

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**Efeitos do óleo de milho e do sucralfato em
equinos portadores de úlceras gástricas**

José Ramón Martínez Aranzales

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária da UFMG
2012**

José Ramón Martínez Aranzales

Efeitos do óleo de milho e do sucralfato em equinos portadores de úlceras gástricas

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal.

Área: Medicina e Cirurgia Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Eleno Silveira Alves

Belo Horizonte
Escola de Veterinária - UFMG
2012

M385e Martinez Aranzales, José Ramón, 1975-
Efeitos do óleo de milho e do sucralfato em equinos portadores de úlceras gástricas/
José Ramón Martínez Aranzales. – 2012.

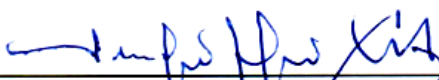
96p. : il.

Orientador: Geraldo Eleno Silveira Alves
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária
Inclui bibliografia


1. Equino – Doenças – Teses. 2. Estômago – Úlceras – Teses. 3. Óleo de milho –
Teses. I. Alves, Geraldo Eleno Silveira. II. Universidade Federal de Minas Gerais.
Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.108 96

Tese defendida e aprovada em 09 de julho de 2012, pela Comissão Examinadora constituída por:



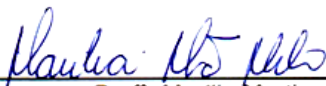
Prof. Geraldo Eleno Silveira Alves
Presidente



Prof. José Dantas Ribeiro Filho



Prof.ª Carla Bargi Belli



Prof.ª Marília Martins Melo



Prof.ª Renata de Pinho Albuquerque Maranhão

A Deus

A minha esposa, Mariela Herrán

Ao meu filho, Juan Esteban...

Merecedores de mis logros.

Em especial a Ramón Maria Martinez e Jairo Herrán que apesar da ausência seguiram vivos seus exemplos de vida nos seres que amamos...

Dedico este trabalho!

AGRADECIMENTOS

A Deus, presente em todos os momentos da minha vida, fonte de força e paciência para superar as adversidades.

A minha amada esposa Mariela Herrán e ao meu filho Juan Esteban, motivos de minha inspiração, pelo amor, apoio e entendimento durante este longo período.

A meus pais, Blanca Oliva e Ramón Martinez e aos meus irmãos pela compreensão e apoio.

Ao Professor Dr. Geraldo Eleno Silveira Alves pela orientação, ensinamentos, compreensão, amizade, aconselhamentos nos momentos difíceis vivenciados nesta estadia e pela acolhida familiar durante toda a permanência em Belo Horizonte.

Aos professores Drs. Humberto Pereira Oliveira e Rafael Resende Faleiros como co-orientadores, pelas sugestões, pelas críticas construtivas e pela disposição e amizade.

Ao meu amigo e colega Bruno Zambelli Loiacono, pela convivência, pela amizade, pela ajuda e apoio durante todo o período desta fase acadêmica.

Ao Bruno Cândido Andrade e aos estagiários Barbara, Guilherme, Thiago, Maurício Mora e Jeferson Sanchez pela valiosa ajuda nas longas jornadas da fase experimental.

Aos professores Fabíola de Oliveira Paes Leme e Paulo Ricardo de Oliveira, às residentes em patologia clínica Ana Carolina Junqueira e Fernanda Garcia pela ajuda no processamento das amostras e análises clínicas.

Às professoras Marília Martins Melo e Gilcinéia de Cássia Santana, pela disposição e ajuda na realização deste trabalho.

À Professora Paula Campos, do Laboratório de Angiogênese do ICB-UFMG, pela ajuda no processamento das amostras para a determinação da atividade enzimática.

Ao Professor Alfredo Barbosa, do Departamento de Anatomia Patológica da Escola de Medicina da UFMG e ao Professor Germán B. Mahecha, do Laboratório de Morfologia do ICB-UFMG pelas disposições e ajudas no processamento das amostras e análises histológicas.

Ao Jamil Silvano de Oliveira, técnico do Laboratório de Enzimologia e Físico-Química de Proteínas do ICB-UFMG, pelo apoio nas análises químicas e cromatográficas e por sempre estar disposto a ajudar.

Às técnicas Kelly e Margot, do Laboratório de Nutrição, pela ajuda na realização das análises de cromatografia gasosa.

Aos senhores Pitágoras e Juarez, pela ajuda e apoio logístico nas instalações da fazenda Modelo de Pedro Leopoldo, fundamental na realização deste experimento.

Aos meus amigos colombianos e colegas de pós-graduação Tereza, Misael, Raul, Ana Maria e Omar, pelos momentos de alegria colombiana.

Aos colegas de pós-graduação Fabiane Cassou, Ingrid Rios Lima Machado, Heloisa Maria Mendes Falcão, Leonardo Lima, Cairo H. Souza, pelo convívio e transferência de conhecimentos.

À Escuela de Medicina Veterinaria da Facultad de Ciencias Agrarias da Universidad de Antioquia – Medellín – Colômbia pela liberação para meu treinamento e crescimento profissional e acadêmico.

À Universidade Federal de Minas Gerais – Escola de Veterinária, pela acolhida como aluno de Pós-Graduação.

À Capes através do programa PEC-PG, pela concessão da bolsa de estudo, e ao CNPq, pelo financiamento do projeto.

Aos membros da banca examinadora pelas sugestões ao trabalho.

AGRADEÇO!

SUMÁRIO

	RESUMO	15
	ABSTRACT	16
1.	INTRODUÇÃO	17
2.	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Anatomia e fisiologia do estômago equino	17
2.2	Mecanismos de defesa da mucosa gástrica	20
2.2.1	Mecanismos locais de defesa da mucosa gástrica	20
2.2.1.1	Barreira muco – bicarbonato – fosfolipídios	20
2.2.1.2	Células epiteliais de superfície	22
2.2.2	Mecanismos de defesa neuro – hormonal da mucosa gástrica	23
3.	SÍNDROME DE ÚLCERA GÁSTRICA EQUINA	24
3.1	Mecanismos de lesão da mucosa gástrica	24
3.2	Fatores predisponentes da SUGE	24
3.2.1	Fatores inerentes ao animal	25
3.2.2	Intensidade do exercício	25
3.2.3	Manejo alimentar inadequado	26
3.2.4	Confinamento	26
3.2.5	Microbiota e metabólitos bacterianos	27
3.2.6	Terapias a base de antiinflamatórios não esteroidais	27
3.2.6.1	Fisiologia e expressão das ciclooxigenases (COXs) no trato gastrintestinal	27
3.2.6.2	Mecanismos das lesões derivadas dos AINES no trato gastrintestinal	28
3.3	Estresse oxidativo	30
3.3.1	Parâmetros antioxidantes e oxidantes	31
3.3.1.1	Glutationa total	31
3.3.1.2	Superóxido dismutase	31
3.3.1.3	Catalase	31
3.3.1.4	Óxido nítrico	31
3.3.1.5	Mieloperoxidase	32
3.3.1.6	N-acetil-β-D-licosaminidase	32
3.3.1.7	Malondialdeído	32
3.4	Prevalência da SUGE	33
3.5	Sinais clínicos e diagnóstico da SUGE	33
3.6	Tratamento da SUGE	35
3.7	Sucralfato	37
3.8	Óleo de milho	37

CAPÍTULO I		
EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS		38
1.	MATERIAL E MÉTODOS	38
1.1	Local	38
1.2	Equinos e manejo	38
1.3	Delineamento experimental	38
1.3.1	Modelo de indução das úlceras gástricas	39
1.3.2	Tratamentos experimentais a base de óleo de milho e sucralfato	41
1.4	Avaliação gastroscópica	41
1.5	Colheita e processamento de material	41
1.5.1	Hemograma e bioquímica sérica	41
1.5.2	Conteúdo gástrico	42
1.5.3	Biópsias gástricas	42
1.5.3.1	Análises da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO)	42
1.5.3.2	Análises da atividade da enzima n-acetilglicosaminidase (NAG)	43
1.5.3.3	Análises da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)	43
1.5.3.4	Análises da atividade da enzima catalase (CAT)	43
1.5.3.5	Determinação da concentração de glutathiona total (GSH)	43
1.5.3.6	Análises de óxido nítrico (ON)	43
1.5.3.7	Análises de malondialdeído (MDA)	43
1.6	Análise estatística	44
1.7	Considerações gerais	44
CAPÍTULO II		
EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS – AVALIAÇÃO CLÍNICA E ANÁLISES LABORATORIAS		45
1.	Resultados	45
2.	Discussão	50
3.	Considerações gerais	52
CAPÍTULO III		
EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS – AVALIAÇÃO GASTROSCÓPICA E HISTOLÓGICA		53
1.	Resultados	53
2.	Discussão	62
3.	Considerações gerais	64
CAPÍTULO IV		
EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS – AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO GÁSTRICO		65
1.	Resultados	65
2.	Discussão	67
3.	Considerações gerais	69

	CAPÍTULO V.	
	EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS	
	PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS – PARÂMETROS	70
	ANTIOXIDANTES OXIDANTES	
1.	Resultados	70
2.	Discussão	76
3.	Considerações gerais	78
4.	CONCLUSÕES	79
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1	Classificação das úlceras gástricas, de acordo com o número e intensidade das lesões; segundo MacAllister et al. (1997)	35
Tabela 2	Arsenal terapêutico utilizado para o tratamento da SUGE. Adaptado de Reese e Andrews, (2009)	36

CAPÍTULO I

Tabela 1	Informação nutricional do óleo de milho utilizado nos Gs II e III durante 14 dias para o tratamento as úlceras gástricas induzidas	40
----------	--	----

CAPÍTULO II

Tabela 1	Médias (\pm DPM) da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (T°C) avaliadas diariamente durante a primeira fase experimental de 15 equinos, submetidos a confinamentos e administração da fenilbutazona	46
Tabela 2	Médias (\pm DPM) dos parâmetros do eritrograma de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras gástricas e tratados com óleo de milho (70 e 90ml/100Kg/vo/, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI)	47
Tabela 3	Médias (\pm DPM) (Neutro. Seg., linfócitos e plaquetas) e medianas (Leuc. totais, monócitos, basófilos, bastonetes, eosinófilos) dos parâmetros do leucograma de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras gástricas e tratados com óleo de milho (70-90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI)	48
Tabela 4	Médias (\pm DPM) (proteínas tot., albumina, uréia, creatinina, FA,GGT) e medianas (AST) dos parâmetros da bioquímica sanguínea de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras gástricas e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI)	49

Tabela 5	Médias (\pm DPM) (cálcio, sódio, magnésio) e medianas (cloreto, potássio) dos parâmetros da bioquímica sanguínea de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras gástricas e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI)	50
----------	---	----

CAPÍTULO III

Tabela 1	Classificação por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GI	54
Tabela 2	Classificação por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área não glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GI	55
Tabela 3	Classificação por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GII	56
Tabela 4	Classificação por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área não glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GII	57
Tabela 5	Classificação por número e intensidade, segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GIII	58
Tabela 6	Classificação por número e intensidade, segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área não glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GIII	59
Tabela 7	Medianas do escore da classificação por número e intensidade das gastroscopias realizadas na área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos à indução de úlceras gástricas com FBZ e a tratamentos com óleo de milho (70-90ml/100kg nos Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid) como controle (GI)	60

Tabela 8	Medianas do escore da classificação por número e intensidade das gastroscopias realizadas na área não glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos à indução de úlceras gástricas com FBZ e a tratamentos com óleo de milho (70-90ml/100kg nos Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid) como controle (GI)	61
----------	---	----

Tabela 9	Medianas dos achados das análises histológicas (HeE) de biópsias da área glandular da mucosa obtidas pela gastroscopia de 15 equinos submetidos à indução de úlceras gástricas com FBZ e a tratamentos com óleo de milho (70-90ml/100kg nos Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid) como controle (GI)	61
----------	---	----

CAPÍTULO IV

Tabela 1	Médias (\pm DPM) da concentração de PGE ₂ (pg/ml) do conteúdo gástrico de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI)	66
----------	--	----

Tabela 2	Medias (\pm DPM) da mensuração do pH do fluido gástrico de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI)	66
----------	--	----

Tabela 3	Médias (\pm DPM) (ácidos acético e butírico) e medianas (ácidos propiónico e láctico) da concentração de ácidos graxos voláteis (AGVs) de amostras de conteúdo gástrico de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, G II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI)	66
----------	---	----

CAPÍTULO V

Tabela 1	Médias (\pm DPM) (CAT e ON) e mediana (SOD) dos parâmetros antioxidantes da área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70-90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/TID,GI)	71
----------	---	----

Tabela 2	Médias (\pm DPM) dos parâmetros oxidantes da mucosa glandular gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70-90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/TID, GI)	73
----------	---	----

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1 Esquema ilustrativo da secreção e controle da produção de ácido clorídrico. Adaptado de Merritt, (2003). PLG: peptídeo liberador de gastrina; GRPC: peptídeo relacionado com o gene da calcitonina; S: somatostatina; H₃: histamina; C: calcitonina; A: acetilcolina; H/K: bomba de prótons. (+) via estimulação; (-) via de inibição 19
- Figura 2 Esquema ilustrativo dos mecanismos de defesa da mucosa gástrica. Modificado de Laine et al. (2008). HCO₃⁻: íon bicarbonato; H⁺: íon Hidrogênio; HCL: ácido clorídrico 21

CAPÍTULO I

- Figura 1 Protocolo experimental constituído por um período de indução de úlceras gástricas com FBZ durante seis dias e períodos de tratamentos com óleo de milho e sucralfato durante 14 dias em 15 equinos 40

CAPÍTULO III

- Figura 1 Dinâmica de evolução das úlceras gástricas na área glandular da mucosa dos equinos do GI através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) 55
- Figura 2 Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área não glandular da mucosa dos equinos do GI através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) 56
- Figura 3 Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área glandular da mucosa dos equinos do GII através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) 57
- Figura 4 Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área não glandular da mucosa dos equinos do GII através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) 58
- Figura 5 Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área glandular da mucosa dos equinos do GIII através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) 59

- Figura 6 Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área não glandular da mucosa dos equinos do G III através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997) 60

CAPÍTULO IV

- Figura 1 Curva padrão utilizada para a mensuração da concentração de PGE₂ do conteúdo gástrico de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI) 67

CAPÍTULO V

- Figura 1 Dinâmica dos parâmetros antioxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos considerados controle (GI) na primeira fase experimental (sem indução de úlceras) e tratados na segunda fase com sucralfato (30mg/kg/vo/TID) CAT: Catalase (Uni./mg/pt); ON: óxido nítrico (µmol/ml); SOD: superóxido dismutase (Uni./mg/pt) 71
- Figura 2 Dinâmica dos parâmetros antioxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos (GII) submetidos à indução de úlceras com FBZ (sobre dose única) na primeira fase experimental e tratados na segunda fase com óleo de milho (70ml/100kg/BID) CAT: Catalase (Uni./mg/pt); ON: óxido nítrico (µmol/ml); SOD: superóxido dismutase (Uni./mg/pt) 72
- Figura 3 Dinâmica dos parâmetros antioxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos (GIII) submetidos à indução de úlceras com FBZ (doses terapêuticas contínuas + sobre dose única) na primeira fase experimental e tratados na segunda fase com óleo de milho (90ml/100kg/BID) CAT: Catalase (Uni./mg/pt); ON: óxido nítrico (µmol/ml); SOD: superóxido dismutase (Uni./mg/pt) 72
- Figura 4 Dinâmica dos parâmetros oxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos considerados controle (GI) na primeira fase experimental (sem indução de úlceras) e tratados na segunda fase com sucralfato (30mg/kg/vo/TID) MPO: mieloperoxidase (DO/mg/te); NAG: n-acetilglicosaminidase (DO/mg/te); MDA: malondialdeído (µg/ml) 73
- Figura 5 Dinâmica dos parâmetros oxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos (GII) submetidos à indução de úlceras com FBZ (sobre dose única) na primeira fase experimental e tratados na segunda fase com óleo de milho (70ml/100kg/BID) MPO: mieloperoxidase (DO/mg/te); NAG: n-acetilglicosaminidase (DO/mg/te); MDA: malondialdeído (µg/ml) 74

- Figura 6 Dinâmica dos parâmetros oxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos (GIII) submetidos à indução de úlceras com FBZ (doses terapêuticas contínuas + sobre dose única) na primeira fase experimental e tratados na segunda fase com óleo de milho (90ml/100kg/BID MPO: mieloperoxidase (DO/mg/te); NAG: n-acetilglicosaminidase (DO/mg/te); MDA: malondialdeído (µg/ml) 74
- Figura 7 Curva padrão utilizada para a mensuração da concentração de GSH da área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI) 75
- Figura 8 Curva padrão utilizada para a mensuração da concentração de ON da área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI) 75
- Figura 9 Curva padrão utilizada para a mensuração da concentração de MDA da área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI) 76

RESUMO

A Síndrome da Úlcera Gástrica Equina (SUGE) apresenta uma ocorrência alta e variável em equinos de diferentes faixas etárias e classes segundo a atividade que desenvolvem. Com o objetivo de avaliar os efeitos do óleo de milho e do sucralfato em equinos portadores de úlceras gástricas, foram utilizados 15 equinos divididos em três grupos. Na fase de indução das úlceras, foi utilizada a combinação de confinamento e fenilbutazona (FBZ) na doses de 4,4mg/kg/vo/sid/5dias com dose única de 13,2mg/kg/vo no dia seis (GIII), dose única de 13,2mg/kg/vo no dia seis (GII) e o grupo controle ou não tratado (GI). Após a avaliação gastroscópica e exames laboratoriais, foi instaurada a segunda fase, com tratamentos a base de óleo de milho no volume de 70-90ml/100kg (Gs II e III respectivamente) e sucralfato a 30mg/kg/tid (GI). Foram realizadas gastroscopias, colheita de conteúdo gástrico e biópsia da área glandular da mucosa para análises de prostaglandina E₂ (PGE₂), ácidos graxos voláteis (AGVs) (ácidos acético, propiônico, butírico e láctico), pH e dos parâmetros antioxidantes e oxidantes (superóxido dismutase (SOD), n-acetilglicosaminidase (NAG), catalase (CAT), glutathiona total (GSH), óxido nítrico (ON), mieloperoxidase (MPO) e malondialdeído (MDA). Lesões gástricas de intensidade leve a moderadas foram induzidas nas áreas glandular e não glandular da mucosa, nos grupos que receberam FBZ. Os tratamentos (óleo de milho e sucralfato) restabeleceram o epitélio ulcerado da área glandular, mas o óleo de milho não mostrou restituição do epitélio da área não glandular. Alterações desde aumento e quedas dos parâmetros antioxidantes e oxidantes foram observadas, mas a maioria das variáveis sem diferença estatística entre os grupos avaliados.

Palavras-chave: Equino, úlcera gástrica, óleo de milho, sucralfato, antioxidantes e oxidantes.

ABSTRACT

The Equine Gastric Ulcer Syndrome (EGUS) presents a high and variable occurrence in horses of different age groups and classes according to the activity they are carrying. The objective was evaluate the effects of corn oil and sucralfate in horses suffering from gastric ulcers. For this was used 15 horses divided into three groups. In the induction phase of ulcers, was used a combination of stall confinement and phenylbutazone (PBZ) in doses of 4.4 mg/kg/po/sid/5days with a single dose of 13.2 mg/kg/po on sixth day (GIII), single dose of 13.2 mg/kg/po on day six (GII) and the control group or untreated (GI). After the gastroscopy evaluation and laboratory tests was introduced the second stage treatment with the base of corn oil in the volume of 70-90ml/100kg (Gs II and III respectively) and the sucralfate 30mg/kg/tid (GI). Gastroscopy were performed, harvesting of gastric contents and biopsy of the area glandular gastric mucosa for analysis of PGE₂, volatile fatty acids (VFAs) (acetic, propionic, butyric and lactic acids), pH and oxidant and antioxidant parameters (superoxide dismutase (SOD), n-acetylglucosaminidase (NAG), catalase (CAT), total glutathione (GSH), nitric oxide (ON), myeloperoxidase (MPO) and malondialdehyde (MDA). Gastric lesions of mild to moderate were induced in glandular and non-glandular area gastric mucosa in the groups that received PBZ. Treatments (corn oil and sucralfate) restored the ulcerated area of the glandular mucosa, but corn oil wasn't able to recover the non-glandular epithelium. Change from rising and falling of oxidants and antioxidant parameters were observed, but most of the variables did not present statistical difference between groups.

Key words: equine, gastric ulcer, corn oil, sucralfate, antioxidants and oxidants.

1. INTRODUÇÃO

A Síndrome da Úlcera Gástrica Equina (SUGE) afeta negativamente a indústria equina, pela perda da condição corporal, treinamento e rendimento dos animais acometidos (Nieto et al., 2009) e pelo custo elevado do tratamento, além de causar desconforto e cólica que podem originar outras complicações gastrintestinais. A SUGE acomete animais de todas as raças e faixas etárias. As prevalências de 25 a 50% em potros e de 80 a 90% em adultos foram relatadas (Murray, 2009) e podem variar dependendo da intensidade do estresse gerado pela atividade e manejo alimentar a que são submetidos os animais. Apesar da maior casuística em animais de esporte em treinamento e atletas de alto rendimento, também se descrevem prevalências acima de 50% em equinos fora de competição e com aparência normal (Videla e Andrews, 2009; McClure et al., 2005; Murray e Grodinsky, 1989).

