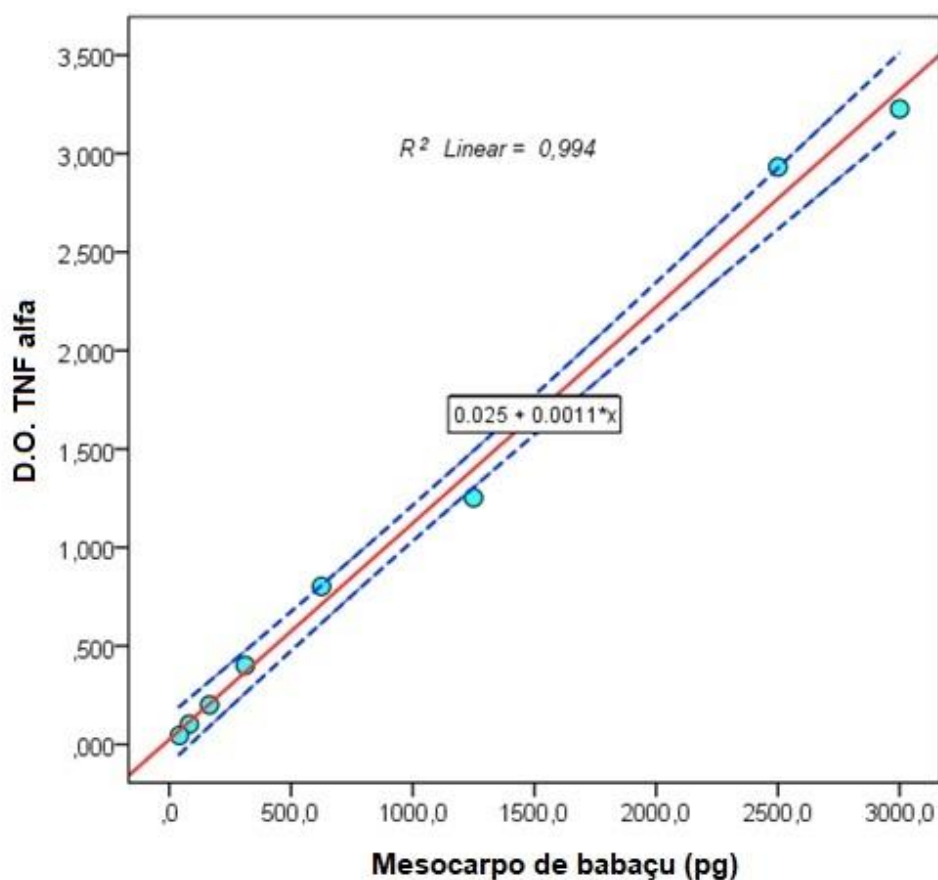
Fonte: A autora, 2022.

Foi encontrado uma relação significativa ($F_{\text{regressão}} = 1028,7$ $p < 0,0001$) entre a variável dependente a densidade óptica de TNF- α e a independente o mesocarpo de babaçu (pg). A equação da relação é

(1)

$$\text{D.O.} = 0,0025 + 0,0011 \times \text{mesocarpo}$$

o Coeficiente de determinação (r^2), que mede o grau de ajuste do modelo foi alto e significativo, $r^2 = 0,994$ (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Regressão da densidade ótica de TNF- α 

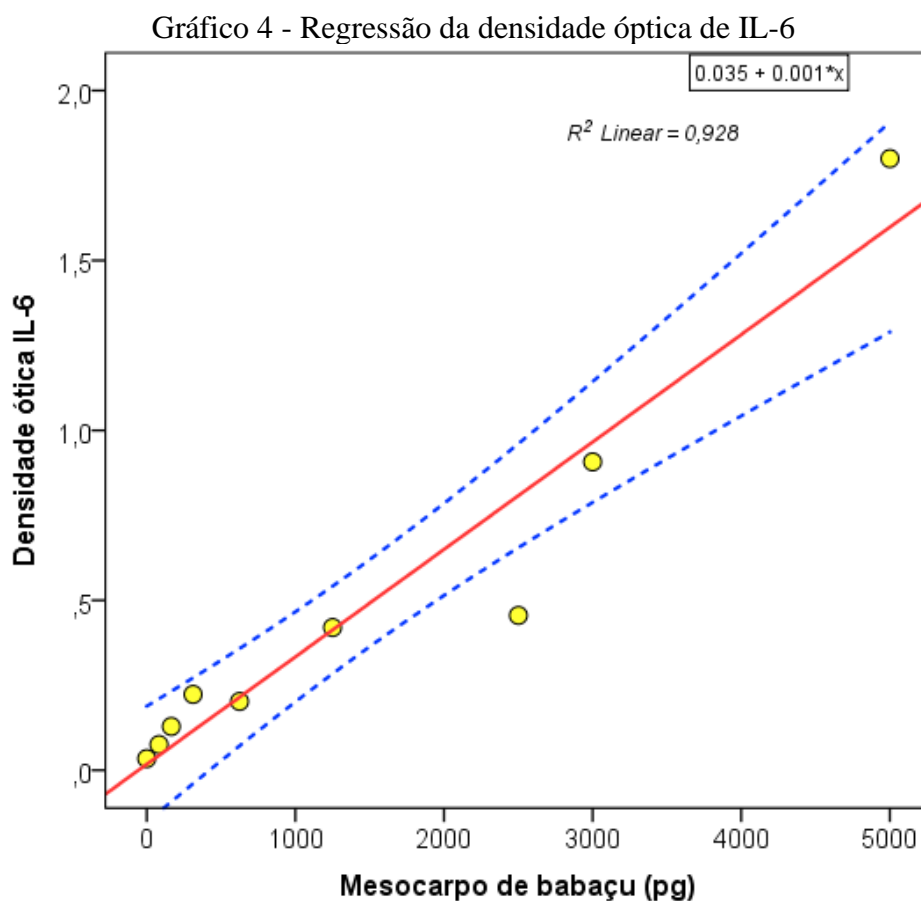
Fonte: A autora, 2022.