O efeito cáustico do ácido clorídrico associado a fenômenos mecânicos e uma deficiente barreira de defesa são os mecanismos envolvidos na lesão da área não glandular da mucosa. Entretanto, as lesões inflamatórias e ulcerativas da área glandular da mucosa são relacionadas aos efeitos colaterais de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), em que a inibição da prostaglandina E_2 (PGE_2) e o estresse oxidativo pelas mudanças no equilíbrio de oxidantes e antioxidantes são relatados dentro a fisiopatologia da lesão primária desta mucosa. Já foi descrita a expressão de PGE_2 na área não glandular da mucosa via ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) após a estimulação com bradicinina (Morrissey et al., 2008).

A deficiência de PGE_2 na mucosa aumenta sua susceptibilidade na formação de úlcera, por não inibir a secreção de ácido, baixar a produção de muco, bicarbonato e de fosfolípidios, diminuir o fluxo sanguíneo,

controlar a motilidade gástrica e desacelerar a restituição e cicatrização epitelial (Kobayashi e Arakawa, 1995). A administração exógena de PG reduz o risco de SUGE, tendo porém como inconveniência o elevado custo. Estudos com suplementos dietéticos ricos em ácido linoléico como precursor de ácido araquidônico foram realizados, na tentativa de obter fontes de produção de PG endógenas mais econômicas (Grant et al., 1988; Cargile et al., 2004). Porém, existe pouca literatura avaliando os benefícios destes suplementos na mucosa gástrica ulcerada dos equinos.

A terapêutica para a SUGE exige várias estratégias e períodos longos de medicação, elevando os custos do tratamento. Além da abordagem farmacológica, mudanças no manejo nutricional e ambiental são importantes para evitar recorrências das ulcerações. Pesquisas conduzidas à procura de novas abordagens e de produtos mais econômicos que auxiliem tanto na prevenção como no tratamento desta síndrome são pertinentes.

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do óleo de milho e do sucralfato em equinos portadores de lesões ulcerativas gástricas, e seus possíveis mecanismos de ação relacionados com o reparo da mucosa lesada através da quantificação da PGE_2 , dos parâmetros antioxidantes e oxidantes da área glandular da mucosa, mensuração do pH, concentração dos ácidos graxos voláteis (AGVs) do conteúdo gástrico e avaliação gastroscópica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anatomia e fisiologia do estômago equino

O estômago do cavalo tem uma capacidade entre 7,5 e 15 litros, sendo pequeno em relação aos compartimentos caudais do tubo

digestivo, já que só representa entre 8 e 10% de seu volume (Al Jassin e Andrews, 2009). Projeta-se entre o 9º e o 12º espaços intercostais, posição esta que varia conforme o grau de distensão. Em sua maior parte, localiza-se no antímero esquerdo, imediatamente caudal ao diafragma. A sua posição é estabilizada pelos omentos, ligamentos gastro-frênico, frênico-esplênico e gastro-esplênico (Sisson e Grossman, 1985).

O estômago possui curvaturas, maior e menor. Sua superfície interna é integrada por quatro regiões: cárdica, fúndica, corpo e pilórica. A parede gástrica é constituída, de fora para dentro, pelas camadas: serosa, muscular, submucosa e mucosa. A mucosa possui duas áreas que são denominadas não glandular ou pavimentosa e a glandular ou secretora, pelo que se considera um estômago unicavitário composto (König et al., 2004). Na interface destas está o *margo plicatus*, área onde ocorre prevalência de lesões da SUGE (Andrews, 2005).

A área glandular da mucosa do estômago representa os 2/3 da superfície produtora de ácido clorídrico e pepsinógeno para a digestão, além de ter efetivos mecanismos protetores ao produzir muco, bicarbonato e alta velocidade de re-epiteliação da mucosa, mas é local de aproximadamente 20% das úlceras (Videla e Andrews, 2009; Buchanan e Andrews, 2003). A parte não glandular tem epitélio escamoso estratificado sem autoproteção eficiente, o que predispõe 80% das lesões por causticação ácida (Murray, 2009).

Do ponto de vista histológico, existem diferenças estruturais e funcionais entre o epitélio pavimentoso ou escamoso da área aglandular e o epitélio glandular. O desenvolvimento destas duas superfícies

começa ao final da gestação e no período neonatal. Nas duas primeiras semanas após do nascimento, o epitélio pavimentoso entra em hiperplasia em resposta à exposição ácida e o epitélio glandular se diferencia totalmente (Murray, 1999). O epitélio escamoso se compõe de *stratum corneum*, *stratum transitionale*, *stratum espinoso* e *stratum basale* ou *germinativum*.

A área glandular possui em sua extensão uma grande variedade de células secretoras, como as cárdicas e pilóricas produtoras de muco gástrico, as glândulas próprias ou fúndicas, as células acessórias produtoras de muco, células parietais secretoras do ácido clorídrico, células principais secretoras de pepsinogênio, células D secretoras de somatostatina, células G produtoras de gastrina e células semelhantes a enterocromafinas secretoras de histamina e serotonina (Merritt, 1999), sendo estas últimas presentes em maior quantidade na região pilórica.

A maior parte do fluido do estômago origina-se pela secreção ácida contínua com ou sem presença de alimento, em volume de 10 a 30 litros/dia. Além do ácido clorídrico, o conteúdo estomacal contém saliva, ácidos graxos voláteis (AGVs) e secreção intestinal por refluxo duodenal (Merritt, 2003). O controle da secreção clorídrica envolve mecanismos de *feedback* responsivos a diferentes fatores como o pH e a composição da digesta. Nesse processo, acontecem interações complexas entre componentes neurais (vago) e hormonais envolvendo a gastrina, secretina, colecistocinina, somatostatina, peptídeo liberador de gastrina, histamina, serotonina, acetilcolina, entre outros (Johnson, 1971; Sandin et al., 1999).

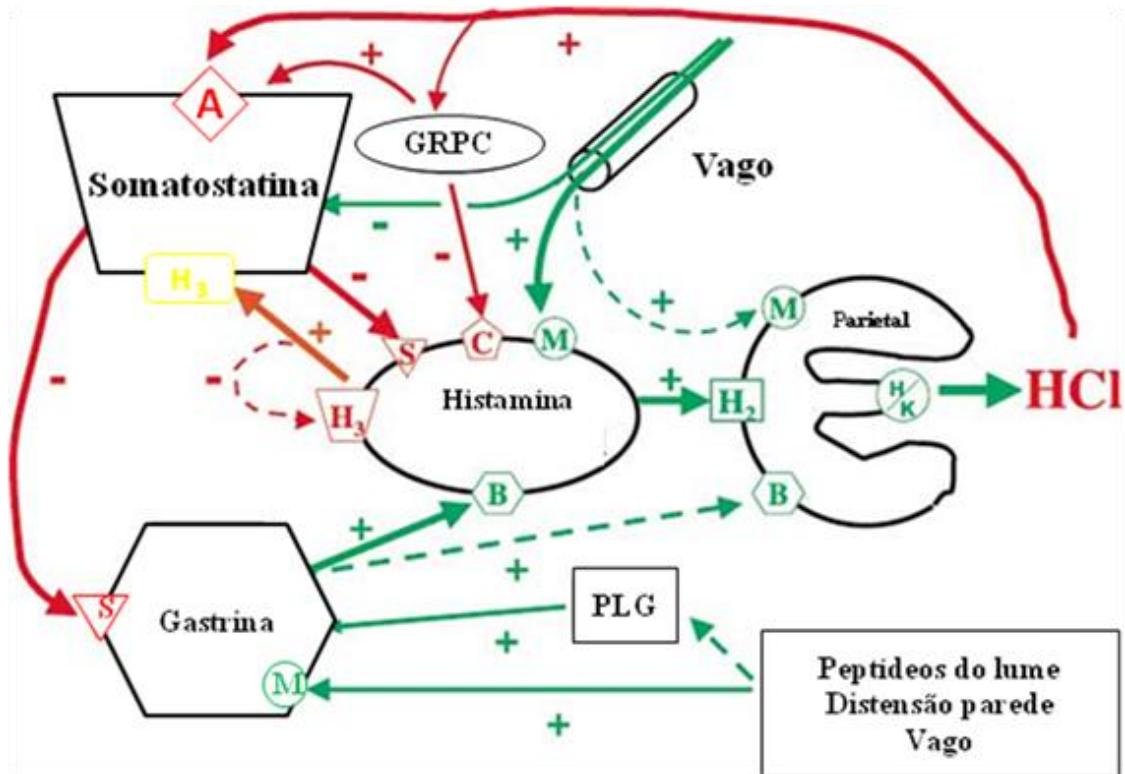


Figura 1. Esquema ilustrativo da secreção e controle da produção de ácido clorídrico. Adaptado de Merritt, (2003). PLG: peptídeo liberador de gastrina; GRPC: peptídeo relacionado com o gene da calcitonina; S: somatostatina; H₃: histamina; C: calcitonina; A: acetilcolina; H/K: bomba de prótons. (+) via estimulação; (-) via de inibição.

A acetilcolina derivada do nervo vago e a gastrina são os principais estimulantes da secreção das células parietais através do mecanismo da bomba de prótons induzida pela ATPase-K,H que permite o intercâmbio de H⁺ / K⁺ na membrana celular na maioria dos animais; mas no equino as células parietais são mais sensíveis a histamina (Campbell-Thompson, 1994). A somatostatina e, em menor proporção o peptídeo relacionado com o gene da calcitonina, inibem a secreção clorídrica ao controlar de maneira parácrina as células produtoras de gastrina e histamina, tal como mostra-se na Figura 1.

O tempo de permanência da digesta no estômago varia entre 2 e 6 horas (Weyenberg et al., 2006), dependendo diretamente da frequência do consumo e do tipo de alimento. O estômago raramente fica completamente vazio e a ingestão de alimento estimula a passagem do conteúdo gástrico ao duodeno, promovendo o trânsito normal entre estes compartimentos (Guerring e Hunt, 1986). A estrutura anatômica entre o esôfago distal e o cárdia normalmente só permite trânsito de fluido e gás no sentido aboral, embora o estômago sempre permaneça com alguma quantidade de gás (Colin et al., 2005).

O processo de esvaziamento gástrico em resposta à ingestão ocorre pelas fases de relaxamento receptivo e de acomodação (Lorenzo-Figueras et al., 2002). A fase de relaxamento receptivo do estômago dos equinos envolve mecano-receptores presentes na faringe e/ou esôfago. Já a de acomodação depende do controle por *feedback* de sensores do duodeno, ativados pelo contato do conteúdo com as paredes gástricas. Isso demonstra a importância do tipo e qualidade do alimento oferecido para que haja ajustamento fisiológico às manipulações das dietas (Merritt, 2003).

2.2 Mecanismos de defesa da mucosa gástrica

No estômago, a mucosa é a primeira barreira de defesa, sendo submetida a constantes desafios derivados de substâncias e fatores lesivos locais e sistêmicos. Portanto, vários são os mecanismos estabelecidos para prevenir lesões e manter a integridade da mesma. No entanto, as lesões gástricas acontecem por causas que superam os mecanismos de defesa da mucosa ou quando estes são alterados (Laine et al., 2008). Portanto, mecanismos de defesa gástricos locais e neuro-hormonais são de importância na proteção deste órgão, tal como se ilustra na Figura 2.

2.2.1 Mecanismos locais de defesa da mucosa gástrica

2.2.1.1 Barreira muco-bicarbonato-fosfolipídeos

Esta defesa é constituída por um gel protege as superfícies mucosas. Formada por muco,

bicarbonato e fosfolipídios surfactantes, todos secretados pelas células epiteliais estimuladas pela gastrina, secretina, prostaglandinas E₂ (PGE₂) e agentes colinérgicos. O bicarbonato preserva um microambiente de pH neutro no epitélio e previne a digestão proteolítica da pepsina à superfície epitelial (Allen e Flemström, 2005). Enquanto isso, os fosfolipídios surfactantes apresentam propriedades hidrofóbicas, onde uma deficiência predispõe à úlcera e a suplementação exógena pode ser útil na prevenção de gastropatias (Ethell et al., 1999).

O muco gástrico, constituído por biopolímeros, contém 95% de água e 5% de glicoproteínas-mucinas, além de DNA, lipídeos, íons, proteínas, células e restos celulares. Todos estes constituintes contribuem com as características bioquímicas e físicas do muco (Lai et al., 2009). Entretanto, alterações nas propriedades reológicas do muco podem afetar suas funções de barreira seletiva e de defesa contra fatores lesivos (Slomiany e Slomiany, 1991). Fatores como idade, dieta, antígenos específicos, patógenos e mudanças de pH, também podem influir nas características de viscoelasticidade do muco. Por exemplo, em humanos, com a invasão do *H. pylori* ocorre aumento na viscoelasticidade do muco, talvez na tentativa de prevenir a entrada de patógenos móveis (Markesich et al., 1995). Em ambiente ácido do lúmen gástrico, o muco aumenta viscoelasticidade ao reduzir as cargas negativas dos grupos carboxilas sobre o ácido siálico nas regiões glicosiladas das fibras de mucina (Lamont, 1992).

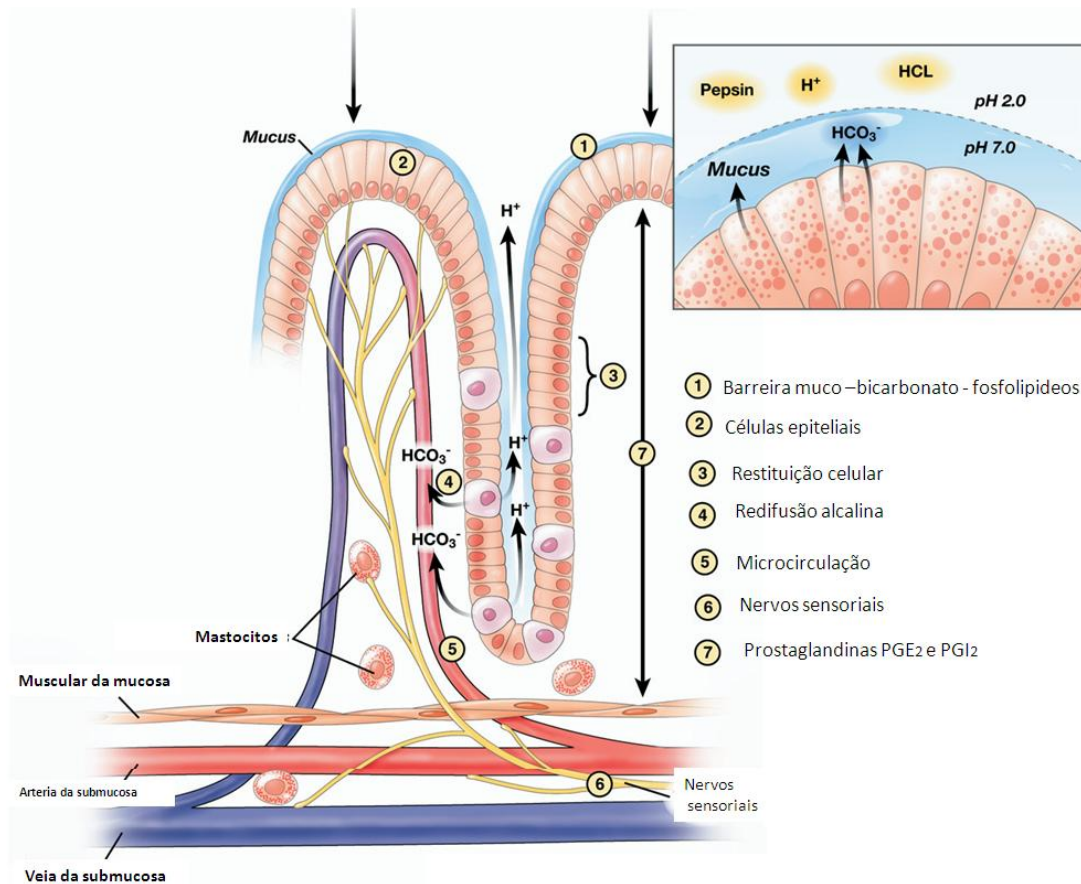


Figura 2 – Esquema ilustrativo dos mecanismos de defesa da mucosa gástrica. Modificado de Laine et al. (2008). HCO_3^- : íon bicarbonato; H^+ : íon Hidrogênio; HCL: ácido clorídrico.

Desta maneira, a eficiência da funcionalidade do muco depende principalmente das glicoproteínas (Carbajal et al., 2000). Por conseguinte, fatos como a redução na síntese de glicoproteínas sulfatadas ou excessiva degradação são implicados na etiologia da úlcera péptica (Younan et al., 1982). Contudo, o equilíbrio das propriedades macromoleculares contribui no entendimento dos processos fisiológicos e patológicos que acontecem na superfície das mucosas.

Vários genes que expressam mucinas como MUC2, MUC5AC, MUC5B e MUC6 foram descritos, sendo o MUC5AC e MUC6 com

maior presença na superfície gástrica de humanos (Ho et al., 2004). Entretanto, Bullimore et al. (2001) determinaram a semelhança da MUC5AC de humanos com a presente na área glandular e não glandular da mucosa do estômago de equinos, havendo células produtoras somente na mucosa glandular. Possivelmente as mucinas da mucosa não glandular viriam da anterior e das vias respiratórias ou das glândulas salivares.

Os peptídeos em forma de trevo pS_2 , SP, Fator de trevo 1, 2 e 3, participam na conformação da estrutura do muco, expressados e produzidos por células

produtoras de muco. Esses oferecem estabilidade e maior viscoelasticidade ao muco, catalisando a formação de complexos de mucinas estáveis (Thim et al., 2002), além de prevenir a degradação da pepsina e participar na proteção e reparação da mucosa lesada (Blikslager, 2004). Em processos ulcerativos gástricos e inflamatórios intestinais ocorre aumento na concentração destes peptídeos.

A participação do muco na defesa da mucosa gástrica está bem caracterizada, função que depende de sua copiosa produção e das características físico-químicas. Por isso os agentes que estimulam a secreção do muco podem resultar benéficos na profilaxia das úlceras comparados com os que somente suprimem a lesão causada pelo ácido clorídrico (Rees e Turnberg, 1982).

2.2.1.2 Células epiteliais de superfície

Esta camada celular corresponde ao segundo mecanismo de defesa da mucosa gástrica e produz tanto os integrantes do muco como seus estímulos de produção. A propriedade hidrofóbica dada pelos fosfolipídios repele o ácido e os agentes lesivos solúveis em água (Lichtenberger, 1999). Esta camada celular encontra-se organizada pelas junções estreitas e as uniões GAP, oferecendo integridade e prevenindo a difusão retrógrada do ácido e da pepsina, pelo que são consideradas como um importante sistema de defesa da mucosa. Nos equinos, a proteína connexin 32 das uniões GAP se encontra presente na superfície gástrica glandular como em outras espécies, mas ausente na não glandular (Fink et al., 2006).

A contínua renovação das células progenitoras epiteliais assegura a integralidade e a reparação da mucosa, sendo um tempo estimado de substituição epitelial de três a sete dias e de meses para

as células das glândulas (Laine et al., 2008). A renovação celular é coordenada e controlada por fatores de crescimento, como o Receptor do Fator de Crescimento Epidermal (RFCE), Fator de Crescimento Transformante- α (FCT- α) e Fator de Crescimento Dependente de Insulina-1 (FCI-1), ativados pela PGE₂ e gastrina, através da via *protein kinase* miogênica ativa (Pai et al., 2002). Além disso, fatores de crescimento também são fornecidos pelas glândulas salivares e esofágicas, especificamente o peptídeo do RFCE.

Com ajuda da biologia molecular, tem-se elucidado várias proteínas com funções importantes na mucosa gástrica, tais como as proteínas de choque térmico, que protegem contra mudanças de temperaturas, estresse oxidativo e agentes citotóxicos (Tanaka et al., 2007). Os peptídeos catelicidin e β defensinas são importantes no sistema imune inato da mucosa contra a colonização bacteriana (Yang et al., 2006). Finalmente, a expressão da proteína survivin, com funções de evitar apoptose e promover mitose nas células epiteliais do estômago, foi descrita (Chiou et al., 2005).

As células parietais, além de produzir ácido clorídrico no lúmen gástrico, também contribuem com os mecanismos de defesa ao secretarem e verterem simultaneamente bicarbonato ao leito de capilares sanguíneos que fazem o transporte até as células epiteliais da superfície para formar o muco.

A arquitetura vascular da mucosa tem uma participação importante nos mecanismos de defesa das células epiteliais gástricas, uma vez que as células glandulares estão em proximidade com capilares arteriais e com as células epiteliais de superfície próximas ao sistema venoso, o que facilita tanto a liberação de oxigênio e nutrientes, bem como a remoção de substâncias tóxicas. O endotélio microvascular antagoniza o efeito de vasoconstritores como leucotrienos C₄, tromboxanos A₂ e endotelina, através da

geração de prostaciclina (PGI₂) e óxido nítrico (ON), o que garante a patência vascular. Ante qualquer ameaça da mucosa gástrica ocorre rápido aumento no fluxo sanguíneo na mucosa na tentativa de remover ou diluir o agente lesivo, esta resposta é controlada pelo ON e nervos sensoriais aferentes (Laine et al., 2008). ON e PGI₂ também previnem a aderência de plaquetas e leucócitos ao endotélio da microcirculação da mucosa. Recentemente, foram descritas funções protetoras do sulfureto de hidrogênio, já que reduz o fator de necrose tumoral α (TNF- α), a aderência endotelial de leucócitos e contribui para a diminuição das lesões induzidas por AINEs (Fiorucci et al., 2006).

A produção contínua de PGE₂ e PGI₂ estimula ou facilita diversos mecanismos de defesa, uma vez que inibe a secreção de ácido, muco, bicarbonato e fosfolípidios, aumenta o fluxo sanguíneo, controle da motilidade gástrica e acelera a restituição epitelial (Kobayashi e Arakawa, 1995; Kaneko et al., 2008). Desta maneira, uma deficiência de PGs na mucosa aumenta a susceptibilidade na formação de úlcera e a administração exógena de PG reduz o risco de úlcera, demonstrando uma importante função na regulação dos fatores defensivos e agressivos na homeostases da mucosa (Cryer, 2001). O mecanismo de ação das PGs se dá por meio dos receptores EP 1-4, sendo os EP-1 responsáveis diretamente pela defesa da mucosa, os EP-3 pela secreção de ácido e os EP-4 pela secreção de muco (Narumiya et al., 1999). As PGs derivam do metabolismo do ácido araquidônico catalisado pelas ciclooxigenase-1 (COX₁) e ciclooxigenase-2 (COX₂).

O termo citoproteção adaptativa refere-se ao efeito de resistência adquirida pela mucosa gástrica a fatores lesivos repetitivos. O fenômeno tem-se relacionado com as concentrações de PGs, como foi demonstrado em ratos pré-tratados com pequenas quantidades de PGE₂, que

diminuíram os efeitos que ocasionam a infusão intragástrica de álcool 100% ou água quente (Robert et al., 1983). Esses mecanismos de adaptação em equinos vêm sendo estudados, pelo fato da maior presença de úlceras nos períodos de aclimatação comparado com os momentos de desafio em muitos trabalhos que visam esclarecer fatores indutores de SUGE (Graaf-Roelfsema et al., 2010).

2.2.2 Mecanismo de defesa neuro-hormonal da mucosa gástrica

O sistema nervoso central e hormônios têm participação conjunta na regulação dos mecanismos de defesa gástrica. Desta forma, o sistema vagal aumenta o muco e o pH intracelular em estômagos de murinos. O fator liberador corticotrófico (FLC) está envolvido nas respostas fisiológicas gastrintestinais ao estresse, inibindo a motilidade e apoptose em modelos murinos e humanos (Chatzaki et al., 2006), assim como também a ativação de receptores opióides centrais, que potencializam os mecanismos gástricos de defesa.

A inervação sensorial da mucosa gástrica participa diretamente dos mecanismos de defesa da camada epitelial do estômago. Os neurônios e as fibras nervosas aferentes organizam-se em plexos próximos às células epiteliais da superfície e entram em contato com componentes do lume. A ativação destes nervos por meio de neurotransmissores como o peptídeo relacionado com o gene da calcitonina e a substância P, afeta o tônus das arteríolas da submucosa, regulando deste modo o fluxo sanguíneo através da produção do ON (Stroff et al., 1995).

Os glicocorticoides em especial a corticosterone oferecem propriedades gastroprotetoras ao manter a homeostase da glicose, fluxo sanguíneo, secreção de muco, regulação da motilidade gástrica e permeabilidade microvascular, fatos que os

relacionam com a resposta hormonal a eventos de estresse (Filaretova et al., 1998). Sustâncias produzidas também na medula adrenal e no fundo gástrico como a adrenomedulina e a amilina estimulam a produção de somatostatina, inibindo a liberação de histamina e a secreção do ácido clorídrico em modelos murinos (Gomez et al., 2004), pelo que se consideram também importantes na defesa e reparo da mucosa gástrica (Twardowschy, 2007).

Outros peptídeos como a gastrina 17, colecistoquinina, hormônio liberador de tireotropina, bombesina, FLC, FCE, peptídeo YY, neuroquinina A, peptona gástrica e peptídeo grelina têm sido evidenciados como fatores de ação protetiva e regenerativa da mucosa gástrica em associação com transmissores de nervos aferentes sensoriais (Tsutsumi et al., 2003; Tanaka et al., 2004; Brzozowski et al., 2005).

3. SÍNDROME DE ÚLCERA GÁSTRICA EQUINA

A denominação de Síndrome de Úlcera Gástrica Equina (SUGE) refere-se ao complexo de doenças associadas com úlcera da mucosa esofágica, gástrica e duodenal (Andrews et al., 1999a). Esta definição se refere especificamente ao equino, diferenciando-se de condições relacionadas com humanos, uma vez que a úlcera péptica em humanos não é semelhante a úlceras na área da mucosa escamosa em cavalos, sendo essa mais relacionada com a doença de refluxo gastro-esofágico (GERD), pela similaridade histológica da mucosa esofágica. Recentemente, Merritt (2009) recomendou o uso adequado do termo SUGE pelo excesso de publicações se referindo somente às úlceras da área não glandular da mucosa, além de propor como doença escamosa primária a esta condição, ainda dentro da SUGE.

3.1 Mecanismos de lesão da mucosa gástrica

A SUGE caracteriza-se pela natureza multifatorial, dependendo de um desequilíbrio entre os fatores protetores intrínsecos (como adequada irrigação da mucosa, secreção de muco, prostaglandinas e mecanismos citoprotetores) e os fatores lesivos intrínsecos (como produção de ácido clorídrico, acetilcolina, ácidos biliares e pepsina) que alteram os diferentes mecanismos de defesa da mucosa gástrica, resultando em erosão ou formação de úlceras (Murray e Grodinsky, 1989; Napper et al., 1989). No entanto, o ácido clorídrico, AGVS, bile com pH gástrico menor que 4, alteram o transporte ativo de Na^+ ocasionando alteração de permeabilidade do epitélio, fato considerado como a causa primária de dano à área não glandular da mucosa pobre em autoproteção (Argenzio, 1999; Reese e Andrews, 2009).

O mecanismo desencadeante de úlceras da mucosa glandular é menos entendido, mas pode ser o resultado de alterações na defesa desta mucosa por agentes como os AINEs, ao inibir fatores citoprotetores gerados pela produção de PGE_2 (Marquez, 2007). As úlceras nesta mucosa, especialmente na região pilórica se denominam doença ulcerativa glandular primária. Lesões na área não glandular da mucosa também foram relatadas em toxicoses por AINEs, sem ser efeito primário destes fármacos, mas por alterações da motilidade e esvaziamento gástrico (Merritt, 2003).

3.2 Fatores predisponentes da SUGE

Embora seja aceita a causticação ácida como uma das causas primárias da SUGE, vários outros fatores predisponentes envolvidos estão descritos na literatura. Fatores de risco inerentes ao animal e próprios do sistema de exploração, como exercício intenso, manejo alimentar inadequado, estresse, confinamento e terapias à base

de AINEs, são considerados como desencadeantes de gastrites e úlceras gástricas (Lorenzo-Figueras et al., 2002; Videla e Andrews, 2009). Recentemente vincularam-se populações de bactérias produtoras de metabólitos gastrolesivos com a SUGE.

3.2.1 Fatores inerentes ao animal

Existem resultados controversos com respeito à predisposição da SUGE por características como o sexo, raça, idade e temperamento, já que a maioria dos trabalhos foram realizados em diferentes populações de equinos e combinando fatores de intensidades diversas, como o tipo de trabalho, treinamento e esforço físico. No entanto, parece existir uma maior predisposição em machos castrados, devido à diminuição do fator de crescimento epidermal salivar, que é estimulado pelos hormônios reprodutivos (Rabuffo et al., 2002). Embora outros estudos em cavalos de corrida ativos não determinaram associação entre prevalência e intensidade da SUGE com o sexo (Bell et al., 2007; Tamzali et al., 2011).

Os cavalos Standardbreds parecem ser menos afetados pela SUGE que os Warmbloods, o que poderia indicar também possíveis diferenças de manejo entre as raças (Luthersson et al., 2009a). Estudos realizados em cavalos de corrida em treinamento ativo das raças Standardbred e Thoroughbred têm determinado elevadas e semelhantes prevalência e intensidade de úlceras gástricas, uma vez, que por ser atletas, podem ter o mesmo sistema de manejo (Ferruci et al., 2003; Orsini et al., 2009).

Em animais geriátricos, as úlceras são mais extensas atingindo todas as áreas da mucosa gástrica (Luthersson et al., 2009b). Entretanto, Chamero et al. (2006) e Jonsson e Egenvall (2006) determinaram maior prevalência em animais de mais de

três anos comparados aos de menos de dois anos, sendo esta incidência relacionada com o início de treinamentos de corrida. Porém, este fator continua sendo controverso uma vez que existem relatos da não influência deste fator nas ulcerações gástricas.

O temperamento dos equinos está relacionado com predisposição ao estresse e este tem sido relacionado como um fator de risco para desenvolver úlceras gástricas, condição que pode levar a desequilíbrios neuroendócrinos, como o aumento na gastrina e histamina que aumenta a secreção do ácido clorídrico em modelos murinos. Embora na espécie equina existam trabalhos controversos em mostrar associação entre o temperamento e úlceras gástricas (Vatistas et al., 1999).

3.2.2 Intensidade do exercício

Equinos de corrida ativos e em treinamento apresentam maiores prevalências de SUGE na área não glandular da mucosa (Orsini et al., 2009), fato atribuído a eventos fisiológicos e mecânicos. O exercício diminui a motilidade gástrica e aumenta a pressão intragástrica pela ação dos músculos abdominais e esforço respiratório, o que altera o pH na parte dorsoventral do estômago (Bell et al., 2007). O aumento da pressão abdominal durante o exercício empurra o líquido do conteúdo gástrico contendo agentes corrosivos como o ácido clorídrico, AGVs e bile à área não glandular da mucosa gástrica proximal (Lorenzo-Figueras et al., 2002).

Atletas humanos expostos a provas extenuantes desenvolvem condições isquêmicas que alteram a mucosa gástrica e intestinal (Oktedalen et al., 1992). Em equinos não existe evidência da ocorrência deste fato, mas Barton et al. (2003) descreveram sinais de endotoxemia subclínica em cavalos de enduro, indicando alteração da permeabilidade da mucosa gastrointestinal. Contudo, o nível de

exigência da atividade física tem relação direta com aumento das prevalências da SUGE.

Associação entre o treinamento e níveis de gastrina tem sido relatada em equinos. A secreção de gastrina é o principal secretagogo endógeno do ácido clorídrico, o que aumenta o efeito cáustico na área não glandular da mucosa gástrica. Os equinos atletas têm exposição a diversos fatores de estresse, que acarretam desequilíbrios neuroendócrinos, aumentando a vulnerabilidade gástrica (McClure et al., 2005).

3.2.3 Manejo alimentar inadequado

A privação intermitente de alimento está associada com acidez aumentada no lúmen gástrico e pouca saliva na parte líquida do conteúdo, o que compromete o efeito tamponante do ambiente gástrico (Argenzio, 1999). Além disso, os períodos de jejum induzem mudanças nas propriedades físicas do conteúdo gástrico (Varloud et al., 2007a). Contudo, o pH gástrico proximal em períodos de jejum foi menor no início da manhã (Husted et al., 2009). Por esta razão, protocolos a base de períodos de jejum intermitentes são empregados na indução de úlceras gástricas principalmente na área não glandular da mucosa.

A frequência de alimentação e quantidade de ração foram relacionadas como fatores predisponentes da SUGE. Luthersson et al. (2009b) determinaram aumento na apresentação de lesões gástricas em períodos entre refeições maiores de seis horas, assim como também em animais com um maior consumo de ração concentrada, uma vez que dietas com altos níveis de carboidratos solúveis levam à maior fermentação e estimulam a produção de AGVs e ácido láctico (Nadeau et al., 2000), afetando desta maneira as propriedades bioelétricas da mucosa, o que ocasiona alteração na permeabilidade (Andrews et al., 2006). Os

níveis de gastrina também são aumentados em equinos com dietas ricas em carboidratos.

Períodos maiores que quatro horas de restrição hídrica também constituem fator de predisposição à SUGE. O consumo de água dilui o conteúdo gástrico e, por conseguinte, eleva o pH (Andrews et al., 2006). O transporte, comum nos equinos atletas, produz alteração na frequência de consumo de alimento e de água, o que é considerado facilitador no aumento das úlceras gástricas (McClure et al., 2005). Nos cavalos atletas de enduro, a oferta de pastas eletrolíticas hipertônicas para prevenir a desidratação nas competições tem sido relacionada com a indução ou perpetuação das úlceras gástricas (Holbrook et al., 2005). Estes mesmos autores hipotetizaram uma possível interação das soluções hipertônicas com a atividade do íon hidrogênio do conteúdo gástrico.

3.2.4 Confinamento

Os longos períodos de estabulação são relacionados à prevalência de úlceras gástricas (Murray e Eichorn, 1996; Bell et al., 2007). Contudo, outros estudos não mostraram diferença na intensidade das lesões entre cavalos confinados, o tempo todo, em tempo parcial e cavalos a pastos, sugerindo o envolvimento de outros fatores na fisiopatologia das úlceras nestes animais. Husted et al. (2009) determinaram mudanças significativas do pH gástrico em equinos em estabulação e em piquete.

O equino confinado experimenta mudanças no manejo de sua alimentação no que se refere à quantidade, à frequência e ao tipo de alimento. Além disso, o confinamento é uma estratégia contrária à natureza social gregária dos equinos, o que acarreta situações de estresse e alterações comportamentais, neuroendócrinas e metabólicas reflexas.

Os equinos confinados em ambiente hospitalar, por qualquer situação médica ou cirúrgica, têm maiores riscos de desenvolver ou exacerbar as lesões da SUGE devido às situações de estresse que geram estas condições, além de interrupção da alimentação, a administração de medicações analgésicas e de suporte e mudanças nos esquemas de manejo (Rabuffo et al., 2009).

3.2.5 Microbiota e metabólitos bacterianos

A presença de bactérias na predisposição da SUGE continua sendo controversa. No entanto, *Helicobacter pylori* (Scott et al., 2001) e *Helicobacter equorum* (Moyaert et al., 2009) têm sido isolados das áreas não glandular e glandular, tanto em equinos adultos e potros como em animais sadios e enfermos. No entanto, o gênero *Helicobacter* é bem adaptado para sobreviver no ambiente ácido do estômago, devido à atividade da enzima urease, tipo de motilidade e mecanismo eficiente de adesão ao epitélio gástrico (Krakowka, 2007).

Outras bactérias ácido resistentes e produtoras de ácido láctico e AGVs via fermentação de amido, já foram incriminadas na gênese de úlceras na área não glandular da mucosa (Nadeau et al., 2003a; Andrews et al., 2006). Recentemente, Patton et al. (2009) reportaram um caso de gastrite em equino e isolaram colônias de *Clostridium perfringens* tipo A na submucosa, indicando o possível envolvimento deste nas lesões gástricas. Por fim, a colonização bacteriana nas úlceras gástricas em equinos retarda a cicatrização, sendo recomendado o uso de antibióticos nestes casos (Videla e Andrews, 2009).

3.2.6 Terapias a base de antiinflamatórios não esteroidais

Os antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs) são amplamente usados na medicina humana e veterinária pelos efeitos

analgésico, antiinflamatório e antipirético decorrentes do mecanismo de ação. Em equinos são utilizados principalmente para o tratamento de quadros clínicos caracterizados pela dor e inflamação dos sistemas musculoesquelético e gastrointestinal. A extensa aceitação na veterinária tem levado ao uso indiscriminado, como demonstrado numa pesquisa que reportou uma frequência de utilização de 82% sem recomendação médica veterinária (Anon, 2009).

3.2.6.1 Fisiologia e expressão das ciclooxigenases (COXs) no trato gastrointestinal

Além dos benefícios dos AINEs, também têm sido identificados efeitos citotóxicos locais e sistêmicos indesejáveis na mucosa gastrointestinal e no tecido renal, relacionados com a diminuição dos níveis das PGs devido à inibição das COXs. No entanto, fatores inerentes à farmacologia dos AINEs, reação individual e condição clínica podem contribuir à apresentação ou exacerbação das complicações nestes órgãos (Andrews e McConnico, 2009).

As COXs catalisam a conversão do ácido araquidônico liberado pelas fosfolipases a PGG₂ e prostanóides, reduzidos a PGH₂ para depois ser metabolizado a tromboxano A₂, prostaciclina (PGI₂), PGD₂, PGF_{2α} e PGE₂ (Less et al., 2004). As PGs têm função importante na homeostase e citoproteção da mucosa gastrointestinal. Atualmente, tem-se descrito várias isoformas das COXs. A COX₁ é constitutivamente expressada em diversos tecidos e a COX₂ tem uma marcada expressão em respostas a fatores de crescimento e citocinas em processos inflamatórios, lesão e dor (Loren et al., 2008). Recentemente tem se identificado a COX₃ envolvida no controle da dor e febre ao nível cerebral (Blikslager e Jones, 2005).

A expressão e relação das COXs no trato gastrointestinal apresentam uma extensa

variabilidade nos segmentos anatômicos e entre as espécies, o que poderia explicar a susceptibilidade à toxicidade aos fármacos inibidores nas espécies animais (Radi e Khan, 2006), sendo o gato, o cão e o cavalo os mais sensíveis aos efeitos colaterais dos AINEs que os humanos. A presença da COX₁ no trato gastrointestinal de roedores, caninos e primatas predomina nos segmentos do fundo gástrico, antro pilórico, duodeno, jejum, íleo, ceco e cólon, enquanto a COX₂ nestas espécies aparece com uma baixa expressão só no intestino grosso (Radi, 2009).

No caso particular dos equinos foi relatado o aumento da expressão das duas COXs na área glandular e não glandular da mucosa (Morrissey et al., 2008), em condições isquêmicas e não isquêmicas de segmentos do jejum (Tomlinson et al., 2004; Cook et al., 2009) e na mucosa do cólon (Matyjaszek et al., 2009). Além disso, foi descrito a expressão e a localização das COXs na superfície do cólon dorsal esquerdo submetido a isquemia e reperfusão, onde a COX₁ foi detectada nas células epiteliais das vilosidades e a COX₂ tanto nessas, como nas células epiteliais das criptas, o que segundo os autores, esta última poderia evidenciar seu envolvimento no processo de reparação do cólon (Morton et al., 2009).

Recentemente, foi relatada a importância na homeostase orgânica das COX₁ e COX₂. Além disso, Tanaka et al. (2002) reportaram o possível sinergismo entre ambas as COXs, uma vez que a COX₂ pode suplementar a deficiência de PG induzida pela inibição da COX₁. A inibição da COX₁ produz hiperatividade gástrica e pela contração altera o fluxo sanguíneo terminando em hipoxia e alteração da defesa da mucosa, mas este fato pode ser controlado pela produção reflexa da COX₂, fato que demonstra a importância das duas COXs nos mecanismos de defesa e reparação da mucosa gástrica.

3.2.6.2 Mecanismos de lesões derivadas dos AINEs no trato gastrointestinal

As complicações decorrentes do uso dos AINEs podem ser classificadas nas que afetam o trato gastrointestinal proximal e distal. Ao que parece, existem diferenças nestes segmentos gastrointestinais por fatores adicionais que intensificam as alterações. Mas em veterinária não existem estudos de incidência nestes compartimentos anatômicos (Radi, 2009). No entanto, prevalências de úlceras gástricas na área glandular da mucosa e da colite dorsal direita pelo uso de AINEs em equinos são descritas (MacAllister et al., 1993; McConnico et al., 2008). Outras complicações como erosões e úlcera no duodeno, edema no intestino delgado e atrofia da mucosa também são atribuídas aos AINEs não seletivos.

A toxicidade dos AINEs na área gástrica se apresenta por mecanismos locais diretos e pela diminuição das PGs citoprotetoras da mucosa, pela inibição sistêmica das COXs (Lanas et al., 2003). As lesões locais se derivam pela inibição da fosforilação oxidativa mitocondrial nas células produtoras de muco, que termina alterando as características hidrofóbicas, pela inibição das kinases e efeitos citotóxicos diretos como necroses e apoptoses como foram demonstrado *in vitro* e *in vivo* em modelos murinos (Tomisato et al., 2004). A maioria dos AINEs tradicionais são ácidos fracos, que em condições ácidas do estômago, são transformados em não ionizados, o que facilita a entrada na célula onde se ioniza pelo pH neutro, provocando retenção e liberação de íons de hidrogênio com potencial para causar alteração da função celular.

Com relação ao mecanismo de diminuição das PGs da mucosa, inicialmente foi relacionado com COX₁, mas estudos recentes relataram o envolvimento das duas COXs na síntese de PGs para a manutenção

da integridade da mucosa gástrica. De fato, a administração combinada de inibidores para ambas COXs induz maiores alterações à mucosa, pela diminuição da concentração de PGE₂ (Whittle, 1981; Tanaka et al., 2001). O uso de AINEs inibidores seletivos da COX₁ tem mostrado reduzir o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica, enquanto isso, trabalhos realizados em murínos utilizando inibidores da COX₂ têm indicado aumento na aderência de neutrófilos no endotélio (Wallace et al., 2000).