Foi encontrado uma relação significativa ($F_{\text{regressão}} = 1028,7$ $p < 0,0001$) entre a variável dependente a densidade ótica de IL-6 e a independente o mesocarpo de babaçu (pg). A equação da relação é

(2)

$$\text{D.O.} = 0,035 + 0,001 \times \text{mesocarpo}$$

o Coeficiente de determinação (r^2), que mede o grau de ajuste do modelo foi alto e significativo, $r^2 = 0,928$ (Gráfico 4).



Fonte: A autora, 2022.

Tabela 3 - Testes de Kruskal Wallis e de Dunn

| Variável | Grupo | Mediana | (P25-P75) | KW | P |
|--------------------|----------------|---------------------|-------------------|------|--------------|
| TNF a Plasma | Água destilada | 3988.4 | (3976.7 - 4000.1) | 5,71 | 0,057 |
| | Omeprazol | 3673.5 | (3596.4 - 3679.4) | | |
| | Babaçu | 3702.9 | (3329.1 - 3712.2) | | |
| TNF a Sobrenadante | Água destilada | 5897.1 ^a | (5789,0 - 5985,8) | 6,89 | 0,032 |
| | Omeprazol | 3778.4 ^b | (3706,4 - 4583,5) | | |
| | Babaçu | 3689.8 ^b | (3633,4 - 3701,4) | | |

Nota: ^{a,b} Letras diferentes significa $p < 0,05$ pelo teste de Dunn.

Fonte: A autora, 2022.

Foi encontrado diferença significativa ($p < 0,05$) quando se comparou as medianas dos grupos omeprazol e de mesocarpo de babaçu com o controle negativo da água destilada. Não sendo observada diferença entre significativa ($p > 0,05$) entre as medianas dos grupos omeprazol e do mesocarpo de babaçu (Tabela 3).

Tabela 4 - Testes de ANOVA e de Tukey

| Variável | Grupo | Média | DP | F | P |
|-------------|-----------|--------|-------|------|-------|
| IL-6 Plasma | Água | 2095,0 | 78,3 | 1,78 | 0,209 |
| | Omeprazol | 1939,6 | 70,5 | | |
| | Babaçu | 1870,9 | 284,6 | | |

Legenda: Análise de Variância (ANOVA).

Nota: ^{a,b} Letras diferentes significa $p < 0,05$ pelo teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2022.

Foi encontrado diferença significativa ($p < 0,05$) quando se comparou as médias de IL-6 de omeprazol e de mesocarpo de babaçu e o controle negativo da salina (Tabela 4).

4 DISCUSSÃO

Recentemente, muitos estudos têm sido feitos para explorar novos agentes antiulcerogênicos de fontes naturais e a atividade antiúlcera de diversos compostos químicos isolados de vegetais tem sido determinada¹⁴.

No Brasil, extratos vegetais são utilizados na medicina popular para o tratamento de desordens digestivas, incluindo as úlceras gástricas¹⁴.

O extrato de babaçu possui efeito anti-inflamatório difundido e diversificadas são as vias de administração, porém pouco se conhece a respeito de seus efeitos sobre o estômago, quando administrados por via oral^{13, 14}.

Nesta pesquisa, foi utilizado para experimentação rato da linhagem não-endogâmica Wistar (*Rattus norvegicus*), uma das mais utilizadas ao redor do mundo, é um atraente modelo para pesquisa por seu pequeno porte, seu ciclo biológico curto e grau de similaridade genética com seres humanos com aproximadamente 80% de seu ácido desoxirribonucleico (DNA) dântico ao do homem. Isso permite que se extrapolem resultados científicos obtidos em ratos na estimativa de potenciais efeitos de dado tratamento em seres humanos²⁰. Outras pesquisas também experimentais em gastroenterologia tem utilizado porcos, como a realizada por Massimo et al.²¹.

Nessa pesquisa, o grupo da água destilada foi idealizado para determinar os parâmetros dos animais submetidos a placebo, servindo como controle negativo. O grupo Omeprazol utilizado como parâmetro de comparação, já que esse medicamento se apresenta como uma droga eficaz na profilaxia de doenças pépticas, servindo como controle positivo. Esses dois grupos foram comparados ao extrato aquoso do babaçu obtido a partir do mesocarpo. O babaçu foi escolhido para estudo visto que esse fruto é consumido pela população local como recurso antiúlcera com evidência literária feita pelo estudo de Torres et al.¹⁹.

A administração das substâncias foi padronizada pelo método da gavagem, adequado para este estudo e utilizado previamente por outros trabalhos experimentais, a exemplo utilizado por Torres et al.¹⁹.

Nessa pesquisa foi utilizada a Indometacina como fonte de indução à formação da úlcera péptica nos ratos. Em pesquisa no portal periódico da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) via Comunidade Acadêmica Federada (CAFe) não há trabalhos publicados, até o momento, de úlcera péptica induzida

a partir de Indometacina e submetida a extrato de babaçu. A dose da Indometacina administrada foi de 30mg/Kg de peso do animal, a mesma descrita por Pacheco et al.²².