A maioria dos AINEs bloqueia a via enzimática da COX no metabolismo do ácido araquidônico, mas a via da lipooxigenase (LPO) pode aumentar os níveis de leucotrienos B₄ e E₄ com envolvimento em lesões gástricas, como demonstrado em trabalhos utilizando fármacos inibidores de COX₁, COX₂ e leucotrienos onde não foram induzidas lesões (Bias et al., 2004). Em humanos, os AINEs são relacionados com hemorragias intensas em casos de úlceras, devido à inibição dos efeitos vasoconstritores e de agregação plaquetária dos tromboxanos A₂. No entanto, este fato não foi descrito em animais (Tomlinson e Blikslager, 2003).

As complicações entéricas também são geradas principalmente pelas consequências sistêmicas devidas à inibição das PGs mediadas pelas COXs. A circulação entero-hepática de metabolitos ativos dos AINEs, associado ao efeito detergente da bile sobre o muco e células luminiais, pode aumentar a permeabilidade intestinal a toxinas, bactérias e produtos de degradação, ácidos biliares e secreção pancreática (Yamanda et al., 1993), induzindo reação inflamatória que pode terminar em edema, eritema, desnudação de vilosidade, hemorragia da mucosa, erosões e úlceras (Bjarnason et al., 1993; Sigthorsson et al., 2002; Costamagna et al., 2002).

Os AINEs promovem alteração da permeabilidade intestinal ao modificar o metabolismo mitocondrial, o que facilita a

entrada de bactérias e lipopolisacarídeos que desencadeiam reação inflamatória. A ação das bactérias na toxicidade pelos AINEs tem sido sustentado em vários estudos ao evidenciar agravamento das lesões intestinais induzidas por AINEs na presença de microorganismos e desequilíbrio no crescimento de bactérias gram-negativas no íleo de animais tratados com antiinflamatórios (Hagiwara et al., 2004). Recentemente, Lanás e Sopena, (2009) reportaram uma diminuição das enteropatias em humanos devido ao uso de AINEs com a administração concomitante de antibióticos tais como tetraciclina, kanamicina, metronidazol, bacitracina ou neomicina.

Após exposição do epitélio intestinal às bactérias entéricas, elas são reconhecidas pelos receptores de trans-membrana Toll-like 4 (TLR₄), que induzem liberação de citocinas como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e leucotrienos B₄, que aumentam em produção imediatamente após a administração de AINEs. O TNF- α estimula o recrutamento dos neutrófilos na mucosa gastrointestinal através das integrinas β 2, CD11 e CD18, fato evidenciado pelo aumento da calprotectina fecal em humanos medicados com antiinflamatórios (Bjarnason et al., 1987). Após da infiltração dos neutrófilos na mucosa, esses são ativados a produzir radicais livres de oxigênio e proteases que lesam o epitélio gastrointestinal.

Por outro lado, os AINEs, especialmente a fenilbutazona (FBZ), podem provocar mudanças no metabolismo dos ácidos graxos do colonócito, alteração no fluxo arterial, hipoalbuminemia e neutropenia pela alteração da permeabilidade epitelial e processo inflamatório na superfície do cólon (McConnico et al., 2008).

Na tentativa de diminuir os efeitos colaterais de AINEs no trato gastrointestinal foram desenvolvidas moléculas específicas para inibir seletivamente a COX₂, conhecidos

como COXIBs (celecoxib, deracoxib, etoricoxib, lumiracoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib), sendo os benefícios terapêuticos descritos em numerosos trabalhos experimentais em animais e estudos clínicos em humanos (Laine et al., 1999). Já foi sugerido riscos de doença cardiovascular trombótica em seres humanos sob efeitos de alguns COXIBs, pela redução da PGI₂ sintetizada pela COX₂ (Mukherjee, 2002), além de outros eventos positivos da COX₂ sobre a reparação e cicatrização gastrointestinal, expressão constitutiva no rim, produção de PGI₂ endotelial e regulação da inflamação no cólon, o que desafia os benefícios dos COXIBs.

Frente aos resultados clínicos controversos e respostas inesperadas pelo o uso dos AINEs convencionais e seletivos, têm-se incentivado a busca de novas estratégias terapêuticas. Inibidores combinados de COX e Lipooxigenase – 5, AINEs doadores de óxido nítrico e lipoxinas e AINEs doadores de sulfeto de hidrogênio (H₂S), fazem parte das novas abordagens em avaliação clínica das pesquisas farmacológicas (Coruzzi et al., 2007).

3.3 Estresse Oxidativo

O desequilíbrio entre os mecanismos antioxidantes e oxidantes das células, onde a atividade oxidativa supera os neutralizantes, se considera estresse oxidativo, responsável pelas alterações celulares e por vários processos patológicos (Soffler, 2007). As espécies de oxigênio e nitrogênio reativos, caracterizados por terem um elétron impar na órbita externa são considerados radicais livres. São as moléculas de maior relevância biológica dentro do estresse oxidativo (Cuzzocrea et al., 2001; Marjani et al., 2007).

O superóxido (O₂⁻), o hidroxil (·OH) e o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) pertencem às espécies reativas do oxigênio. Entretanto, o óxido nítrico, anidro nitroso, anion nitroxil e peroxinitritos, fazem parte das espécies reativas do nitrogênio. Contudo, os radicais livres participam tanto em processos fisiológicos como nas vias de transdução pró-inflamatórias, proliferação, apoptoses e mecanismos de defesa inflamatória, mas em excesso ocasionam alterações moleculares e celulares através da peroxidação lipídica das membranas.

Para a homeostase entre a produção e eliminação dos radicais livres, o organismo tem mecanismos antioxidantes enzimáticos como a superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, e não enzimáticos como α-tocoferol, β-caroteno, ácido ascórbico, glutathione, entre outros (Crimi et al., 2006). Contudo, em medicina equina, o estresse oxidativo tem sido implicado em várias situações como nas lesões de isquemia e reperfusão do trato gastrointestinal, obstrução recorrente de vias aéreas, exercício, osteoartrite, doença neuronal motora, disfunção da pituitária e endometrite (Soffler, 2007). Assim como também, tem se demonstrado envolvimento dos radicais livres nas lesões independentes da inibição de PGs induzidas pelos AINES na mucosa gástrica de ratos (Naito et al., 1998).

Evidências derivadas de modelos em animais de laboratório, sustentam as hipóteses sobre o papel da diminuição de prostanóides e do estresse oxidativo nas alterações gástricas provocadas pelos AINES em seres humanos. Mas na espécie equina, só os efeitos dependentes da inibição das PGs são descritos, o que incentiva o desenvolvimento de trabalhos visando estudar o balanço antioxidante-oxidante na mucosa gástrica destes animais.

3.3.1 Parâmetros antioxidantes e oxidantes

3.3.1.1 Glutathiona total

A glutathiona total (GSH) é um tripéptido constituído de um número elevado de grupos sulfidrila de intercâmbio para a modulação de outras enzimas. GSH inclui as formas reduzida (rGSH) e oxidada (GSSG), sendo a rGSH mais abundante intracelularmente, com conversão por parte da glutathiona peroxidase e glutathiona redutase. A glutathiona cumpre funções de proteção celular por mecanismos de detoxificação de agentes oxidantes endógenos e exógenos provenientes de radicais livres gerados em reações bioquímicas do processo de estresse oxidativo.

3.3.1.2 Superóxido dismutase

A superóxido dismutase (SOD) é uma enzima dependente de cobre e zinco para o funcionamento eficiente. Encarregada de evitar a acumulação do radical anion superóxido (O_2^-), pela dismutação e conversão de O_2^- a peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio, já que este radical pode atuar diretamente ou combinar-se com H_2O_2 para formar radical hidroxil ($^{\cdot}OH$) ou reagir com ON para formar peroxinitritos (Pryor et al., 2006). Pelo que se considera como parte do sistema antioxidante endógeno do organismo.

A SOD diminui alterações gástricas derivadas de fatores promotores de estresse oxidativo. No caso dos AINEs tem sido reportado que diminui a atividade desta enzima em tecido gástrico de ratos (Basiveredy et al., 2003). Recentemente, Odabasoglu et al. (2008) descreveram aumento de H_2O_2 e OH na mucosa por parte do uso de AINEs, o que poderia gerar peroxidação lipídica e dano na mucosa, especificamente em tecido de ratos tratados com indometacina.

3.3.1.3 Catalase

A catalase (CAT) é uma enzima antioxidante celular, com função de catalisar a degradação de H_2O_2 , gerando como produtos finais oxigênio molecular e água. Contribui desta maneira com a neutralização e desintoxicação desta molécula gerada pela β -oxidação de ácidos graxos dentro os processos metabólicos e imunológicos, para o que exige uma atividade aumentada da CAT (Kirkman e Gaetani et al., 2007).

Apesar de não ser considerado radical livre, o H_2O_2 reage com íons metálicos de ferro e cobre, através da reação de Fenton, dando como produto final o radical $^{\cdot}OH$. Além disso, o H_2O_2 é gerado também pela dismutação espontânea do radical $^{\cdot}O_2$ (Weiss e Lobuglio, 1982), condição que ativa a CAT para controlar os excessos e diminuir os efeitos deletérios nas células. A indometacina tem demonstrado aumento nesta enzima em tecido gástrico de ratos, como resposta à redução de outros mecanismos bloqueados por este medicamento (Odabasoglu et al., 2008).

3.3.1.4 Óxido nítrico

O óxido nítrico (ON) é gerado pela reação da enzima óxido nítrico sintase (ONs) sobre o substrato L-arginina. A ONs tem três isoformas, sendo a endotelial e neuronal expressadas constitutivamente e a induzida estimulada por processos imunológicos e inflamatórios (Pryor et al., 2006). O ON tem dupla funcionalidade, já que fica envolvido tanto em processos fisiológicos como patológicos. Participa na reatividade vascular, gerando vasodilatação, inibe a agregação plaquetária e a adesão leucocitária, além de ser neurotransmissor e microbicida no processo fagocitário. Em excesso participa na produção de radicais livres ao reagir com os derivados do oxigênio (Wind et al., 2001).

No estômago, o ON esta envolvido na integridade da barreira da mucosa gástrica com as PGs, pelo que se considera gastroprotetor e antioxidante ao regular a produção do ácido clorídrico, estimular a produção de muco gástrico, controlar o fluxo sanguíneo e prevenir a peroxidação lipídica pela captação de radicais livres (Wind et al., 2001; Abdallah, 2010), além de acelerar o processo de cicatrização da mucosa (Yang et al., 2000). Contudo, tem se descrito desequilíbrios na concentração deste metabólito no tecido gástrico de ratos tratados com indometacina em modelo de úlcera gástrica (Slomiany et al., 1999).

3.3.1.5 Mieloperoxidase

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima contida nos grânulos azurófilos de neutrófilos, sendo responsável por funções microbicidas e danos no tecido inflamado, junto a radicais livres ao gerar ácido hipocloroso a partir do peróxido de hidrogênio e do íon cloreto, como parte da atividade respiratória dos neutrófilos ativados (Matheson et al., 1981), por isso se considera como agente oxidativo.

A dosagem da atividade da MPO tem sido utilizada como marcador de infiltração de neutrófilos em vários tecidos, além de permitir quantificar processos inflamatórios agudos (Cross et al., 2003). Como já foi reportado, os neutrófilos cumprem uma função central dentro a fisiopatologia das lesões induzidas pelos AINEs no trato gastrointestinal (Wallace e Granger, 1992; Reuter et al., 1997). A MPO se diferencia quanto a estrutura, bioquímica, imunológica, genética e espectrofotometricamente das outras peroxidases dos polimorfonucleares (Scheider e Issekutz, 1996).

3.3.1.6 N-acetil-β-D-glicosaminidase

A N-acetil-β-D-glicosaminidase (NAG) é uma enzima lisossômica produzida por macrófagos ativados, sendo utilizada para

quantificar o índice ou a cinética de infiltração em processos inflamatórios (Bailey, 1988). A atividade da NAG baseia-se na hidrólise do p-nitrofenil-N-acetil-β-D-glicosamina pela N-acetil-β-D-glicosaminidase liberando p-nitrofenol.

3.3.1.7 Malondialdeído

O malondialdeído (MDA) faz parte do produto final da ação dos radicais livres sobre a peroxidação lipídica das membranas celulares, por isso se considera como o principal biomarcador de estresse oxidativo. Embora, tem se considerado o isoprostano como marcador melhor. A determinação de MDA em plasma, urina e em outros tecidos continua sendo mais amplamente usada (Dalle-Donne et al., 2006). O MDA se produz por vias não enzimáticas e enzimáticas, sendo a não enzimática a principal via de produção, mas a menos entendida (Onyango e Baba, 2010).

A via enzimática envolve a ação da tromboxano sintase sobre a prostaglandina endoperóxida PGH₂, gerando tromboxanos e MDA. A geração de MDA pela via não enzimática baseia-se pela sucessiva produção de hidroperóxidos pela clivagem da cadeia dos ácidos graxos por radicais livres que gera hidroperoxi-aldeído (Del Rio et al., 2005). O MDA causa potentes efeitos biológicos sobre as proteínas (DNA), lipoproteínas e no colágeno, por isso é considerado mais que uma simples molécula derivada da peroxidação lipídica (Del Rio et al., 2005).

Todos os fatores acima mencionados são comuns em animais de esporte em treinamento e competição, uma vez que estas práticas predisõem a quadros inflamatórios que demandam controle. Além dessas condições, o jejum devido à presença de dor, estresse e restrição alimentar durante o transporte, competições, pré e pós-operatórios aumentam a susceptibilidade dessa categoria de equinos. Porém,

animais utilizados para lazer e de cavalgadas apresentam também prevalências significativas.

3.4 Prevalência da SUGE

A prevalência da SUGE é variável e aumentada em algumas populações de equinos, obedecendo a natureza multifatorial. A presença de úlceras gástricas nos equinos tem sido descrita e caracterizada extensamente em raças equinas que desenvolvem atividades competitivas de alto rendimento. Prevalência em cavalos de esporte oscila entre 20 e 90% dependendo da intensidade da exigência física (Bezdekova et al., 2005), porém estudos da dinâmica destas lesões mostraram uma prevalência pré-competição de 17,4% frente aos 56,5% pós-competição (Hartmann e Frankeny, 2003) e de 48% a 93% em cavalos de enduro de alto nível (Tamzali et al., 2011), o que representa o esforço físico ou nível de exercício como um fator de incidência e de progressão da SUGE nesta população de equinos (Murray e Eichorn, 1996; Chamero et al., 2006).

Equinos de corrida ativos tem mostrado prevalências entre 51 e 90% (Murray et al., 1996; Rabuffo et al., 2002; Jonsson e Egenvall, 2006), em cavalos de esporte em treinamento até o 80% (Hammond et al., 1986), sendo superiores se comparados com animais de corrida inativos ou aposentados que apresentam 52% (Vatistas et al., 1999), embora, alguns autores descreveram prevalências em atletas menores de 19% (Sandin et al., 2000) o que sugere variabilidade nas condições dos animais ou diferenças nos critérios de avaliação e classificação das lesões gástricas nos trabalhos realizados.

Em cavalos de lazer e de show, foram descritas prevalências entre o 31 e 58% (Murray e Grodinsky, 1989; Bezdekova et al., 2005; Luthersson et al., 2009a). Murray et al. (1996) reportaram, em potros,

prevalências de 81%, 32%, 22% e 16% nas áreas da mucosa não glandular, glandular, duodeno e esôfago respectivamente. Rabuffo et al. (2009) determinaram uma prevalência de 68% em equinos hospitalizados por condições emergenciais de crises de abdômen agudo, recomendando a avaliação gastroscópica neste tipo de pacientes. Outro estudo reportou prevalência de 49% em animais com dor abdominal, sendo maior nos que precisaram de tratamento médico que nos cirúrgicos, inclusive relacionaram aumento de prevalências da SUGE em casos de enterite anterior (Dukti et al., 2006).

Estudos realizados no Brasil, em diferentes raças têm demonstrado prevalências de 47,6% em cavalos adultos assintomáticos em estabulação e a pasto (Fernandes et al., 2003). Entretanto, Belli et al. (2005) relataram prevalências de 75% em equinos atendidos no hospital com suspeita de SUGE. Um estudo preliminar em cavalos que realizavam atividades físicas diversas reportou prevalências entre 46,5 e 77,91%, mostrando uma significativa associação entre a presença de lesão gástrica e o tipo de atividade (Berger et al., 2009). Em potros da raça Quarto de Milha com idades entre 1 e 120 dias, foi descrita uma incidência de 43,3% de lesões gástricas (Dearo et al., 1998). Goloubeff (2006) determinou prevalências de 45 e 100% de alterações na mucosa gástrica de potros da raça Brasileiro de Hipismo antes e após do desmame respectivamente.

3.5 Sinais clínicos e diagnósticos da SUGE

Os sinais clínicos associados à úlcera gástrica incluem cólica, bruxismo, sialorréia, diminuição do apetite, emagrecimento, mudanças de comportamento e de desempenho atlético ou reprodutivo. Episódios de cólica discreta e intermitente durante e depois da alimentação podem estar relacionados com a SUGE (Videla e Andrews, 2009). Recentemente, a aerofagia

foi relacionada com a produção aumentada de saliva em equinos portadores de irritação gastrointestinal (Moeller et al., 2008). A correlação entre os sinais clínicos e a intensidade da úlcera é variável (Murray e Grodinsky, 1989), porém em muitos casos a ausência de sinais clínicos pode predominar.

Sandin et al. (2000) reportaram associação entre a SUGE e desconforto abdominal. Contudo, um estudo posterior não determinou correlação significativa no grau das úlceras gástricas em equinos hospitalizados por crises de cólica frente aos animais internados por outra causa diferente ao trato gastrointestinal (Rabuffo et al., 2009). Geralmente, as úlceras na área não glandular da mucosa devem ter uma maior intensidade para causar dor abdominal, entretanto as úlceras na área glandular podem ser moderadas a intensas e em especial próximas ao piloro, levando a cólica (Videla e Andrews et al., 2009).

O histórico, o exame clínico e a identificação de fatores de riscos, associados a exames complementares como a pesquisa de sangue oculto nas fezes, auxilia no diagnóstico da SUGE. Exames hematológicos e bioquímicos são de pouca relevância para o diagnóstico, mas uma baixa de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito foi evidenciada em quadros de úlceras gástricas (McClure et al., 1999; Rabuffo et al., 2009). O teste de sensibilidade da sacarose na urina foi recomendado para detecção de úlceras com 83% e 90% de sensibilidade e especificidade respectivamente (O'Connor et al., 2004). Pelas dificuldades técnicas na coleta de urina que limitam a praticidade do teste, foi recomendada mais recentemente a determinação da sacarose no soro, com alto valor preditivo para SUGE (Hewetson et al., 2006).

O teste de sangue oculto em fezes tem sido utilizado no diagnóstico de úlceras gastrointestinais, mas com baixa

sensibilidade e especificidade para SUGE, especificamente na predição dos casos negativos. Frente a esse fato, Pellegrine (2009) desenvolveu um teste rápido com anticorpos monoclonais contra albumina e hemoglobina em fezes, achando correlação positiva entre a detenção de albumina com úlceras do cólon e da hemoglobina com lesões do trato gastrointestinal, melhorando desta maneira os valores preditivos negativos, mas os positivos mostraram diminuição.

O diagnóstico definitivo das erosões, irritações e úlceras gástricas é confirmado por gastroscopia. A visualização da lesão permite o diagnóstico, a classificação e a determinação do grau de lesão, além do monitoramento para acompanhamento da resposta ao tratamento (Andrews et al., 1999a). Em condições de ausência desse recurso, o resultado do tratamento é também importante para o diagnóstico da SUGE (Videla e Andrews, 2009).

Para a realização do exame gastroscópico em equinos adulto, é necessário videoendoscópio de três metros de comprimento para inspecionar a superfície gástrica e atingir a área duodenal. A disponibilidade destes equipamentos tem facilitado o diagnóstico e realização de trabalhos de prevalências das úlceras gástricas. Entretanto a gastroscopia tem algumas limitações como pouca visualização devido a presença de ingesta remanescente e menor acessibilidade em algumas áreas do estômago (Murray et al., 1989), o que pode implicar em subestimação da presença de úlceras nas duas áreas da mucosa se comparado com os achados na necropsia (Andrews et al., 2002).

Existem vários sistemas de classificação para os achados gastroscópicos. Os escores auxiliam na determinação da extensão, intensidade e características das lesões nas diferentes áreas da mucosa gástrica. Algumas classificações por escore detalham

melhor as lesões, outras são mais gerais. Os escores mais específicos para classificar as úlceras de acordo a número e intensidade foram descritos por MaCallister et al. (1997) (tabela 1).

A eficiência da avaliação histológica de biópsias obtidas transendoscopicamente foi estudada recentemente por Rodrigues et al. (2009), determinando locais de difícil acesso e o material da área não glandular da mucosa foi de pouca qualidade para o estudo

histopatológico, sugerindo um número maior que seis amostras de tecido para ser representativa de toda a superfície gástrica. As lesões histológicas do estômago equino mais comumente descritas na área não glandular da mucosa são hiperqueratoses, cicatrizes, erosões difusas e lesões no *margo plicatus*, hiperemia na área glandular da mucosa, erosão focal e úlceras (Martineau et al., 2009a).