Alguns trabalhos utilizam a Indometacina por administração via transperitoneal, como realizado por Braz et al.²³ em que testaram o extrato também aquoso de *Bryophyllum pinnatum*. Nessa pesquisa, a Indometacina foi administrada via intragástrica, conforme descrito por Pacheco et al.²², com objetivo de se aproximar da forma de consumo desse medicamento pelos humanos, permitindo melhor comparação.

Segundo Robert et al.²⁴, as ulcerações induzidas por Indometacina não são inibidas por substâncias que interferem na secreção de ácido, como a cimetidina e inibidor de bomba de prótons, mas são inibidas por agentes que aumentam os fatores de defesa da mucosa, como, por exemplo, as prostaglandinas. Mizui e Doteuchi²⁵ definiram que o modelo de indução por indometacina avalia, entre outras, a atividade de substâncias citoprotetoras, com o anti-inflamatório produzindo lesões necróticas na mucosa gástrica.

Trabalho recente publicado por Torres et al. em 2018 fez a indução da úlcera com álcool via intragástrica e o extrato aquoso do babaçu teve resultado positivo na prevenção de úlceras pépticas em ratos¹⁹. Nessa pesquisa, foi testado o efeito desse extrato na profilaxia de úlcera gástrica após exposição da Indometacina, ainda não publicado.

Inúmeros fatores como: aumento da permeabilidade vascular, da motilidade intestinal, da atividade vagal, a diminuição do fluxo sanguíneo gástrico e dos níveis de prostaglandina, exercem importante papel na patogênese das úlceras gástricas²⁶. Dessa forma, vários modelos experimentais podem ser utilizados na tentativa de elucidar o mecanismo de ação dos extratos vegetais.

Nesse estudo, foi realizada análise macroscópica e microscópica das peças gástricas, assim como análise de citocinas. A análise macroscópica com visualização direta do estômago permite boas conclusões quanto à reação tecidual nos grupos estudados. A análise microscópica permite detalhamento de características vigentes no processo de degradação e remodelamento gástrico. A análise de citocinas permite avaliação de variações inflamatórias locais (sobrenadante gástrico) e sistêmicas (sanguíneas).

Os animais do grupo GIII, referentes a água destilada, tiveram formação de úlcera macroscópica após realização de gavagem intragástrica de Indometacina, com percepção macroscópica das petéquias e/ou hemorragia. Assim como o observado por Nessel et al.²⁶, os animais submetidos a Indometacina tiveram formação de lesões gástricas induzidas, todos se apresentando com áreas de necrose e/ou hemorragia na mucosa gástrica, provando a toxicidade desse agente.

Segundo Nesselro et al.²⁶, um dos principais mecanismos atribuídos ao efeito tóxico da Indometacina é a alteração na homeostase das células gástricas e nos danos nos tecidos resultantes da ação direta na mucosa e na formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio. Shine et al.²⁷ inferiram que a Indometacina metabolizada no organismo causa aumento da produção de superóxido nos tecidos e, simultaneamente, o aumento da concentração de radicais livres celular. Esses radicais livres causariam a quebra de fios de DNA e desnaturação das proteínas, resultando na lesão gástrica²⁸

Nessa pesquisa, ao estudarmos as características macroscópicas, esperou-se encontrar o efeito protetor do extrato na formação de úlcera tal como no grupo de estudo do Omeprazol, medicamento vigente e eficaz, com efeito comprovado. No momento, não temos dados experimentais que possibilite uma proposta para o mecanismo do efeito protetor do extrato de babaçu no modelo de úlcera péptica experimental em ratos, como descrito por Torres et al.¹⁹. Este efeito poderia ser decorrente de uma ação vasodilatadora, anti-inflamatória, antioxidante e gastroprotetora do babaçu sobre o dano que os anti-inflamatórios não esteroidais produzem na mucosa gástrica, assim como comprovado por Guerra et al.²⁸. Moura et al.²⁹, ao estudarem extrato de caroço de açaí obtiveram resultados significativos sobre efeito vasodilatador, anti-inflamatório e antioxidante.

Nessa pesquisa, foi feita experimentação com um rato piloto, ao estudar as características macroscópicas, observou-se a formação de duas úlceras, hiperemia e perda de prega mucosa e hemorragia na peça gástrica examinada; confirmando indução de lesão a partir do uso de Indometacina. E microscopicamente foi evidenciado: inflamação, necrose isquêmica, proliferação fibroblástica, fibrose, reepitelização, formação neocapilar e úlcera.

Em trabalho realizado no Maranhão em 2011 sobre a utilização dos produtos derivados do babaçu evidencia que essa planta é utilizada pela população local de quebradores de coco em Esperantinópolis para fins medicinais, mesmo sem evidência científica. Neste estudo, o mesocarpo foi a parte do babaçu estudada, parte que também será utilizada em nossa pesquisa e corresponde a um resíduo chamado "borra" e óleo. O mesocarpo é utilizado por 90% dos quebradores de coco para melhoria da gastrite e melhoria de inflamação e de 77% dessa população utiliza no tratamento de leucorreia. Mostra ainda que o resíduo de babaçu foi utilizado para o tratamento de feridas (60%)¹⁹.

Em outro trabalho realizado no Maranhão e publicado por Torres et al.¹⁹, ao estudar o efeito profilático do babaçu a partir da indução de úlcera gástrica com etanol a 70%, o babaçu se comportou melhor que o grupo omeprazol quando as variáveis:

hiperemia de mucosa, perda de prega mucosa e hemorragia foram estudadas; com significância estatística. O babaçu preveniu a formação de úlcera em 60% dos animais estudados, equivalendo ao grupo de estudo do omeprazol¹⁹.

Batista et al.¹³, em 2006, deram enfoque ao mesocarpo do babaçu na cicatrização de feridas, com eficácia demonstrada em estudos pré-clínicos que avaliam o efeito do extrato aquoso de mesocarpo de babaçu na cura gástrica e na cura de feridas na pele. Estes dados suportam as indicações populares deste produto como agente de cura, que foi relatado por 11% das mulheres entrevistadas. Um outro estudo realizado na Universidade Federal do Piauí com o extrato aquoso do babaçu administrado via oral em camundongos, evidenciou que o mesmo não apresenta atividade antioxidante²⁴.

Brito Filho et al.³⁰ fizeram um estudo controlado em ratos e analisou a cicatrização na Linha Alba com o uso do extrato aquoso de babaçu e observado que a avaliação macroscópica e histológica não mostra diferença significativa entre os grupos experimental e controle, mas a avaliação tensiométrica no grupo experimental no 7º dia apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle, sinalizando que o uso do extrato de babaçu melhora o processo de cicatrização³⁰.

A cicatrização das feridas se processa didaticamente em 3 fases (inflamatória, proliferava e maturação)²⁴⁻²⁶. Em nossa pesquisa, devido ao tempo de estudo (5 dias) as fases: inflamatória e proliferava foram as mais enfatizadas.

Segundo Medeiros e Dantas Filho³¹, a fase inflamatória, se processa até o quarto dia; caracterizada por dois processos que buscam limitar a lesão tecidual: a hemostasia e a resposta inflamatória aguda. A fase proliferava ou regenerativa pode durar entre cinco e vinte dias, caracterizada pela proliferação de fibroblastos, células endoteliais, angiogênese e infiltração densa de macrófagos, formando o tecido de granulação. E a fase de reparo: fase de maturação que inicia no 21º dia, pode durar meses^{23-25, 30-32}.

A reação inflamatória tem importância na cicatrização como demonstram diversos trabalhos, sendo que é nociva se for intensa, pois compromete a microcirculação e a proliferação de fibroblastos. Neste estudo, predominou reação inflamatória leve a moderada, com neoformação capilar^{14, 17}.

Torres et al.¹⁹, ao estudar a profilaxia do grupo babaçu, as variáveis: presença de fibroblastos, fibrose, reepitelização e formação de neocapilar se comportaram como o grupo omeprazol para todas essas variáveis estudadas. Assim como, as variáveis inflamação e profundidade da úlcera tiveram significância estatística quando comparadas

ao grupo do omeprazol e água destilada, o babaçu se comportou conforme a droga padrão, o Omeprazol.

As variáveis: presença de fibroblastos e neocapilar tiveram significância estatística quando comparada ao grupo do controle negativo, água destilada; servindo o babaçu como fator de proteção se comparada ao placebo¹⁹.

O presente estudo caracterizou-se por infiltrado inflamatório e citocinas pró e anti-inflamatórias na úlcera gástrica. Para isso, fez-se a imunodeteção de citocinas (Interleucina-10, Fator de necrose tumoral- α).

Estudos anteriores sugerem que pacientes com doença ulcerosa aumentam a expressão de interleucina (IL)-6 e fator de necrose tumoral (TNF), que regulam a resposta inflamatória no sangue e no tecido gástrico. Níveis elevados de citocinas também estão associados à patogênese da doença gástrica. A IL-6 é uma importante citocina pró-inflamatória que desempenha um papel importante na doença ulcerosa. A IL-6 é regulada positivamente e se liga ao seu receptor ligado à membrana para ativar o transdutor de sinal e o ativador da transcrição 3 (STAT3)³³.

Nessa pesquisa, os resultados de ELISA mostraram níveis mais altos de IL-6 e TNF no grupo água destilada em comparação com os grupos omeprazol e babaçu. Da mesma forma, os resultados de ELISA sugeriram que os níveis de IL-6 e TNF, foram notavelmente similares nos grupos omeprazol e babaçu no estudo do sobrenadante. Esses resultados demonstraram que o extrato de babaçu inibiu os níveis de citocinas pró-inflamatórias locais na úlcera gástrica. Quando analisado os níveis de IL-6 e TNF no sangue, as citocinas tiveram taxas menores no grupo Omeprazol, taxas intermediárias no grupo Babaçu e taxas mais altas no grupo água destilada.

Trabalho publicado por Singer e Clark³² mostra que é no terceiro dia que a avaliação da cicatrização gástrica deve ser feita, por representar fase inicial e crítica da reparação tecidual, esperando-se encontrar processo inflamatório intenso. A inflamação aguda em certo grau, é necessária para boa resposta de reparação tecidual, entretanto, reação inflamatória intensa pode diminuir o suprimento sanguíneo, com consequente inibição da proliferação fibroblástica³⁴⁻³⁹.

Atualmente, muitas pesquisas são realizadas para avaliar a atividade anti-inflamatória, antinociceptiva, antiulcerogênica e o perfil fenólico de plantas medicinais, como a realizada por Moharram et al.⁴⁰ em 2018, que testou as folhas de pimenta racemosa.