Tabela 1. Classificação das úlceras gástricas, de acordo com o número e intensidade das lesões, segundo MacAllister et al. (1997).

NÚMERO	DESCRIÇÃO
0	Sem lesões
1	1 - 2 lesões localizadas
2	3 - 5 lesões localizadas
3	6 - 10 lesões localizadas
4	> 10 lesões ou difusas
INTENSIDADE	DESCRIÇÃO
0	Sem lesões
1	Aparentemente superficial (só mucosa)
2	Envolvendo estruturas profundas
3	Múltiplas lesões de intensidade variável (1,2 e/ou 4)
4	Igual ao 2 mas com aparência ativa (hiperemia, lesão escura)
5	Igual ao 4 com hemorragia ou coágulo aderido

Atualmente, o escore de classificação para os achados histológicos de tecido gástrico de equinos é adaptado do sistema Sidney utilizado em humanos. Histologicamente, erosão se relaciona com perda superficial da mucosa e úlcera com a perda profunda da mucosa com exposição da muscular da mucosa, sendo importante nesta avaliação a caracterização dos processos inflamatórios subsequentes as lesões (Martineau et al., 2009b).

Um estudo recente, comparando a avaliação gastroscópica, histológica e a caracterização de citocinas da mucosa gástrica determinou maior correlação entre a presença SUGE e o aumento de TNF- α e IL-13 como marcadores pro-inflamatórios, sugerindo como ajuda para avaliação, o PCR

qualitativo e quantitativo como os mais acurados para o diagnóstico desta síndrome em equinos (Pietra et al., 2010).

3.6 Tratamento da SUGE

O manejo terapêutico de SUGE visa determinar as possíveis causas, controlar o ambiente, fazer ajustes na dieta e intervir farmacologicamente, já que a etiologia das lesões ulcerativas é multifatorial. Neste sentido, o interesse inicial do tratamento é bloquear a acidez gástrica, promover cicatrização, controlar a dor e prevenir recorrências (Tabela 2). Para tal, utilizam-se agentes neutralizantes (antiácidos), anti-secretórios (antagonistas H₂, análogos de prostaglandinas, inibidores da bomba de prótons), protetores de mucosa (sucralfato),

aceleradores do esvaziamento gástrico tais como o betanecol, o citrato de mosaprida e a domperidona (Blikslager, 2004; Murray, 2009; Okamura et al., 2009). Por ser a causticação ácida a principal causa de úlceras, o bloqueio da secreção ácida e elevação do pH colaboram com a cicatrização e podem controlar a dor associada a úlcera (Videla e Andrews, 2009).

Os antibióticos (penicilina, estreptomicina e sulfa trimetropim) e probióticos contendo *Lactobacillus sp* e *Streptococcus sp*, tem sido promissores no tratamento da SUGE crônica e não responsiva, já que bactérias ácido-resistentes dificultam a cicatrização das úlceras (Al Jassim e Andrews, 2009). Isto é devido à importante participação das bactérias residentes do estômago na manutenção e progressão das úlceras gástricas, especificamente na área não glandular da mucosa.

Tabela 2. Protocolo terapêutico utilizado para o tratamento da SUGE. Adaptado de Reese e Andrews, (2009).

FÁRMACO	DOSES (mg/kg)	FREQUÊNCIA	ADMINISTRAÇÃO
Omeprazole	0.5 – 1.0	24 h / id.	IV
Omeprazole	4	24 h / id	PO
Ranitidina	1.5	6 h /qid	IV
Ranitidina	6.6	8 h / tid	PO
Famotidina	0.3	12 h / bid	IV
Famotidina	2.8	12 h / bid	PO
Misoprostol	0,005	8 h / tid	PO
Sucralfato	20 - 40	8 h / tid	PO
AlOH/MgOH	30g AlOH /15g MgOH	Cada 2 h	PO

Em humanos estão sendo utilizados recursos fitoterápicos com resultados promissores para o tratamento de úlceras pépticas. A planta *Maytenus ilicifolia* reduz a secreção basal de ácido clorídrico e induz efeitos citoprotetor e cicatrizante ao formar uma camada sobre a mucosa ulcerada (Carlini et al., 1988; Oliveira et al., 1991; Santos et al., 2007). Em medicina equina o uso de *Hippophae rhamnoides* indicou eficiência na prevenção de úlceras na área não glandular durante episódios de estresse (Lans et al., 2006; Reese e Andrews, 2009).

Alguns nutracêuticos e aditivos na dieta segundo observações não científicas mostraram benefícios (Andrews, 2005). O carbonato de cálcio pode oferecer vantagens na integridade da mucosa ao recuperar o transporte de sódio e aumentar o pH do estômago (Videla e Andrews, 2009). O feno de alfafa aumenta o pH além de ter concentrações elevadas de cálcio que

poderia contribuir positivamente na terapia da SUGE (Nadeau et al., 2000; Craig, 2007; Reese e Andrews, 2009). Efeitos antiulcerogênicos do óleo de milho e arroz também são descritos na literatura (Frank et al., 2005).

Os ácidos graxos Omega-3 e 6 tem importância nas doenças inflamatórias do trato gastrointestinal pelas propriedades antiinflamatórias e proinflamatórias respectivamente, além de contribuir na manutenção da circulação na mucosa e da ação citoprotetora (Tillotson e Traub-Dargatz, 2003). No mercado existem suplementos com teor elevado de óleo rico em omega-3 e 6 que podem ser usados com propósito preventivo e adjuvante no tratamento da SUGE.

A duração do tratamento da SUGE depende da extensão e intensidade das lesões iniciais, embora as mucosas gástricas tenham elevada

taxa de cicatrização se o ambiente gástrico está favorável. O tempo de tratamento médico da SUGE será menor se combinado com mudanças nos fatores predisponentes, além das opções terapêuticas mais recomendáveis para o tipo de paciente e quadro clínico estabelecido. Entretanto, terapias farmacológicas por 28 dias foram efetivas para atingir completa cicatrização e prevenção de recorrências de úlceras (Andrews et al., 1999b), mas o acompanhamento gastroscópico é ideal para avaliar a resposta em equinos com pouca evidência clínica.

3.7 Sucralfato

O sucralfato é um protetor de mucosa constituído por sal de hidróxido de alumínio e octasulfato de sacarose, utilizado no tratamento de ulcerações gástricas em equinos. O sucralfato em $\text{pH} < 4$ se transforma em um gel viscoso que adere à camada epitelial prevenindo a degradação, mas também se fixa às partículas de carga negativa do leito da úlcera, ação acompanhada do efeito tampão sobre o ácido clorídrico ao estimular a produção endógena de bicarbonato (Borne e MacAllister, 1993). O incremento da produção endógena de PGE_2 na mucosa e a ativação de genes para expressão de fatores de crescimento epidermal são outros mecanismos de ação diferentes aos efeitos de alcalinização, antiácido ou antissecretório do sucralfato (Hollander et al., 1984; Tarnawski et al., 1995).

O sucralfato junto à ranitidina tem mostrado efeito parcial na proteção da mucosa

gastrointestinal de potros intoxicados com a FBZ (Geor et al., 1989). O que sugere que o sucralfato tem efeitos benéficos quando associado a terapias inibidoras de ácido clorídrico. Porém, Delboni et al. (2009) concluíram que o sucralfato em doses profiláticas, diminuiu os efeitos gastrolesivos da FBZ, ainda que sem diferença ($p > 0.05$) aos similares efeitos do omeprazole no mesmo estudo.

3.8 Óleo de milho

O uso de óleos vegetais é uma prática comum na alimentação dos equinos, pelos benefícios da elevada suplementação energética atingida com um consumo menor de matéria seca (Junior et al., 2004). Além disso, aumentados volumes de óleo não afeta a digestibilidade dos outros componentes da dieta, indicando ampla tolerância da espécie. Vários óleos são empregados nos equinos, mas o óleo de milho tem sido mais utilizado com fins terapêuticos pela equilibrada relação em sua composição dos ácidos linoléico e linolênico, além da alta palatabilidade para o cavalo.

O óleo de milho contém aumentada quantidade do ácido graxo poliinsaturado Omega 6 (ácido linoléico) com a capacidade de incorporar-se nos fosfolipídios da membrana celular e de ser precursor do ácido araquidônico para a fonte endógena de PGE_2 , fato demonstrado em mucosa gástrica saudável de pôneis (Cargile et al., 2004). Para a prevenção da SUGE já foram utilizados volumes totais entre 45 a 240 ml/día de óleo de milho (Cargile et al., 2004; Frank et al., 2005).

CAPITULO I

EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS

1. MATERIAL E MÉTODOS

1.1 Local

O experimento foi realizado nas instalações da fazenda Modelo de Pedro Leopoldo pertencente à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG). As análises das amostras foram realizadas nos laboratórios da Patologia Clínica, Farmacologia e Nutrição da EV-UFMG, laboratório de Enzimologia e Físico-química de Proteínas, Angiogêneses e Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Departamento de Anatomia Patológica da Escola de Medicina da UFMG e no laboratório Science Pro em São Paulo (SP) Brasil. Este experimento teve a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA) da UFMG, com o protocolo No. 234/09 de 10 de março de 2010.

1.2 Equinos e Manejo

Foram utilizados 15 equinos (11 fêmeas não gestantes e 4 machos castrados) sem raça definida, criados a pasto, com idade entre 5 e 20 anos, escore corporal de três a quatro¹ (Speirs, 1997) e peso corporal entre 270 e 465kg. Durante duas semanas de adaptação, os animais foram avaliados clínica e laboratorialmente, incluindo teste de anemia infecciosa¹ e controle de endoparasitas (ivermetina² - 200µg/kg de peso corporal) e ectoparasitas (cipermetrina³ - 10%). Durante

este período de adaptação os animais passaram a espaços pequenos até chegar ao confinamento em baias, a mudança no regime alimentar também foi progressivo durante neste período.

Os animais foram alojados em cocheiras individuais e alimentados com feno de *Coast cross (Cynodon dactylon)* e água *ad libitum*, ração comercial⁴ com 13% de proteína bruta, fornecida duas vezes ao dia na proporção de 1% do peso corpóreo e suplemento mineralizado⁵ na quantidade de 60/g/animal/dia. Durante o período experimental, os animais eram soltos em piquetes por uma hora em dias alternados.

1.3 Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em duas fases (Figura 1), a primeira consistiu de indução das úlceras gástricas pela combinação de confinamento e uso de fenilbutazona⁶ (FBZ) durante seis (6) dias, em dois protocolos terapêuticos para avaliar, ao mesmo tempo, as possíveis respostas citoprotetoras da mucosa a estes dois fatores ulcerogênicos.

A segunda fase do experimento consistiu de tratamentos a base de óleo de milho⁷ (tabela 1) e do fármaco sucralfato⁸, durante 14 dias. Os tratamentos foram instaurados imediatamente após a indução das úlceras gástricas, na primeira fase. Durante as duas fases experimentais, todos os animais foram manejados sob as mesmas estratégias descritas inicialmente.

¹Laboratório TECSA

²Eqvalan – Merial laboratórios S.A.

³Butox – Intervet S.A.

⁴Proequi 13 – Guabi

⁵Guabiphos – Centauro 80 – Guabi

⁶Fenilbutazona Acida USP – Wu Xi Dong Sheng Medical / comercializada por Marcolab

⁷Óleo especiais Liza – Cargill Agrícola S.A.

⁸Sucralfate USP – Laboratório de Controle de Qualidade DEG

1.3.1 Modelo de indução das úlceras gástricas

Os equinos foram distribuídos em três grupos de cinco (5) animais cada e confinados individualmente. Os pesos corporais médios foram de $364,6 \pm 22,26$; $350,8 \pm 77,39$ e $369,6 \pm 45,20$ kg nos Grupos GI, GII e GIII respectivamente. Para avaliar a resposta da mucosa gástrica à FBZ, o GIII recebeu FBZ em doses de 4,4mg/kg/sid/vo durante os primeiros cinco dias e 13,2mg/kg/vo em sobredose única no dia seis. O GII recebeu água nos primeiros cinco dias e sobredose única 13,2mg/kg/vo de FBZ no dia seis e o GI só recebeu água como tratamento durante todo o período, funcionando como controle. Durante esta fase de indução, foram realizados dois exames gastroscópicos e duas coletas de material no dia zero (0) e dia sete (7).

Ainda durante esta fase, foram realizados diariamente exames físicos e observação do comportamento dos animais. Dentro dos exames físicos, avaliou-se a frequência cardíaca (FC) em batimentos por minuto (bpm), frequência respiratória (FR) em movimentos por minutos (mpm), temperatura retal (°C), tempo de perfusão capilar (TPC) em segundos, coloração da mucosa oral e motilidade intestinal por auscultação. Além disso, foram realizadas análises hematológicas, bioquímicas e sangue oculto nas fezes a cada 48 horas através de kit comercial⁹.

O anterior protocolo de indução foi desenvolvido baseado nos resultados obtidos em trabalhos pilotos onde se utilizaram equinos aposentados da polícia militar, mas que foram submetidos a diversas situações de estresse durante o período de atividade. O protocolo consistiu da associação de períodos de jejum e administração de FBZ durante um período de seis (6) dias. Os tempos de jejum foram de 24 horas intercalados com períodos de alimentação normal. O jejum consistiu da suspensão apenas da oferta de alimento tipo forragem por período de 72 horas. Simultaneamente, os animais receberam FBZ

via oral na dose de 10,5 mg/kg/BID nos primeiros 2 dias, seguido de 5,25 mg/kg/BID os 4 dias restantes. A dosagem e intervalos de administração da FBZ foi a mesma utilizada por Montreal et al. (2004) e os períodos de jejum similares aos utilizados por Murray (1994).

Os resultados desse piloto permitiram concluir que o protocolo testado não deve ser utilizado para o estudo da SUGE nesse grupo de animais dessa categoria, pois além de não resultar em úlceras gástricas importantes na maioria dos animais, produz efeitos adversos, como tiflocolite difusa e alterações renais, com alto risco de morbidade (100%) e óbito (80%).

Dentro os possíveis fatores envolvidos na resposta obtida nesse piloto, se podem citar que eram animais aposentados com antecedente de trabalho sob condições de estresse com uso frequente de AINEs tipo FBZ, situações que participam na epidemiologia das úlceras gástricas. Porém, em murinos tem se demonstrado a capacidade de desenvolver adaptação orgânica a fatores com potencial lesivos ao estômago. Esse fenômeno vem sendo considerado como citoproteção adaptativa mediado pelas prostaglandinas em resposta a repetidas exposições a agentes estressores (Robert et al., 1983; Tanaka et al., 2007), fato que pode explicar porque os animais desse piloto desenvolveram alterações de maior intensidade nos segmentos intestinais e de menor no estômago. Por outro lado, o jejum é uma condição que predispõem à desidratação que interfere na fisiologia química, microbiológica e biomecânica do trato gastrointestinal, alterando as barreiras da parede intestinal, igualmente condições decorrentes do jejum podem potencializar os efeitos adversos da FBZ.

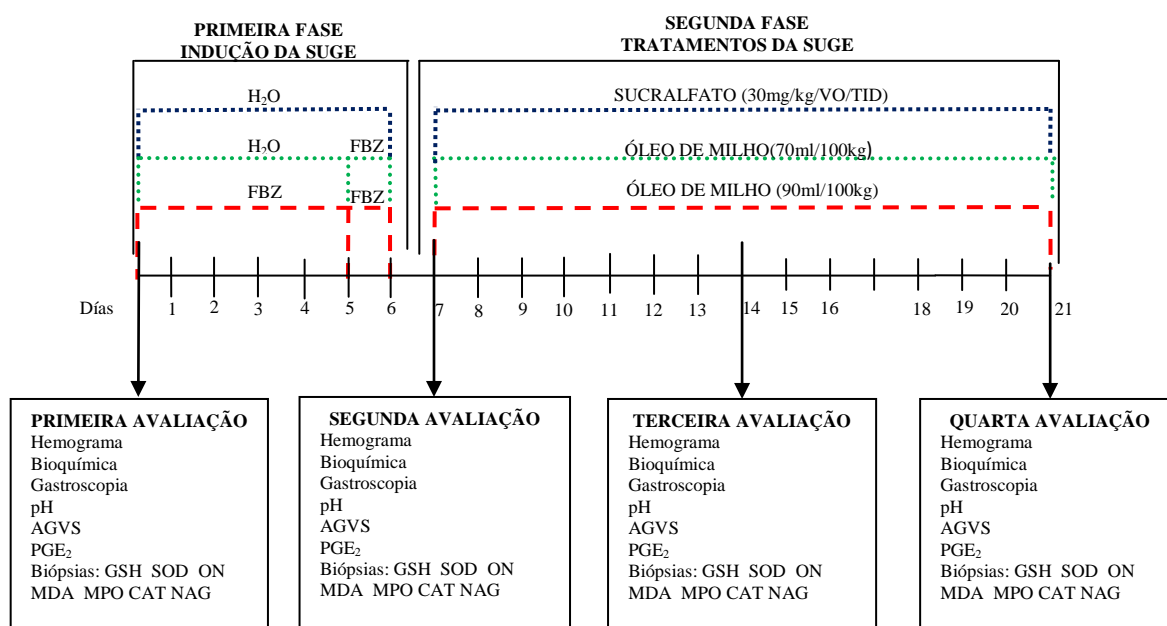
Pelos anteriores fatos, o modelo de indução do presente trabalho se desenvolveu além da intenção inicial de causar ulcerações gástricas, foi objetivado evidenciar possíveis mecanismos de gastroadaptação e gastroproteção e a influencia da categoria dos animais na susceptibilidade aos efeitos adversos da FBZ.

⁹Hemoplus – Newprov Produtos para laboratório Ltda – Brasil.

Tabela 1. Informação nutricional* do óleo de milho** utilizado nos Gs II e III durante 14 dias como tratamento das úlceras gástricas induzidas com FBZ.

COMPONENTES	QUANTIDADE / ML DE ÓLEO	QUANTIDADE MEDIA ADMINISTRADA
Valor energético	8,31 Kcal	2402,42 Kcal
Carboidratos	0 g	0 g
Proteínas	0 g	0 g
Gorduras totais	0,92 g	265,97 g
Gorduras saturadas	0,14 g	40,47 g
Gorduras monoinsaturadas	0,33 g	95,40 g
Gorduras poliinsaturadas	0,45 g	130,09 g
Acido linoléico (ômega 6)	0,44 g	127,20 g
Colesterol	0 mg	0 mg
Fibra alimentar	0 g	0 g
Sódio	0 mg	0 mg
Vitamina E	0,15 mg	43,36 mg

* Análise realizada pelo fabricante Cargill Agrícola S.A. ** Óleo Especiais Liza – 100% refinado.



GRUPOS	FASE INDUÇÃO	FASE TRATAMENTO
I	Água (6 dias)	Sucralfato (30 mg/Kg/VO/TID)
II	Água (5 dias) + 13,2 mg/Kg/SID/1 dia	Óleo de Milho (70 mL/100 Kg)
III	4,4 mg/Kg/SID/5 dias + 13,2 mg/Kg/SID/1 dia	Óleo de Milho (90 mL/100 Kg)

Figura 1. Protocolo experimental constituído por um período de indução de úlceras gástricas com FBZ e confinamento durante seis dias e períodos de tratamentos com óleo de milho e sucralfato durante 14 dias em 15 equinos. H₂O: água; FBZ: fenilbutazona; AGVS: ácidos graxos voláteis; PGE₂: prostaglandina E₂; GSH: glutatona total; SOD: superóxido dismutase; ON: óxido nítrico; MDA: malondialdeído; MPO: mieloperoxidase, CAT: catalase; NAG: n-acetilglicosaminidase.

1.3.2 Tratamentos experimentais a base de óleo de milho e sucralfato

Após da indução das úlceras nos equinos de cada grupo, foram administrados os seguintes tratamentos: O GI recebeu sucralfato na dose de 30mg/kg/vo/tid, sendo considerado como grupo controle (GC). Os GII e GIII receberam óleo de milho na doses de 70 e 90 mL/100Kg/vo respectivamente, divididas em duas vezes ao dia. Durante esta fase experimental, as avaliações gastroscópicas e coleta de material foram realizadas nos dias 14 e 21 em todos os grupos tratados.

1.4 Avaliação gastroscópica

Após jejum de sólidos e líquidos por 12-14 e 4h respectivamente e sedação (detomidina¹⁰ 10µg/kg/iv), dos equinos a mucosa gástrica foi examinada através de videoendoscopia flexível¹¹ de 12mm de diâmetro e de 300cm de comprimento, introduzido via nasal. Durante a endoscopia o estômago foi mantido insuflado com ar para melhorar a visibilidade das áreas não glandular e glandular da mucosa. Além disso, utilizaram-se jatos de água pelo canal de trabalho para lavar restos de alimentos nas superfícies gástricas. As lesões visualizadas foram gravadas em vídeo e classificadas segundo o número (0-4) e intensidade (0-5) como recomendado por MaCallister et al. (1997). Foram realizadas duas gastroscopias por animal em cada fase, totalizando quatro exames por animal em todo o experimento. As avaliações pela gastroscopia a precediam coleta de amostras para as análises.