CONCLUSÃO

O presente estudo constatou que o extrato de babaçu pode prevenir danos nos tecidos e úlcera gástrica em ratos expostos à indometacina no mesmo nível do Omeprazol. Também permitiu inferir que o extrato de babaçu pode limitar a expressão das citocinas inflamatórias IL-6 e TNF- α no local, da mesma forma que a profilaxia farmacêutica estabelecida.

A reação inflamatória estabelecida para conter a lesão gástrica induzida foi menos prevalente no grupo Omeprazol, confirmando a eficácia do medicamento e sua superioridade quando comparado com os grupos babaçu e água destilada. O babaçu funcionou como protetor intermediário na prevenção da inflamação, sendo superior ao placebo água destilada.

Coletivamente, esses achados fornecem evidências de que o babaçu pode ser útil e servir como uma nova terapia promissora na profilaxia de úlcera em humanos.

Será que podemos inferir que o tempo de análise da profilaxia tenha sido curto para diminuição das taxas de citocinas pró-inflamatórias no sangue? Já que quando estudadas as taxas de citocinas pró-inflamatórias no sobrenadante os grupos omeprazol e babaçu foram similares?

Trabalhos publicados cujos resultados encorajam o estudo fitoquímico para isolamento e identificação dos princípios ativos do extrato do babaçu, ao longo do tempo, poderão determinar o real valor e sua possível utilização em humanos, com intenção de auxiliar o mecanismo de cicatrização de tecidos e órgãos.

REFERÊNCIAS

1. Primo GJ, Ferreira YJ, Araújo JVG, Marques GH, Guimarães LC, Gonçalves CA. General aspects of peptic ulcerous disease -a systematic review of the literature. *Braz J Dev.* 2022;8(10):34-45.
2. Narayanan M, Reddy KM, Marsiano E. Peptic Ulcer Disease and Helicobacter pylori infection. *Missouri med.* 2018;115(3):34-40.
3. Negm S, Mohamed H, Shafiq A, Kader TA, Ismail A, Yassin M, et al. Combined endoscopic and radiologic intervention for management of acute perforated peptic ulcer: a randomized controlled trial. *World J Emerg Surg.* 2022;17(1):24-5.
4. Scally B, Emberson JR, Spata E, Reith C, Davies K, Halls H, et al. Effects of gastroprotectant drugs for the prevention and treatment of peptic ulcer disease and its complications: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2018;3(4):231–41.
5. Zhao P, Han K, Yao R-q, Ren C, Du X-h. Application Status and Prospects of Artificial Intelligence in Peptic Ulcers. *Front Surg.* 2022;9(5):16-8.
6. Kurata JH. Epidemiology of peptic ulcer disease. *Clin Gastroenterol.* 1984;13:289.
7. Munnangi S. Time trends of physician visits and treatment patterns of peptic ulcer disease in the United States. *Arch Intern Med.* 1997;157:1489-94.
8. Malgastada JRK, Blaser MJ. Doença ácido-peptica: manifestações clínicas, diagnóstico, tratamento e prognóstico. 23^a ed. São Paulo: Saunders; 2018.
9. Bittencourt PFS, Rocha GA, Penna FJ, Queiroz DMM. Gastroduodenal peptic ulcer and Helicobacter pylori infection in children and adolescents. *J Pediatr.* 2021;82(5):325-34.
10. Hayashi PCR. Plantas medicinais. Pesquisa Escolar Online. Recife: Fundação Joaquim Nabuco [acesso em 2022 maio 20]. Disponível em: <http://basilio.fundaj.gov.br/pesquisaescolar/>.
11. Saleh M, Sohrabpour AA, Mehrabi MR, Seyhoun I, Vaezi AA. Therapeutic approach of adipose-derived mesenchymal stem cells in refractory peptic ulcer. *Stem Cell Res Ther.* 2021;12(1):26-9.
12. Bi WP, Man HB, Man MQ. Efficacy and safety of herbal medicines in treating gastric ulcer: a review. *World j gastroenterol.* 2014;20(45):1720-8.

13. Batista CP, Torres OJM, Matias JEF, Moreira ATR, Colman D, Lima JHF, et al. Efeito do extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização do estômago em ratos: estudo morfológico e tensiométrico. *Acta Cir Bras*. 2006;21(3):26-32.
14. Carazza LR, Ávila JCC, Silva ML. Manual Tecnológico. Aproveitamento Integral do Fruto e da Folha do Babaçu; 2022. p.12-24.
15. Singh S, Majumdar DK. Evaluation of the gastric antiulcer activity of fixed oil of *Ocimum sanctum* (Holy Basil). *J ethnopharmacol*. 1999;65(1):13-9.
16. Indometacina [bula na internet]. Serra Espírito Santo: Laboratório Aspen Pharma; 2022 [acesso em 2022 Ago 15]. Disponível em: www.anvisa.com.br/indometacinasite.
17. Oliveira JA, Costa AMDD, Terra FS, Boriollo MFG, Soares EAS. Evaluation of the gastroprotective activity of the hydroalcoholic extract of sunflower seeds *Rev Bras Clin Med*. 2020;8(2):129-34.
18. Potrich, FB. Atividade gastroprotetora do extrato bruto hidroalcolóico da *Achillea millefolium* L.: envolvimento do sistema antioxidante [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2009.
19. Torres OJM, Santos OJ, Moura RS, Serra HO, Ramos VP, Melo SPC, et al. Activity of *Orbignyaphalerata* and *Euterpe edules* in the prevention and treatment of peptic ulcer in rats. *ABCD Arq Bras Cir Digest*. 2018;31(3):1390-3.
20. Omeprazol [bula na internet]. Pouso Alegre Minas Gerais: Laboratório Cimed indústria de medicamentos Ltda; 2022 [acesso em 2022 Ago 15]. Disponível em: www.anvisa.com.br/omeprazolsite.
21. Massimo PDS, Baldi F, Vasina V, Scorrano F, Bacci ML, Ferrieri A, et al. Barrier effect of Esoxxon esophageal mucosal damage: experimental study on ex-vivo swine model. *Rev Clin Experim Gastroenterol*. 2012;5(5):103-8.
22. Pacheco MTB, Bighetti E, Antônio M, de Carvalho JE, Rosaneli CF, Sgarbieri VC. Effects of a whey protein concentrate and its peptides in the protection of ulcerative lesions at rat gastric mucosa. *Nutrição*. 2016;19(1): 47-55.
23. Braz DC, Oliveira LRS, Viana AFSC. Antiulcerogenic activity of aqueous extract from *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz. *Rev Bras Plantas Med*. 2021;15(1):86-90.
24. Robert JE, Nezamis C, Lancaster JP, Davis SO, Field, AJ. Mild irritants prevented gastric necrosis through 'adaptive cytoprotection' mediated by prostaglandins. *Am J Physiology*. 1983;113-21.
25. Mizui T, Doteuchi M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *J Pharmacol*. 1983;33(5):939-45.

26. Nesselro LAN, Campos A, Rosa RL, Andrade SF de, Cechinel FV. Screening of Wild fruit trees with gastroprotective activity in different experimental models / Triagem de plantas frutíferas silvestres com ação gastroprotetora em modelos in vivo. *Arq Gastroenterol.* 2017;54(2):135-8.
27. Shine JV, Latha PG, Shyamal S, Anuja GI, Sini GI, Suja SR, et al. Gastric antisecretory and antiulcer activities of *Cycleapeltata* (Lam.) *J Ethnopharmacol.* 2019;125(2):350-5.
28. Guerra YP, Year AO, Despaigne SJ, Cuevas VM, Ferreiro RM. Efecto secuestrador del D-002 sobre radicales hidroxilo en mucosa gástrica Scavenger effect of D-002 on hydroxyl radicals in the gastric mucosa. *Rev Cuba Farm.* 2021;46(1):87-96.
29. Moura RS, Resende ACI, Emiliano AF, Cordeiro VS, de Bem GF, de Carvalho LC, et al. Grape skin extract protects against programmed changes in the adult rat offspring caused by maternal high-fat diet during lactation. *J Nutr Biochem.* 2013; 24(12):2119-26.
30. Brito Filho SB, Matias JEF, Stahlke Jr HJ, Torres OJM, Timi JRR, Tenório SB, et al. Analysis of healing in the Alba Linea with the use of *Orbinya phalerata* (babassu) water extract. Controlled study in rats. *Acta Cir Bras.* 2006;21(3):76-88.
31. Medeiros AC, Dantas Filho AM. Healing of surgical wounds. *J Surg Clin Res.* 2016;2:87-102.
32. Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999; 341:746-8.
33. Lei ZP, Qing GHS. Protective effects of berberine hydrochloride on DSS-induced ulcerative colitis in rats. *Int Immunopharmacol.* 2019;68:242-51.
34. Malafaia O, Campos AC, Torres OJM, Goldenberg S. Os fitoterápicos e seu potencial na cicatrização em cirurgia. *Acta Cir Bras.* 2006;21(3):1.
35. Santos OJ, Torres OJM. Phytotherapy evolution in the healing process in surgery. *Arq Bras Cir Dig.* 2012;25(3):139.
36. Gonçalves-Filho A, Torres OJM, Campos ACL, Tâmbara-Filho R, Rocha LCA, Thieme A, et al. Efeito do extrato de *Passiflora edulis* (maracujá) na cicatrização de bexiga em ratos: estudo morfológico. *Acta Cir Bras.* 2006;21(2):3-8.
37. Souza MHSL, Monteiro AC, Figueredo PMS, Nascimento FRF, Guerra RNM. Ethnopharmacological use of babassu (*Orbignya phalerata* Mart) in communities of babassu nut breakers in Maranhão, Brazil. *J Ethnopharmacol.* 2021;133(1):1-15.
38. de Moraes SP, Melro APC, Longo A, Gun PR, Silva MAJ, Reis Neto JA. Influence of H2 blockers in the gastric healing process. *Rev CBC.* 2019;23(3):153-5.
39. Mattaraia GM, Tavares ASM. Productivity of *Wistar* rats in different mating systems. *Rev Ciênc Rural.* 2021;42(8):490-6.

40. Moharram FA, Al-Gendy AA, El-Shenawy SM, Ibrahim BM, Zarka MA. Phenolic profile, anti-inflammatory, antinociceptive, anti-ulcerogenic and hepatoprotective activities of *Pimenta racemosa* leaves. *BMC Complement Altern Med.* 2018;18(1):208-10.