1.5 Colheita e processamento de material

Amostras de sangue, conteúdo gástrico e biópsias da mucosa gástrica por endoscopia em todos os grupos foram colhidas quatro vezes a partir do tempo 0 (antes dos tratamentos) e após cada sete dias até completar os 21 dias do período experimental (Figura 1). Amostras de sangue foram processadas para hemograma e bioquímica. Do conteúdo gástrico, determinaram-se o pH, níveis de PGE₂ e a concentração de ácidos graxos voláteis (AGVs). Das biópsias, foram realizadas análises histológicas e mensurações de marcadores do balanço das variáveis antioxidantes e oxidantes.

1.5.1 Hemograma e Bioquímica sérica

Amostras de sangue foram colhidas por venopunção jugular em frascos Vacutainer¹² com anticoagulante EDTA (ácido etileno diamino tetracético) e sem anticoagulante. O hemograma foi realizado em equipamento eletrônico¹³ e a contagem diferencial de leucócitos em esfregaço corados com Giemsa¹⁴. O plasma foi processado imediatamente para a determinação de proteínas plasmáticas totais por refratometria¹⁵. O soro foi utilizado para a mensuração de sódio e potássio por espectrofotometria de chama¹⁶. Cloreto, magnésio, cálcio, uréia, creatinina, fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil transferase (GGT), alanino-amino transferase (ALT), aspartato-amino transferase (AST) e lactato foram mensurados por equipamento eletrônico com kit comercial¹⁷.

¹⁰Dormiun V – Agener União

¹¹PortaScope, 1800PVS, United State.

¹²Vacutainer BD – Bacton & Dickinson Ind. Cirúrgica Ltda., Brasil.

¹³Animal Blood Counter Vet – ABX, França.

¹⁴Contagem diferencial de leucócitos em esfregaço corado pelo método de Giemsa, segundo Jaim (1986).

¹⁵Refratômetro SPR T2 – Atago.

¹⁶Fotômetro de chama F 250 – Celim

¹⁷Cobas – Roche – Kits Synermed e Doles, Brasil.

1.5.2 Conteúdo gástrico

Com o endoscópio no lúmen do estômago e antes da lavagem da mucosa, foram aspirados aproximadamente 10 mL de suco gástrico com a ajuda de uma sonda uretral¹⁸ conectada ao canal do trabalho do gastroscópio. Imediatamente, foi medido o pH, através de pHmetro¹⁹ convencional, das amostras e foram alíquotadas segundo as análises de interesse. Cinco (5) mL foram coletados em recipiente contendo 1mL de ácido metafósfórico para a mensuração da concentração de AGVs (acético, propiónico, butírico e láctico) por cromatografia gasosa²⁰. O resto das amostras foram filtradas e tituladas a pH 7 com NaOH a 0,1N e congeladas a -20°C para posterior determinação da concentração de PGE₂ utilizando-se kit comercial²¹.

1.5.3 Biópsias gástricas

Após o estômago ser distendido por ar e a mucosa lavada por jatos de água, foram realizadas biópsias da área glandular da mucosa, dirigidas visualmente e com o auxílio da pinça inserida pelo canal de trabalho. Para o procedimento de biópsia, utilizaram-se pinças endoscópicas flexíveis com pontas ovais goivas articuladas para aprisionamento e corte da amostra de aproximadamente 3x3mm por tração brusca, após a escolha da área de mucosa e posicionada da extremidade do gastroscópio em ângulo de 90° em relação à mucosa.

Foram colhidas sete (7) biópsias por animal em cada período de avaliação. Seis amostras foram acondicionadas em tubos criogênicos individuais e conservados em nitrogênio líquido para a determinação da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO), n-

acetilglicosaminidase (NAG), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e concentrações da glutatona total (GSH), óxido nítrico (ON) e malondialdeído (MDA), segundo protocolos específicos para cada variável a analisar. A biópsia restante, foi imediatamente fixada em formalina tamponada a 10% para posteriormente ser processada segundo técnicas convencionais de inclusão em parafina, cortadas a 5µm e coradas pela hematoxilina e eosina (HeE) e carbolfucsina (Rocha et al., 1989), logo avaliadas em microscópio de luz para análises histológicas e presença de bactérias espiraladas respectivamente.

1.5.3.1 Análises da atividade da enzima mieloperoxidase (MPO)

A atividade da MPO foi determinada pelo método de Belo et al. (2004) modificado e de acordo com o protocolo do Laboratório de Angiogêneses do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG). As biópsias foram pesadas, trituradas, homogeneizadas em 1,9 mL de solução tampão com pH 4,7 (0,1M de NaCl, 0,02M de NaPO₄, e 0,015M de NaEDTA) e centrifugadas a 12000g por 10 minutos. Após a retirada do sobrenadante, foi ressuspenso e homogeneizado com tampão de NaPO₄ (pH 5,4) contendo HTAB 0,5% (bromido de hexadecil-trimetilamoníaco). Alíquotas de 1mL dessa solução foram submetidas a três ciclos de congelamento em nitrogênio líquido. Determinou-se a atividade da MPO medindo-se a mudança na densidade óptica (DO) a 450nm usando-se tetrametilbenzidina (1,6mM) e peróxido de hidrogênio (0,3mM). Os resultados foram expressos como mudanças em DO por mg de tecido triturado.

¹⁸Provar produtos veterinários – sonda uretral PVC para cavalo 5x7mm com 1,50m comprimento.

¹⁹pHmetro PHTEK modelo pHs-3B

²⁰Gas Chromatograph GC-17A Shimadzu / Auto injector AOC – 20i Shimadzu.

²¹Assay Designs - USA

1.5.3.2 Análises da atividade da enzima *n*-acetilglicosaminidase (NAG)

O método empregado por Carolo et al. (2001) e adaptado pelo Laboratório de Angiogêneses do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG), foi utilizado para avaliar a atividade da NAG. Uma alíquota de 100µl de cada amostra foi diluída em solução tampão citrato/fosfato, para depois adicionar 100µl do substrato (p-nitrofenil-N-acetil-β-D-glicosamina) e incubada a 37°C por uma hora, sendo parada a reação com 100 µl do tampão glicina, para finalmente ser lido em leitor de ELISA em comprimento de onda de 400nm. Os resultados foram expressos como mudanças em DO por mg de tecido triturado.

1.5.3.3 Análises da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD)

O método empregado para avaliar a atividade da SOD foi o utilizado por Dieterich et al. (2000), o qual é baseado na habilidade da SOD limpar o O₂⁻ diminuindo assim a razão de auto-oxidação do pirogalol. As amostras foram homogeneizadas em tampão fosfato (50 mM), ao qual foi adicionado brometo de (3-[4,5-dimetiltiazol-2H]-2,5difeniltetrazolium a 1,25 mM (MTT) e pirogalol a 100µM, sendo parada a reação com dimetil-sulfoxido (DMSO) para finalmente ser lido em leitor de ELISA em comprimento de onda de 570nm. Os resultados foram expressos em unidades de SOD/mg de proteína total do homogenato (U/mg pt). A concentração de proteína do homogenato foi determinada por sistema colorimétrico do método de Biureto modificado²².

1.5.3.4 Análises da atividade da enzima catalase (CAT)

O princípio do método empregado é a oxidação do H₂O₂ a oxigênio molecular e redução a água (Aebi, 1984). As amostras foram homogeneizadas em tampão fosfato para logo adicionar-se solução tampão fosfato

com peróxido e lidas em espectrofotômetro de 240nm nos tempos 0, 30 e 60 segundos. Os resultados foram expressos em unidades de CAT / mg de proteína do homogenato.

1.5.3.5 Determinação da concentração da glutationa total (GSH)

A concentração da GSH do total do homogenato foi medida conforme o método de Sedlak e Lindsay (1968). As amostras foram homogeneizadas em 2ml de tampão Tris- HCl 50mM (20mM EDTA e 0,2mM de sacarose a pH 7,5). Deste homogenato, foram colhidos 500µl para logo adicionar-se 1500µl de buffer Tris-HCl 200mM (0,2mM EDTA a pH 7,5), 100 µl de 5,5-ditiobis (2-ácido nitrobenzoico) (DTNB) e 7900µl de metanol, vortezizado e incubado por 30 minutos a 37°C para ser lido espectrofotometricamente a 412nm.

1.5.3.6 Análises de óxido nítrico (ON)

A análise de ON foi feita indiretamente através da reação colorimétrica de Griess, adaptada à descrita por Miranda et al. (2001). As amostras foram incubadas com nitrato redutase, FAD (sal hidratado dissódico de flavina adenina dinucleotídeo) e NADPH (sal tetrasódico reduzido de β-nicotinamida adenina dinucleotídeo 2-fosfato). Em seguida, foi desproteinizado com solução de óxido de zinco a 30%. No sobrenadante, foi adicionada a solução de Griess e, após dez minutos, foi lido espectrofotometricamente a 540nm. Para a realização da curva padrão foi utilizada solução base de nitrito de sódio 1mM. A montagem da curva foi feita com concentrações variando entre 0,31 e 78µmol/L de nitrito.

1.5.3.7 Análises de malondialdeído (MDA)

A determinação de MDA foi por cromatografia líquida de alto rendimento, segundo o método de Karatas et al. (2002) modificado. Cada amostra foi triturada e adicionado HClO₄, para logo ser centrifugada

²²kits para bioquímica clínica – Doles Reag. Equip. para Laboratórios Ltda.

a 4500g/5minutos. A fase móvel foi de 30mM KH_2PO_4 -metanol (65 + 35, % v/v); com coluna Wat Spher NSTC18 – UV/VIS 254nm. Como solução padrão, foi utilizado o TEP (1,1,3,3-tetraethoxypropane). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g ml}^{-1}$.

1.6 Análise estatística

O modelo estatístico adotado foi inteiramente casualizado com arranjo em parcelas subdivididas, sendo as parcelas os grupos (I, II e III) e as subparcelas os períodos (0, 7, 14 e 21 dias), com 5 repetições (animais) por tratamento. Foram realizados os testes de Lilliefors e Bartlett para avaliar a normalidade e homocedasticidade em todas as variáveis estudadas. Entretanto, as variáveis neutrófilos, ALT, MPO, NAG, MDA foram transformadas para logaritmo (log), butirato e PGE_2 foram transformadas para $\log+4$ e os dados do pH transformados para raiz quadrada para apresentarem normalidade e homocedasticidade. Para comparação das médias dessas variáveis foram utilizados os testes de Tukey (CV abaixo de 15 %) e t (CV acima de 15%) a 5% de probabilidade do erro.

As variáveis (leucócitos, eosinófilos, monócitos, basófilos, bastonetes, cloreto, potássio, AST, SOD, ácido propiónico) que não apresentaram normalidade e homocedasticidade pelos testes mencionados anteriormente, foram avaliados dentro dos grupos pelo teste de Friedman ($p<0,05$) e entre grupos em cada período pelo teste de Kruskal-Wallis ($p<0,05$) e quando houve diferenças por esses testes foi aplicado o método de comparação de Dunn ($p<0,05$). Igualmente, para as variáveis qualitativas (escores das gastroscopias e análises histológica) foram avaliados e comparados pelos testes anteriores.

1.7 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Frente as particularidades das condições disponíveis para a execução experimental, no que se refere a limitações de espaço físico

e de número de animais optou-se pelo delineamento experimental e análise estatísticas anteriormente citadas por serem as mais adequadas à realidade desse trabalho.

A resposta variável da mucosa gástrica aos agentes lesivos resultam em ulcerações de intensidade diversa em modelos de indução, o que pode influenciar os resultados finais, apesar da adoção de uniformidade nas condições de manejo e de adaptação iniciais dos animais. Essa realidade pode influenciar nas variáveis analisadas e dificultar a adequação e sensibilidade do delineamento e testes estatísticos respectivamente para mostrar claramente diferença significativa.

Os óleos vegetais são amplamente utilizados na nutrição dos equinos como suplemento energético. Para fins terapêuticos de gastropatias existe pouca evidencia científica a exceção de estudos preventivos em mucosa gástrica sadia. O óleo de milho além de oferecer vantagens pela equilibrada relação entre os ácidos graxos essenciais (linoléico e linolênico), é de destaque a palatabilidade alta pelos equinos e o razoável valor econômico, sendo estes os motivos que incentivaram a testar os benefícios deste óleo na SUGE.

O uso do sucralfato dentro a terapêutica das ulcerações gástricas de moderada intensidade é amplamente conhecido nos equinos. Os mecanismos gastroprotetores descritos na literatura são similares aos esperados pelo o uso do óleo de milho, sendo estes os motivos para considerar como grupo controle os animais tratados com sucralfato. Pelos resultados conhecidos do sucralfato, esse foi administrado no grupo controle na fase de indução e comparado com os resultados das variáveis analisadas nos grupos tratados com o óleo de milho.

CAPITULO II

EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS AVALIAÇÃO CLÍNICA E ANÁLISES LABORATORIAIS

1. RESULTADOS

Os parâmetros clínicos não mostraram modificações ou alterações relevantes durante o experimento. Os resultados obtidos diariamente da avaliação da FC, FR e TR durante a fase de indução das ulcerações gástricas estão na Tab. 1. Estas variáveis não mostraram diferenças significativas, mas nos três primeiros dias se evidenciou aumento destes parâmetros fisiológicos em todos os grupos, coincidindo com manifestações de ansiedade durante estes mesmos dias. A totalidade dos animais não apresentou alterações de apetite como inapetência ou anorexia em nenhuma das fases experimentais. Igualmente, não foram evidenciados episódios de diarreia, desconforto abdominal, edemas ventrais e sinais de desidratação.

Os exames de monitoramento a cada 48 horas para a determinação de lesões gastrintestinais durante a fase de administração da FBZ, assim como os resultados de sangue oculto, foram negativos. Do mesmo modo, as análises das proteínas plasmáticas e de albumina não tiveram quedas correspondentes a perdas por lesão da mucosa gastroentérica. Finalmente, mudanças na consistência das fezes não foram encontradas em todos os grupos.

As análises do eritrograma, leucograma e da bioquímica sérica estão relacionadas nas tabelas 2, 3, 4 e 5 respectivamente, considerando-se a indução ou primeira fase os períodos de coleta 0 e 7, e a fase dois ou de tratamentos experimentais os períodos 14 e 21. No eritrograma, os eritrócitos, hematócrito, concentração da hemoglobina e hemoglobina corpuscular média (HCM) não apresentaram diferenças significativas, mas apresentaram discretas alterações, mantendo-se na faixa de referência. No caso da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), apesar da não significância, os valores foram superiores ao valor de referência. O volume corpuscular médio (VCM) foi a única variável que apresentou diferença ($p < 0,05$) em relação ao tempo, em que os resultados iniciais (dia 0) foram maiores aos demais períodos.

Os valores dos eritrócitos no GIII apresentaram decréscimo após do período de indução, com leve recuperação ao final dos tratamentos, diferente dos grupos restantes que apresentaram aumento progressivo durante todos os períodos avaliados. Nos GII e III o hematócrito apresentou diminuição após a fase de indução e aumento em todos os grupos ao final dos tratamentos. A concentração da hemoglobina aumentou ao final dos tratamentos, apesar das oscilações na fase de indução.

Tabela 1. Médias (\pm DPM) da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (T° C) avaliadas diariamente durante a primeira fase experimental de 15 equinos, submetidos a confinamentos e administração da fenilbutazona.

Parâmetro	Grupo I			Grupo II			Grupo III		
	FC (bpm)	FR (mpm)	T° C	FC (bpm)	FR (mpm)	T° C	FC (bpm)	FR (mpm)	T° C
0	38 \pm 2,12	17 \pm 2	38,4 \pm 0,49	36,8 \pm 2,77	17,4 \pm 2,41	38,4 \pm 0,56	37,2 \pm 2,59	18,8 \pm 2,28	38,2 \pm 0,65
1	38 \pm 1,87	16,8 \pm 2,39	38,2 \pm 0,41	36,6 \pm 1,52	15,8 \pm 1,48	38,7 \pm 0,57	37,8 \pm 1,48	16,4 \pm 2,30	38,3 \pm 0,57
2	33,6 \pm 3,85	13,6 \pm 1,14	37,8 \pm 0,41	31,6 \pm 2,70	13,6 \pm 2,97	37,9 \pm 0,45	30,6 \pm 3,58	12,8 \pm 3,35	37,6 \pm 0,19
3	33,8 \pm 3,37	10,6 \pm 1,34	37,7 \pm 0,22	30,4 \pm 1,82	11,2 \pm 2,28	37,7 \pm 0,16	31,2 \pm 1,30	10,6 \pm 2,41	37,6 \pm 0,11
4	31,8 \pm 2,41	10,2 \pm 1,48	37,6 \pm 0,08	30,2 \pm 1,48	12 \pm 3,16	37,6 \pm 0,08	29,6 \pm 1,14	10 \pm 1,41	37,6 \pm 0,13
5	29,6 \pm 2,07	9,8 \pm 1,79	37,7 \pm 0,22	30,8 \pm 2,28	10,4 \pm 1,67	37,6 \pm 0,13	31,2 \pm 2,59	11,4 \pm 3,97	37,5 \pm 0,11
6	32,4 \pm 2,97	10,2 \pm 1,10	37,6 \pm 0,09	31,2 \pm 2,28	9,4 \pm 1,34	37,6 \pm 0,15	31 \pm 2	10,6 \pm 0,89	37,5 \pm 0,05

Grupo I: controle (água); Grupo II: água (5 dias) + FBZ (13,2mg/kg/vol/doses únicas); Grupo III: FBZ (4,4mg/kg/vol/dias + 13,2mg/kg/vol/doses únicas).

Em relação ao leucograma, todas as variáveis se mantiveram na faixa de referência, porém com diferenças ($p < 0,05$) entre grupos no dia 14 da fase de tratamentos para os leucócitos totais, sendo o GII maior se comparado com o GIII. Estes diminuíram progressivamente até o final do

experimento em todos os grupos. Entretanto, para os eosinófilos, houve diferença no início dos tratamentos (dia 7) e, no GI, os valores da indução e do tratamento revelaram diferenças significativas (tabela 3).

Apesar da ausência de diferenças significativas, o comportamento do número de neutrófilos e dos linfócitos foi inverso, sendo este comportamento similar nos GI e GII em todos os períodos de coleta com evidente descenso e aumento nos neutrófilos e linfócitos respectivamente. Entretanto, no GIII o número de neutrófilos diminuiu em todos os períodos sendo marcada na fase de indução. Os linfócitos mostraram comportamento distinto dos outros grupos ao final da indução e começo do tratamento, mas aumentaram ao final desta fase. Os monócitos, basófilos, bastonetes e plaquetas não mostraram comportamentos distintos, nem diferenças significativas entre grupos e tempos nas duas fases experimentais.

Na bioquímica sérica, as proteínas totais, albumina, sódio, potássio, magnésio,

creatinina, uréia, FA e GGT mostraram flutuações nos grupos e períodos de coleta, mas ainda dentro dos valores de referência para a espécie. Em relação ao cálcio, apesar de não mostrar diferenças significativas, diminuiu se comparado o início da indução e o começo dos tratamentos ao final do experimento em todos os grupos. No caso do cloreto apresentou hiperclorêmia na segunda coleta, mas sem influência do tratamento. A uréia e a creatinina, ao final dos tratamentos, aumentaram em relação ao início em todos os grupos, sendo a última com diferenças significativas entre os grupos no final da indução e no dia 14 dos tratamentos. Entretanto, a AST diminuiu significativamente em todos os grupos no período 21 em relação ao início dos tratamentos.

Tabela 2. Médias (\pm DPM) dos parâmetros do eritrograma de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras gástricas e tratados com óleo de milho (70 e 90ml/100Kg/vo/, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, G I) (médias por grupo).

Parâmetros	Grupo	Períodos de Coleta [†]			
		Indução 0	7	Tratamento 14	21
Eritrócitos* ($\times 10^6$ cels/ μ L)	I	7,92 \pm 1,69	7,99 \pm 2,24	8,06 \pm 1,84	9,07 \pm 2,03
	II	6,50 \pm 1,01	6,58 \pm 0,80	7,54 \pm 2,08	7,81 \pm 0,96
	III	7,66 \pm 1,64	6,60 \pm 1,26	6,40 \pm 1,49	7,01 \pm 1,57
Hematócrito (%) [*]	I	34,4 \pm 6,14	29,70 \pm 6,14	29,98 \pm 5,07	34,52 \pm 5,50
	II	30,80 \pm 2,59	26,60 \pm 2,34	28,38 \pm 7,50	29,64 \pm 3,03
	III	32,60 \pm 6,27	25,62 \pm 3,55	25,46 \pm 4,66	28,00 \pm 4,94
Hemoglobina (g/dL) [*]	I	12,70 \pm 2,25	12,32 \pm 2,60	12,44 \pm 2,09	13,92 \pm 2,57
	II	12,40 \pm 1,07	10,76 \pm 1,24	11,92 \pm 3,03	12,18 \pm 1,32
	III	10,36 \pm 2,64	10,78 \pm 1,61	10,46 \pm 1,94	11,24 \pm 1,96
VCM (fL)	I	43,00 \pm 2,74a	37,80 \pm 2,77b	38,00 \pm 2,74b	38,60 \pm 3,13b
	II	44,40 \pm 3,29a	37,60 \pm 2,19b	38,00 \pm 2,24b	38,20 \pm 2,59b
	III	42,40 \pm 2,30a	39,20 \pm 2,86b	40,20 \pm 3,11ab	40,40 \pm 3,05ab
CHCM (g/dL) [*]	I	36,8 \pm 0,45	41,5 \pm 0,99	41,24 \pm 1,01	40,16 \pm 1,58
	II	37,0 \pm 1,41	43,56 \pm 2,05	42,02 \pm 1,06	41,06 \pm 0,90
	III	37,4 \pm 0,89	41,94 \pm 1,43	40,98 \pm 0,89	40,08 \pm 0,94
HCM (g/dL) [*]	I	16,08 \pm 0,93	15,66 \pm 1,29	15,6 \pm 0,90	15,46 \pm 0,74
	II	16,38 \pm 1,31	16,36 \pm 0,85	15,94 \pm 0,91	15,68 \pm 1,18
	III	15,9 \pm 0,88	16,44 \pm 1,27	16,46 \pm 0,93	16,18 \pm 1,26

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). ^{*}Médias iguais pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

^{ab}Médias seguidas de letras distintas minúsculas na linha representam diferença pelo teste Tukey ($p < 0,05$). VCM: Volume corpuscular médio; CHCM: Concentração da hemoglobina corpuscular média; HCM: Hemoglobina corpuscular média.