APÊNDICE – Protocolo de análise macroscópica / histológica e avaliação dos animais

Rato n^o: 1

Grupo: I

Peso D1: 316g

Peso D2: 320g

Peso D3: 325g

Peso D4: 330g

Peso D5:333g

Quantidade de 3,53mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1mL (0,3mL Xilazina + 0,7mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: ausente

Hiperemia mucosa: ausente

Perda de prega mucosa: ausente

Hemorragia: ausente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n^o: 1

c) Fotomicrografia n^o: 1

d) Achados histológicos:

Inflamação: ausente

Necrose: ausente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato nº: 2
Grupo: I
Peso D1: 281g
Peso D2: 286g
Peso D3: 290g
Peso D4: 293g
Peso D5: 295g

Quantidade de 3,14mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 0,9mL (0,25mL Xilazina + 0,65mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: ausente

Hiperemia mucosa: ausente

Perda de prega mucosa: ausente

Hemorragia: ausente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina nº: 2

c) Fotomicrografia nº: 2

d) Achados histológicos:

Inflamação: ausente

Necrose: ausente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato nº: 3
Grupo: I
Peso D1: 286g
Peso D2: 288g
Peso D3: 291g
Peso D4: 295g
Peso D5: 297g

Quantidade de 3,20mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 0,95mL (0,25mL Xilazina + 0,70mL Quetamina)

Análise macroscópica:

- a) Úlcera: presente
- b) Hiperemia mucosa: presente
- c) Perda de prega mucosa: presente
- d) Hemorragia: presente

Análise histológica:

- a) Coloração: hematoxilina – eosina
- b) Lâmina nº: 3
- c) Fotomicrografia nº: 3
- d) Achados histológicos:
 - Inflamação: presente
 - Necrose: ausente
 - Fibrose: ausente
 - Reepitelização: ausente
 - Neocapilar: ausente

Rato n^o: 4
Grupo: I
Peso D1: 346g
Peso D2: 350g
Peso D3: 355g
Peso D4: 358g
Peso D5: 362g

Quantidade de 3,87mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1,1mL (0,4mL Xilazina + 0,7mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: ausente

Hiperemia mucosa: ausente

Perda de prega mucosa: ausente

Hemorragia: ausente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n^o: 4

c) Fotomicrografia n^o: 4

d) Achados histológicos:

Inflamação: ausente

Necrose: ausente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato n°: 5
Grupo: I
Peso D1: 289g
Peso D2: 291g
Peso D3: 295g
Peso D4: 300g
Peso D5:306g

Quantidade de 3,23mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1,1mL (0,4mL Xilazina + 0,7mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: ausente

Hiperemia mucosa: ausente

Perda de prega mucosa: ausente

Hemorragia: ausente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n°: 5

c) Fotomicrografia n°: 5

d) Achados histológicos:

Inflamação: presente

Necrose: presente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato n°: 6
Grupo: II
Peso D1: 280g
Peso D2: 280g
Peso D3: 281g
Peso D4: 283g
Peso D5: 286g

Quantidade de 3,13mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 0,9mL (0,25mL Xilazina + 0,65mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: ausente

Hiperemia mucosa: ausente

Perda de prega mucosa: ausente

Hemorragia: ausente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n°: 6

c) Fotomicrografia n°: 6

d) Achados histológicos:

Inflamação: ausente

Necrose: ausente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato n°: 7
Grupo: II
Peso D1: 280g
Peso D2: 285g
Peso D3: 288g
Peso D4: 290g
Peso D5: 296g

Quantidade de 3,13mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 0,9mL (0,25mL Xilazina + 0,65mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: presente

Hiperemia mucosa: presente

Perda de prega mucosa: presente

Hemorragia: presente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n°: 7

c) Fotomicrografia n°: 7

d) Achados histológicos:

Inflamação: presente

Necrose: presente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato n°: 8
Grupo: II
Peso D1: 296g
Peso D2: 298g
Peso D3: 300g
Peso D4: 303g
Peso D5: 303g

Quantidade de 3,31mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1,2mL (0,3mL Xilazina + 0,9mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: ausente

Hiperemia mucosa: ausente

Perda de prega mucosa: ausente

Hemorragia: ausente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n°: 8

c) Fotomicrografia n°: 8

d) Achados histológicos:

Inflamação: ausente

Necrose: presente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato n°: 9
Grupo: II
Peso D1: 315g
Peso D2: 320g
Peso D3: 325g
Peso D4: 327g
Peso D5: 332g

Quantidade de 3,52mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1,3mL (0,4mL Xilazina + 0,9mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: ausente

Hiperemia mucosa: ausente

Perda de prega mucosa: ausente

Hemorragia: ausente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n°: 9

c) Fotomicrografia n°: 9

d) Achados histológicos:

Inflamação: ausente

Necrose: presente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato n°: 10
Grupo: II
Peso D1: 316g
Peso D2: 318g
Peso D3: 320g
Peso D4: 322g
Peso D5: 327g

Quantidade de 3,53mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1,3mL (0,4mL Xilazina + 0,9mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: ausente

Hiperemia mucosa: ausente

Perda de prega mucosa: ausente

Hemorragia: ausente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n°: 10

c) Fotomicrografia n°: 10

d) Achados histológicos:

Inflamação: ausente

Necrose: ausente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato nº: 11
Grupo: III
Peso D1: 302g
Peso D2: 302g
Peso D3: 302g
Peso D4: 303g
Peso D5: 303g

Quantidade de 3,31mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: (x) Sim em D5 () Não

Indução anestésica: 1,2mL (0,3mL Xilazina + 0,9mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: presente

Hiperemia mucosa: presente

Perda de prega mucosa: presente

Hemorragia: presente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina nº: 11

c) Fotomicrografia nº: 11

d) Achados histológicos:

Inflamação: presente

Necrose: presente

Fibrose: presente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato n°: 12
Grupo: III
Peso D1: 305g
Peso D2: 310g
Peso D3: 315g
Peso D4: 325g
Peso D5: 330g

Quantidade de 3,41mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1,2mL (0,3mL Xilazina + 0,9mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: presente

Hiperemia mucosa: presente

Perda de prega mucosa: presente

Hemorragia: presente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n°: 12

c) Fotomicrografia n°: 12

d) Achados histológicos:

Inflamação: presente

Necrose: presente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato nº: 13
Grupo: III
Peso D1: 325g
Peso D2: 333g
Peso D3: 334g
Peso D4: 340g
Peso D5: 345g

Quantidade de 3,64mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1,4mL (0,4mL Xilazina + 1mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: presente

Hiperemia mucosa: presente

Perda de prega mucosa: presente

Hemorragia: presente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina nº: 13

c) Fotomicrografia nº: 13

d) Achados histológicos:

Inflamação: presente

Necrose: presente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato n°: 14
Grupo: III
Peso D1: 289g
Peso D2: 290g
Peso D3: 292g
Peso D4: 300g
Peso D5: 311g

Quantidade de 3,23mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1,1mL (0,4mL Xilazina + 0,7mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: presente

Hiperemia mucosa: presente

Perda de prega mucosa: presente

Hemorragia: presente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n°: 14

c) Fotomicrografia n°: 14

d) Achados histológicos:

Inflamação: presente

Necrose: presente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

Rato n°: 15
Grupo: III
Peso D1: 299g
Peso D2: 301g
Peso D3: 305g
Peso D4: 308g
Peso D5: 312g

Quantidade de 3,35mL administrada por gavagem

Complicação: () Sim (x) Não

Óbito: () Sim (x) Não

Indução anestésica: 1,2mL (0,3mL Xilazina + 0,9mL Quetamina)

Análise macroscópica:

Úlcera: presente

Hiperemia mucosa: presente

Perda de prega mucosa: presente

Hemorragia: presente

Análise histológica:

a) Coloração: hematoxilina – eosina

b) Lâmina n°: 15

c) Fotomicrografia n°: 15

d) Achados histológicos:

Inflamação: presente

Necrose: ausente

Fibrose: ausente

Reepitelização: ausente

Neocapilar: ausente

ANEXO A – Protocolo de análise macroscópica**1) Úlcera (perda de tecido gástrico):**

- Ausente (não existe úlcera visível)
- Presente (úlceras visíveis)

2) Hiperemia de mucosa:

- Ausente (não existe hiperemia de mucosa visível)
- Presente (hiperemia de mucosa visível)

3) Perda de Prega mucosa:

- Ausente (não existe perda de mucosa visível)
- Presente (perda de mucosa visível)

4) Hemorragia:

- Ausente (não existe sangramento visível)
- Presente (sangramento visível)

ANEXO B – Protocolo de análise histológica**1)** Inflamação Aguda:**

| Critério | Score 0 | Score 1 |
|-----------------|----------------|----------------|
| Neutrófilos | Ausentes | Presentes |
| Vascular | Ausente | Presente |
| Edema | Ausente | Presente |

** Serão considerados três critérios para caracterizar a presença e/ou a ausência de inflamação: neutrófilos, alteração vascular e edema.

A esses critérios serão atribuídos score 0 quando ausentes e score 1 quando presentes.

() Somatória 0 (ausência de inflamação)

() Somatória 1 (inflamação aguda)

2) Necrose Isquêmica (morte celular):

() Ausente (não existe focos de necrose isquêmica junto à úlcera)

() Presente (necrose envolve a úlcera)

3) Proliferação Fibroblástica:

() Ausente (não existe proliferação fibroblástica no campo da úlcera)

() Presente (fibroblastos proliferados)

4) Fibrose (colagenização):

() Ausente (não existem fibras colágenas depositadas)

() Presente (deposição de fibras colágenas)

5) Reepitelização:

- Ausente (área de úlcera sem proliferação das células epiteliais)
- Presente (área de úlcera recoberta pela proliferação epitelial)

7) Extensão do infiltrado na parede:

- Até mucosa
- Até submucosa
- Até muscular
- Até serosa

8) Neoformação capilar:

- Ausente
- Presente

ANEXO C - Aprovação do Comitê de Ética em Uso de Animais



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
CIAEP: 02.0341.2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO



C E R T I F I C A D O (19/2021)

Certificamos que a proposta intitulada: "**Análise imuno-histoquímica de úlceras gástricas induzidas em ratos Wistar após profilaxia com *Orbignya phalerata* (babaçu)**" **Processo n. 23115.012485/2021-25**, sob a responsabilidade da **Prof. Dr. Orlando José dos Santos**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 04 de junho de 2021.

We certify that the proposal: "**Immunohistochemical analysis of induced gastric ulcers in Wistar rats after *Orbignya phalerata* (babaçu) prophylaxis**", **Process n. 23115.012485/2021-25**, under the responsibility of **Prof. Dr. Orlando José dos Santos**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11,794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of June 04, 2021.

PROPOSTA

Finalidade: Pesquisa **Área:** Ciências da Saúde
Vigência: 01/12/2021 a 01/12/2024

ANIMAIS

Origem: Biotério Central da UFMA

Espécie: *Rattus norvegicus* WISTAR **Idade:** 60 dias
Peso: 200 g
Sexo: Machos

AMOSTRA
15

Local do experimento: Biotério Setorial da Pós-Graduação da UFMA

São Luís, 09 de novembro de 2021.

Bruno Araújo Serra Pinto

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFMA



Documento assinado digitalmente
Bruno Araujo Serra Pinto
Data: 09/11/2021 10:12:42-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>