Tabela 3. Médias (\pm DPM) (Neutr. Seg., linfócitos e plaquetas) e medianas (Leuc. totais, monócitos, basófilos, bastonetes, eosinófilos) dos parâmetros do leucograma de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras gástricas e tratados com óleo de milho (70-90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI).

Parâmetros	Grupo	Períodos de Coleta [†]			
		Indução 0	7	Tratamento 14	21
Leuc.totais* (x10 ³ cel/ μ L)	I	10300 (9010-11500)	9240 (6940-11100)	9190 (8590-9680) AB	8820 (7470-9450)
	II	10000 (8020-10900)	9230 (5210-12800)	11100 (8370-24200) A	8760 (7830-13200)
	III	10900 (6410-19900)	8180 (5230-9270)	7280 (5430-9130) B	7230 (6340-10200)
Neutr. seg.** (x10 ³ cel/ μ L)	I	7514,6 \pm 1090,66	5424,4 \pm 1601,74	6162,6 \pm 682,77	5167,4 \pm 1122,45
	II	6769,2 \pm 1277,74	5789 \pm 2214,17	8480 \pm 3768,40	5390,4 \pm 1319,94
	III	8120,6 \pm 3353,90	4995,5 \pm 715,09	4676 \pm 645,26	4507,6 \pm 925,84
Linfócitos*** (x10 ³ cel/ μ L)	I	2517 \pm 318,10	3117,6 \pm 949,74	2484,4 \pm 676,07	2996 \pm 834,56
	II	2599,4 \pm 462,45	3420,8 \pm 1354,78	4058,4 \pm 2065,79	4184,4 \pm 1447,54
	III	2907,4 \pm 1991,22	2392,2 \pm 1032,58	2046,8 \pm 673,00	2991,8 \pm 1232,88
Monócitos* (x10 ³ cel/ μ L)	I	0 (0-0)	0 (0-0)	92 (0-92)	0 (0-0)
	II	0 (0-0)	0 (0-0)	138 (0-242)	78 (0-228)
	III	0 (0-315)	0 (0-85)	0 (0-64)	0 (0-283)
Basófilos* (x10 ³ cel/ μ L)	I	0 (0-109)	0 (0-111)	88 (0-172)	0 (0-176)
	II	0 (0-0)	0 (0-126)	0 (0-242)	0 (0-114)
	III	0 (0-244)	0 (0-70)	64 (0-183)	0 (0-145)
Bastonetes* (x10 ³ cel/ μ L)	I	0 (0-115)	92 (0-195)	0 (0-0)	0 (0-75)
	II	0 (0-0)	71 (0-184)	0 (0-0)	0 (0-132)
	III	0 (0-0)	52 (0-185)	0 (0-155)	0 (0-82)
Eosinófilos (x10 ³ cel/ μ L)	I	103 (0-327) b	444 (195-1202) aA	285 (258-643)ab	181 (95-373)ab
	II	216 (100-327)	256 (185-625) AB	272 (0-1936)	88 (0-456)
	III	256 (0-597)	139 (52-185) B	437 (109-544)	141 (81-408)
Plaquetas*** (x10 ³ cel/ μ L)	I	203 \pm 59,07	147,8 \pm 12,89	191,4 \pm 62,95	259 \pm 76,13
	II	158 \pm 51,33	143,6 \pm 37,98	208,7 \pm 78,71	178,0 \pm 40,18
	III	124,6 \pm 13,89	160,4 \pm 30,67	216,6 \pm 31,75	153,0 \pm 58,39

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). *Medianas iguais na linha pelo teste de Friedman (p>0,05). **Medias iguais pelo teste de Tukey (p>0,05). ***Medias iguais pelo teste t (P>0,05). ^{ab}Medianas seguidas de letras minúsculas distintas na linha representam diferença pelo método de Dunn (p<0,05) para comparação de grupos no teste de Friedman (p<0,05). ^{AB}Medianas seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna representam diferença pelo método de Dunn (p<0,05) para comparação de grupos no teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 4. Médias (\pm DPM) (proteínas tot., albumina, uréia, creatinina, FA, GGT) e medianas (AST) dos parâmetros da bioquímica sanguínea de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras gástricas e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI).

Parâmetros	Grupo	Períodos de Coleta [†]			
		Indução 0	7	Tratamento 14	21
Proteínas tot.* (g/dL)	I	7,7 \pm 0,5	7,9 \pm 0,6	7,3 \pm 0,7	7,0 \pm 0,6
	II	8,6 \pm 0,3	7,4 \pm 1,5	7,7 \pm 0,6	7,3 \pm 1,1
	III	8,3 \pm 0,6	8,1 \pm 0,5	7,5 \pm 0,4	7,4 \pm 0,6
Albumina* (g/dL)	I	2,58 \pm 0,20	2,54 \pm 0,15	2,5 \pm 0,22	2,68 \pm 0,45
	II	2,46 \pm 0,15	2,24 \pm 0,42	2,4 \pm 0,20	2,55 \pm 0,21
	III	2,48 \pm 0,13	2,34 \pm 0,11	2,24 \pm 0,17	2,63 \pm 0,26
Uréia** (mg/dL)	I	38,4 \pm 7,50	30 \pm 5,48	29,48 \pm 15,00	48,14 \pm 5,72
	II	39,8 \pm 7,60	26 \pm 8,37	30,4 \pm 3,65	47,58 \pm 8,62
	III	33,6 \pm 5,90	35,6 \pm 2,70	32,4 \pm 4,72	51,12 \pm 10,58
Creatinina* (mg/dL)	I	1,02 \pm 0,18ab	0,98 \pm 0,08ABb	1,28 \pm 0,23Aa	1,00 \pm 0,16b
	II	0,92 \pm 0,11ab	0,82 \pm 0,16Bb	1,1 \pm 0,12ABa	1,08 \pm 0,22a
	III	1,18 \pm 0,18	1,08 \pm 0,13 ^a	0,94 \pm 0,23B	1,16 \pm 0,26
FA* (U/L)	I	177,8 \pm 32,29	148,4 \pm 27,21	134,6 \pm 21,62	145,4 \pm 23,09
	II	197,4 \pm 63,10	133,8 \pm 39,02	153,2 \pm 36,05	168,4 \pm 47,73
	III	200,2 \pm 51,55	165 \pm 45,86	129,4 \pm 37,23	136 \pm 32,20
AST [‡] (U/L)	I	176 (166-196)ab	194 (167-200)a	187 (180-204)ab	126 (112,8-138,2)b
	II	191 (184-203)ab	191 (181-196)a	189 (177-190)ab	128,3 (113-137)b
	III	194 (182-201)ab	198 (155-207)a	194 (182-202) ab	124,5 (121-128)b
GGT** (U/L)	I	16,2 \pm 12,66	8,8 \pm 5,63	7,2 \pm 2,77	10,04 \pm 4,22
	II	12,8 \pm 7,85	11,4 \pm 8,41	16,2 \pm 8,90	7,7 \pm 4,20
	III	20,2 \pm 10,47	7,8 \pm 2,39	10 \pm 5,70	14 \pm 5,83

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). ^{*}Medias iguais pelo teste de Tukey (p>0,05). ^{abAB}Médias seguidas de letras distintas minúsculas na linha e maiúsculas na coluna representam diferença pelo teste Tukey (p<0,05). ^{**}Medias iguais pelo teste t (P>0,05). ^{‡ab}Medianas seguidas de letras minúsculas distintas na linha representam diferença pelo método de Dunn (p<0,05) para comparação de grupos no teste de Friedman (p<0,05); FA: Fosfatase alcalina; ALT: Alanino-amino transferase; AST: Aspartato-amino transferase; GGT: Gama-glutamil transferase.

Tabela 5. Médias (\pm DPM) (cálcio, sódio, magnésio) e medianas (cloreto, potássio) dos parâmetros da bioquímica sanguínea de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras gástricas e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI).

Parâmetros	Grupo	Períodos de Coleta [†]			
		Indução 0	7	Tratamento 14	21
Cálcio* (mg/dL)	I	11,10 \pm 0,61	10,86 \pm 0,60	11,16 \pm 0,63	9,73 \pm 0,49
	II	10,99 \pm 0,68	11,08 \pm 0,37	11,10 \pm 0,67	9,57 \pm 0,24
	III	10,30 \pm 0,51	11,34 \pm 0,38	11,08 \pm 1,08	10,40 \pm 0,67
Cloreto [‡] (mmol/L)	I	99,12 (89,89-103,41) ab	113 (102-115)a	95 (92-100)abAB	90,0(82,90-94,50)b
	II	98,26 (95,74-100,60)	110 (69-115)	94 (91-96)B	86,56 (82,49-96)
	III	97,05 (91-99,60)ab	109 (86-109)a	99 (97-102)abA	90,8(86,38-94,32)b
Sódio* (mmol/L)	I	132,4 \pm 3,58	133,2 \pm 6,26	138,8 \pm 15,34	138,4 \pm 5,55
	II	133,6 \pm 4,34	133,6 \pm 4,10	134,8 \pm 4,82	136,4 \pm 8,17
	III	131,2 \pm 5,40	136 \pm 5,10	132,0 \pm 10,58	142 \pm 8,60
Potássio [‡] (mmol/L)	I	3,2 (3,1-4,2)	3,2 (3-4,1)	4 (3,2-4,1)	4 (3,3-6,9)
	II	3,2 (3,1-7,2)	4 (3,2-4,4)	4 (3,2-4,4)	4,9 (3,1-5,2)
	III	3,2 (3,1-4,0)	4 (3,4-4,2)	3,4 (3,2-4,2)	4,1 (3,2-5,1)
Magnésio* (mg/dL)	I	1,59 \pm 0,17b	1,67 \pm 0,10b	1,97 \pm 0,18a	1,58 \pm 0,07b
	II	1,60 \pm 0,20	1,72 \pm 0,11	1,77 \pm 0,19	1,65 \pm 0,15
	III	1,79 \pm 0,10	1,87 \pm 0,09	1,78 \pm 0,25	1,79 \pm 0,24

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). *Medias iguais pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

[‡]abAB Médias seguidas de letras distintas minúsculas na linha e maiúsculas na coluna representam diferença pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). [‡] Medianas iguais na linha pelo teste de Friedman ($p > 0,05$). [‡]abAB Medianas seguidas de letras minúsculas distintas na linha representam diferença pelo método de Dunn ($p < 0,05$) para comparação de grupos no teste de Friedman ($p < 0,05$); medianas seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna representam diferença pelo método de Dunn ($p < 0,05$) para comparação de grupos no teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

2. DISCUSSÃO

Os animais do presente estudo mostraram o efeito do confinamento nas variáveis clínicas avaliadas, fato corroborado pelo episódio de aumentos na FC, FR e TR nos primeiros dias. Tal resultado se deve às mudanças de manejo e alimentação pela restrição de espaço, uma vez que eram animais criados soltos a pasto. O confinamento resultou em

um estímulo estressor manifestado na ansiedade expressada no começo do experimento. Porém a intensidade destas circunstâncias não foi refletida em alterações comportamentais mais complexas e na ingestão de alimentos, tanto concentrados como volumoso, durante o período experimental. Além disso, os animais não apresentaram sinais de desidratação e desequilíbrio cardiovascular. Após o terceiro

dia de confinamento, evidenciou-se aclimatização progressiva dos animais, pelo comportamento calmo e estabilização das constantes fisiológicas.

Embora a anorexia tenha sido relatada como sinal clínico comum após uso da FBZ (MacAllister et al. 1993; Mozaffari e Derakhshanfar, 2012), nos animais do presente trabalho o consumo de alimento foi constante durante todo o experimento. Apesar da descrição deste sinal nas doses terapêuticas similares às utilizadas no G III e inclusive em sobredoses menores às empregadas neste estudo. Porém, os efeitos colaterais variam conforme as doses, duração, condição clínica do paciente (Scheiman, 2009) e a presença de fatores que potencializam os efeitos adversos. Também tem sido relatada susceptibilidade por raça e idade (Soma et al., 2012). Possivelmente, pela ausência destes fatores nos grupos tratados com FBZ, os equinos não mostraram alterações comportamentais e clínicas de relevância. Os animais tratados com o óleo de milho sempre consumiram a quantidade ofertada, possivelmente por ser palatável e por não diminuir o esvaziamento gástrico tal como foi descrito por Lorenzo-Figueras et al. (2005).

As alterações hematológicas induzidas pela FBZ foram pouco evidentes, uma vez que os parâmetros sanguíneos em sua maioria ficaram dentro os valores de referência, igualmente sem diferenças significativas entre os grupos tratados com FBZ e o controle em todos os períodos de coleta. A ausência de anemia, clinicamente importante, concorda com os resultados negativos de sangue oculto nas fezes, igualmente com a ausência de sinais de desidratação pelo não desenvolvimento de diarreia, e enquanto a normoproteinemia explica a ausência de edemas nos membros. Entretanto a hipoproteinemia, anemia, diarreia, melena e cólica são sugeridos como valor prognóstico em gastroenteropatias por toxicoses da FBZ (MacAllister et al., 1993;

McConnico et al., 2008; El-Ashker et al., 2012). Alguns parâmetros do eritrograma mostraram recuperação ao final do experimento nos grupos tratados com óleo de milho e sucralfato, possivelmente em resposta ao manejo e qualidade da alimentação, fato corroborado pelo o aumento do peso corporal de 16kg na média geral de todos os grupos.

O aumento nos valores do CHCM e o comportamento do VCM sugerem alterações pela manipulação das amostras, dada a normalidade dos valores HCM e a não confirmação de anemia pelos demais parâmetros. O perfil do leucograma não sinalizou leucocitose nem neutropenia nos grupos durante todo o estudo, embora tais alterações tenham sido reportadas na toxicose pela FBZ em diferentes doses e tempos terapêuticos (McConnico et al., 2008; El-Ashker et al., 2012), sugerindo tolerância ao esquema de administração empregado. As oscilações nos valores dos neutrófilos, linfócitos e eosinófilos, ainda dentro o intervalo de referência em todos os grupos, sugerem mudanças independentes dos efeitos dos tratamentos, apesar de alguns serem estatisticamente, mas não clinicamente significante. Embora alguns animais independente do grupo apresentaram valores maiores, possivelmente pelo efeito do estresse gerado pelas mudanças de manejo. Porém, estudos realizados por Hall et al. (2004ab) em cavalos sadios tem determinado o efeito modulador da resposta inflamatória pelas vias da fagocitose, produção de $TNF\alpha$, PGE_2 e leucotrienos B com o uso do óleo de milho e de peixe administrado por tempo maior que no presente trabalho, mas também sem alterações relevantes no leucograma.

Em relação à bioquímica sanguínea, os resultados não mostraram efeito dos protocolos de indução nestas variáveis, assim como também dos tratamentos avaliados na terapêutica das úlceras induzidas. A maioria dos parâmetros

mantiveram-se dentro dos valores de referência, sem diferença entre grupos e entre avaliações. Igualmente, as enzimas avaliadas não mostraram alterações explícitas de danos em outros órgãos. Além disso, alguns dos parâmetros foram estatisticamente, mas não clinicamente significativos, pelo que se sugere ausência de influência dos tratamentos.

Alterações na bioquímica como hipoproteinemia, hipoalbuminemia (MacAllister et al., 1993), perfil hepático e renal tem sido amplamente descritas em consequência da toxicoses por FBZ (Safarchi et al., 2010; El-Ashker et al., 2012). Entretanto, McConnico et al. (2008) não determinaram alterações nas concentrações de sódio, potássio, cloreto, creatinina e uréia em cavalos tratados com 8,8mg/kg/vo/sid de FBZ por 21 dias, sendo os resultados similares aos do presente trabalho, apesar do uso em doses e tempos menores nos animais. Isto concorda com os resultados de Collins e Tyler (1984), ao não acharem alterações clínicas com doses menores que 8,8mg/kg/sid por 4 dias ou 2-4mg/kg por 50dias.

As alterações de pouca relevância nas análises da bioquímica deste trabalho sugerem influência de fatores pré-analíticos e das mudanças climatológicas no período experimental que poderiam ter alterado o consumo de água nos equinos. Porém não se observaram manifestações clínicas e, além disso, o grupo considerado controle (sucralfato) apresentou comportamento

similar aos tratados com o óleo de milho. O cálcio apresentou valores a baixo da faixa de referência, conforme foi descrito que os inibidores da secreção do ácido clorídrico gástrico podem alterar a fisiologia deste mineral, mas o pH do estômago nos animais deste trabalho não foi aumentado significativamente, apesar do potencial do sucralfato e do óleo de milho para aumentar a PGE₂.

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os protocolos de indução a base de FBZ e confinamento utilizados neste trabalho foram adequados tendo em vista à preservação dos parâmetros clínicos e praticamente todos os laboratoriais. Também foi evidenciada a importância do controle dos esquemas de doses e tempos terapêuticos toleráveis pela espécie para evitar casos de toxicoses ou complicações maiores pelo uso de AINEs.

Em relação à administração do óleo de milho não foram relatadas alterações clínicas nem hematológicas, sinalizando tolerância dos animais à suplementação do óleo de milho, uma vez que tem pouco efeito na digestibilidade de nutrientes *in vitro* e *in vivo*. Apesar do curto período de administração do óleo de milho nos animais deste estudo, comparado com outros trabalhos visando o rendimento esportivo e estudo do perfil lipídico sérico, fica assim demonstrado a ampla faixa de segurança com o uso do óleo de milho em pacientes portadores de lesões gástricas.

CAPITULO III

EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS

AVALIAÇÃO GASTROSCÓPICA E HISTOLÓGICA

1. Resultados

O protocolo de sedação utilizado proporcionou condições de segurança para o estudo gastroscópico, sem riscos de acidentes físicos para os operadores, o equipamento e para os animais que permaneceram em estação quadrupedal sem reações adversas, durante os procedimentos relacionados ao exame. O uso do abre-boca modelo *Hausmann* ofereceu proteção ao equipamento, permitindo sucesso em todas as gastroscopias realizadas. O período de jejum foi adequado por permitir a visualização plena da área não glandular da mucosa e maior parte da glandular, já que uma pequena área do fundo antral continha conteúdo gástrico líquido remanescente.

Os achados das gastroscopias classificadas por número e intensidade das lesões segundo MaCallister et al. (1997) nas duas mucosas gástricas estão expressos nas tabelas 1 a 6 e nas figuras 1 a 6 para todos os grupos experimentais. Os escores das lesões ulcerativas não apresentaram diferenças significativas como se expressam nas tabelas 7 e 8, mas evidenciaram tendências nos grupos em cada período. Na primeira avaliação gastroscópica da mucosa glandular de cada grupo, mostrou-se em seis (40%) animais a presença de lesões gástricas com escore por número entre um (1) e dois (2), sendo os Gs I e II com o maior número de cavalos neste intervalo. No caso do escore por intensidade, a máxima classificação foi um (1), onde os Gs I e II apresentarem mais cavalos nesta categoria, tal como se mostra nas figuras 1 a 6 sobre a dinâmica de evolução para cada grupo. Em relação à área não glandular da mucosa, não se

evidenciaram lesões inflamatórias e ulcerativas, assim como no esôfago.

O exame gastroscópico realizado sete (7) dias após a indução e começo dos tratamentos (segunda gastroscopia), mostrou diferentes dinâmicas no escore em relação ao determinado no primeiro exame, sendo o GIII com maiores mudanças com diminuição do número de cavalos gastricamente sadios e aumento de dois (2) no escore por número e intensidade. No GI, apesar da queda do escore por número, se apresentaram menos equinos com grau zero (0), porém se mantiveram na mesma classificação por intensidade. Já o GII permaneceu similar, relativo à incidência e intensidade dos processos ulcerativos ao primeiro exame. No caso da área não glandular da mucosa, se evidenciaram processos inflamatórios nas proximidades do *margo plicatus*, com ulcerações de grau dois (2) para número e a intensidade, oscilando entre os graus um (1) e dois (2), distribuídos nos Gs II e III. Contudo, não foi mostrada significância ($p>0,05$) entre os escores avaliados.

Após sete (7) dias de tratamento a base de óleo de milho e sucralfato, a terceira avaliação gastroscópica, mostrou redução da presença de ulcerações na mucosa glandular em todos os grupos, mas sem diferença estatística. Os animais do GII apresentaram uma resposta rápida ao tratamento, por ter cicatrizado na totalidade as úlceras nos animais, neste período. Os Gs I e III continuaram mostrando resolução das ulcerações. Embora a área não glandular da mucosa no GII tenha diminuído o número para grau um (1), houve aumento para dois (2) na intensidade. No caso do GIII, houve aumento para dois (2) no escore por

número, porém permaneceu na mesma intensidade.

Ao final do experimento (quarta avaliação gastroscópica), foi constatada a cicatrização de todas as úlceras da mucosa glandular nos três grupos, sem modificações no GII, que permaneceu sem ulcerações desde a avaliação anterior. Porém das úlceras presentes na área não glandular da mucosa só reverteram 60 e 80% nos Gs II e III respectivamente, apesar de ter diminuído o grau de intensidade e permanecer o grau por número de lesões da avaliação anterior no GII, aumentou o número de animais acometidos. Em relação ao GIII, houve diminuição nos dois escores analisados. A mucosa não glandular do G I prevaleceu sem lesão durante o período experimental.

As análises dos cortes histológicos corados pela HE e através da microscopia de luz encontram-se descritas na Tab. 7. As biópsias obtidas na área glandular da mucosa não foram representativas de toda a superfície. O infiltrado inflamatório presente nas adjacências das lesões ulcerativas da área glandular da mucosa mostrou a presença de polimorfonucleados neutrófilos (PMNNs) e

mastócitos com padrões de distribuição difusa e focal. Entretanto, os macrófagos também estiveram presentes. Os PMNNs e seus padrões de distribuição do infiltrado não apresentaram interação ($p>0,05$) entre os grupos nem entre os períodos de avaliação, apesar de mostrar em uma quantidade discreta com distribuição difusa mais marcada após a fase de indução. No caso dos monócitos, não foi evidenciada diferença significativa entre grupos nem entre coletas, mas foram frequentes as oscilações entre quantidades discretas e moderadas.

A presença de mastócitos variou entre discreta e moderada, sendo maior ($p<0,05$) que a quantidade presente nos grupos induzidos com FBZ (II e III) na segunda coleta e na quarta coleta no GIII foi diferente ($p<0,05$) aos outros grupos, ao igual que o padrão de distribuição do infiltrado difuso no mesmo grupo e avaliação. A distribuição focal dos PMNNs e dos mastócitos se caracterizou por estar ausente na maioria dos períodos avaliados. A avaliação microscópica das lamina coradas por carbolfucsina de todas as biópsias não evidenciou estruturas compatíveis com bactérias espiraladas.

Tabela 1. Classificação por número e intensidade, segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GI.

NÚMERO	Indução		Tratamento	
	Exame 1	Exame 2	Exame 3	Exame 4
0	2	1	4	5
1	2	4	1	-
2	1	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
INTENSIDADE				
0	2	1	4	5
1	3	4	1	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

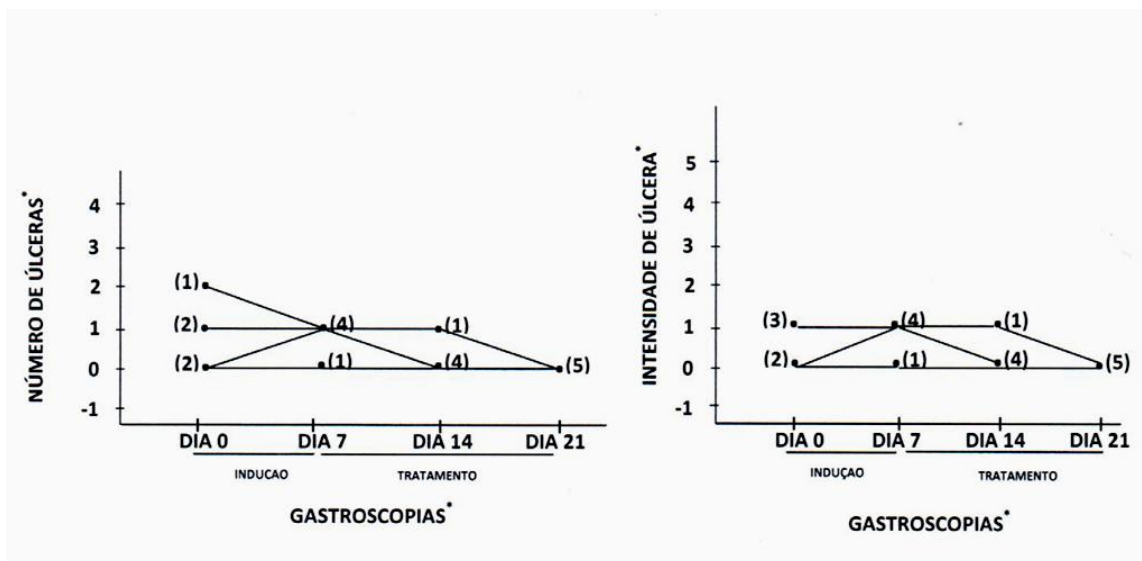


Figura 1. Dinâmica de evolução das úlceras gástricas na área glandular da mucosa dos equinos do GI através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997).

Tabela 2. Classificação por número e intensidade, segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área não glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GI.

NÚMERO	Indução		Tratamento	
	Exame 1	Exame 2	Exame 3	Exame 4
0	5	5	5	5
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
INTENSIDADE				
0	5	5	5	5
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

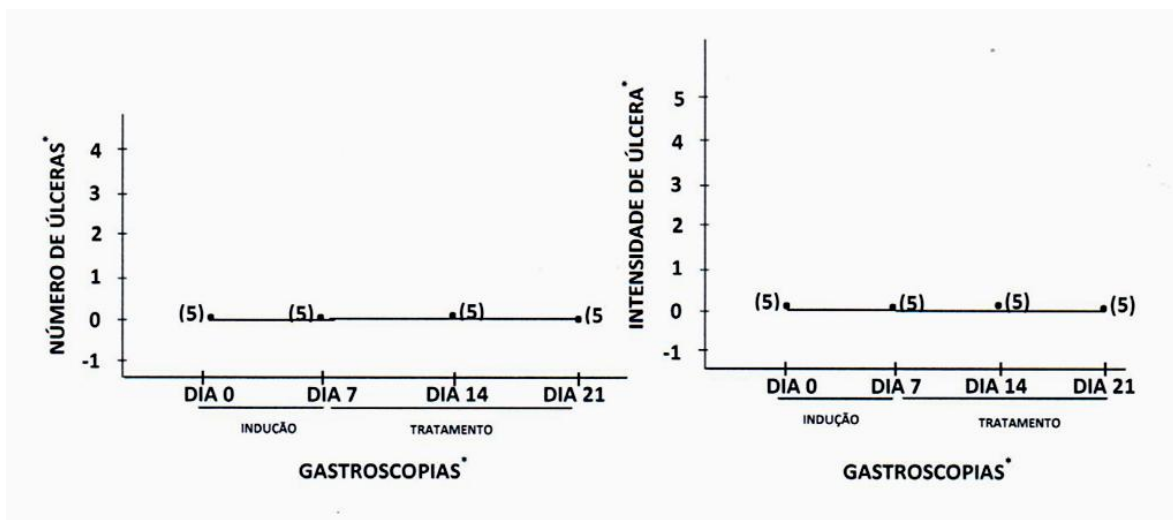


Figura 2. Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área não glandular da mucosa dos equinos do GI através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997).

Tabela 3. Classificação por número e intensidade, segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GII.

NÚMERO	Indução		Tratamento	
	Exame 1	Exame 2	Exame 3	Exame 4
0	3	3	5	5
1	-	-	-	-
2	2	2	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
INTENSIDADE				
0	3	3	5	5
1	2	2	-	-
2	-	-	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

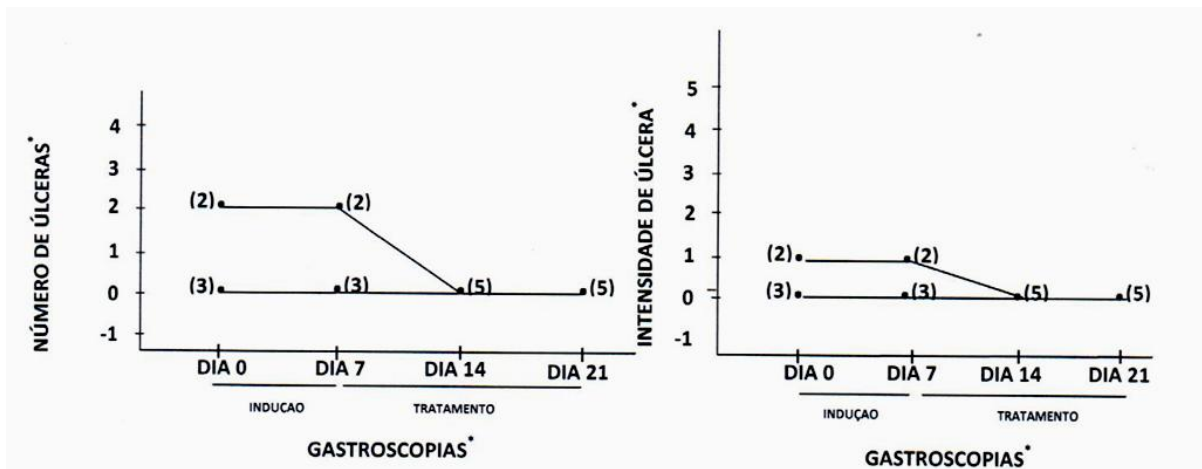


Figura 3. Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área glandular da mucosa dos equinos do GII através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997).

Tabela 4. Classificação por número e intensidade, segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área não glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GII.

NÚMERO	Indução		Tratamento	
	Exame 1	Exame 2	Exame 3	Exame 4
0	5	4	4	3
1	-	-	1	2
2	-	1	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
INTENSIDADE				
0	5	4	4	3
1	-	1	-	2
2	-	-	1	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

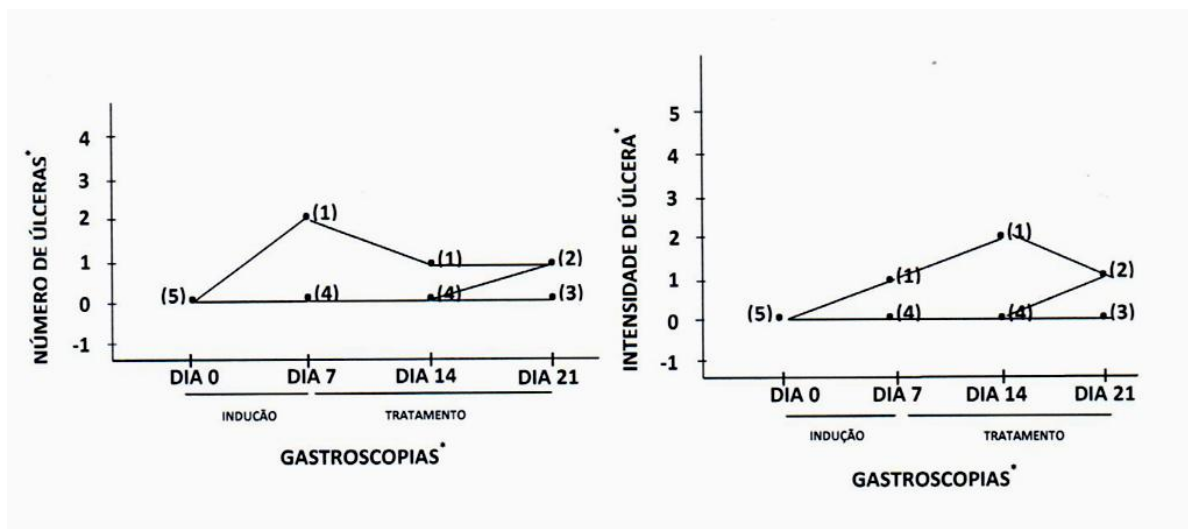


Figura 4. Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área não glandular da mucosa dos equinos do GII através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997).

Tabela 5. Classificação por número e intensidade, segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GIII.

NÚMERO	Indução		Tratamento	
	Exame 1	Exame 2	Exame 3	Exame 4
0	4	2	4	5
1	1	1	1	-
2	-	2	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
INTENSIDADE				
0	4	2	4	5
1	1	2	1	-
2	-	1	-	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

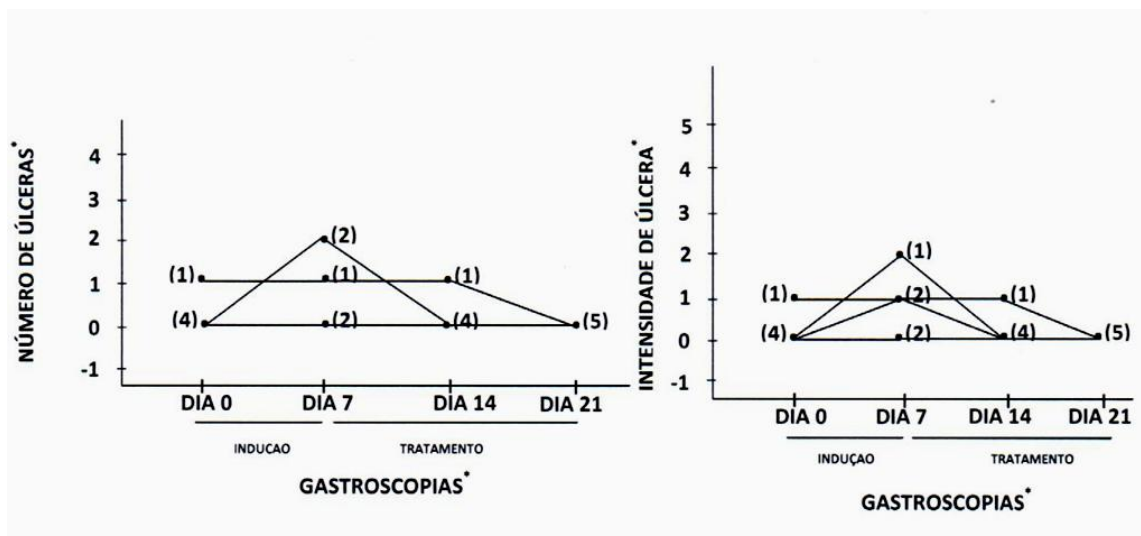


Figura 5. Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área glandular da mucosa dos equinos do GIII através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997).

Tabela 6. Classificação por número e intensidade, segundo MaCallister et al. (1997) das lesões ulcerativas presentes na área não glandular da mucosa gástrica determinadas pela gastroscopia nos períodos de indução (exame 1 e 2) e de tratamentos (exame 3 e 4) dos equinos do GIII.

NÚMERO	Indução		Tratamento	
	Exame 1	Exame 2	Exame 3	Exame 4
0	5	3	3	4
1	-	-	-	1
2	-	2	1	-
3	-	-	1	-
4	-	-	-	-
INTENSIDADE				
0	5	3	3	4
1	-	-	1	1
2	-	2	1	-
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-

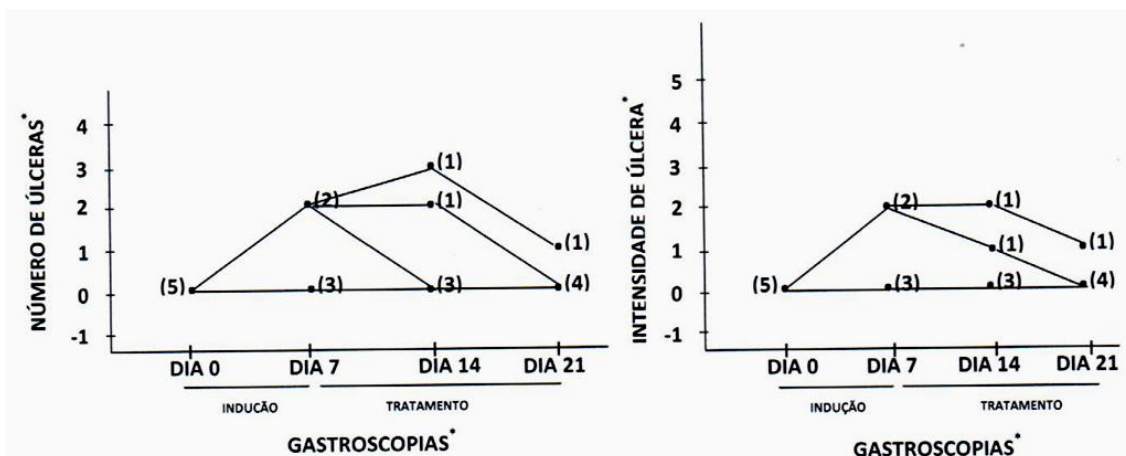


Figura 6. Dinâmica da evolução das úlceras gástricas na área não glandular da mucosa dos equinos do G III através do tempo experimental (períodos de indução e tratamento). As lesões ulcerativas foram classificadas por número e intensidade segundo MaCallister et al. (1997).

Tabela 7. Medianas do escore da classificação por número e intensidade das gastroscopias realizadas na área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos à indução de úlceras gástricas com FBZ e a tratamentos com óleo de milho (70-90ml/100kg nos G II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid) como controle (G1).

NÚMERO	Indução		Tratamento	
	Exame 1	Exame 2	Exame 3	Exame 4
I	1 (0-2)	1 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-0)
II	0 (0-2)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
III	0 (0-1)	1 (0-2)	0 (0-1)	0 (0-0)
INTENSIDADE				
I	1 (0-1)	1 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-0)
II	0 (0-1)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
III	0 (0-1)	1 (0-2)	0 (0-1)	0 (0-0)

Medianas iguais na linha pelo teste de Friedman ($p > 0,05$). Medianas iguais na coluna pelo teste de Kruskal-Wallis ($p > 0,05$).

Tabela 8. Medianas do escore da classificação por número e intensidade das gastroscopias realizadas na área não glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos à indução de úlceras gástricas com FBZ e a tratamentos com óleo de milho (70-90ml/100kg nos G II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid) como controle (G I).

NÚMERO	Indução		Tratamento	
	Exame 1	Exame 2	Exame 3	Exame 4
I	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
II	0 (0-0)	0 (0-2)	0 (0-1)	0 (0-1)
III	0 (0-0)	0 (0-2)	0 (0-3)	0 (0-1)
INTENSIDADE				
I	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)
II	0 (0-0)	0 (0-2)	0 (0-2)	0 (0-1)
III	0 (0-0)	0 (0-2)	0 (0-2)	0 (0-1)

Medianas iguais na linha pelo teste de Friedman ($p>0,05$). Medianas iguais na coluna pelo teste de Kruskal-Wallis ($p>0,05$).

Tabela 9. Medianas dos achados das análises histológicas (HeE) de biópsias da área glandular da mucosa obtidas pela gastroscopia de 15 equinos submetidos à indução de úlceras gástricas com FBZ e a tratamentos com óleo de milho (70-90ml/100kg nos GII e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid) como controle (GI).

Parâmetros	Grupo	Períodos de Coleta [†]			
		Indução 0	7	Tratamento 14 21	
PMNNs*	I	0 (0-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)
	II	1 (0-1)	1 (0-1)	1 (1-1)	1 (1-1)
	III	1 (0-1)	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (1-1)
DIFUSA*	I	0 (0-1)	1 (0-1)	1 (1-1)	1 (0-1)
	II	1 (0-1)	1 (0-1)	1 (1-2)	0 (0-1)
	III	1 (0-1)	1 (0-1)	1 (1-1)	1 (0-1)
FOCAL*	I	1 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-0)	1 (0-1)
	II	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-0)	0 (0-0)
	III	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-0)	1 (0-0)
MASTÓCITOS**	I	1 (1-2)	1 (1-1) B	2 (1-2)	1 (1-1) B
	II	1 (1-2)	2 (2-2) A	2 (2-2)	1 (1-1) B
	III	1 (1-1)	2 (2-2) A	2 (1-2)	2 (1-2) A
DIFUSA**	I	1 (1-1)	1 (0-1)	1 (0-1)	1 (0-1) B
	II	1 (1-1)	1 (1-1)	1 (0-1)	1 (0-1) B
	III	1 (1-1)	1 (0-1)	0 (0-1)	1 (0-1) A
FOCAL*	I	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)
	II	0 (0-0)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)
	III	0 (0-0)	0 (0-1)	1 (0-1)	0 (0-1)
MACROFAGOS*	I	1(1-2)	2 (1-2)	1 (1-2)	2 (1-2)
	II	1 (0-1)	2 (0-2)	2 (2-2)	1 (1-2)
	III	1 (0-2)	1 (1-2)	2 (2-2)	2 (1-2)

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). * Medianas iguais na linha pelo teste de Friedman ($p>0,05$). Medianas iguais na coluna de Kruskal-Wallis ($p>0,05$). ** Medianas iguais na linha pelo teste de Friedman ($p>0,05$). Medianas seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna representam diferença pelo método de Dunn ($p<0,05$) para comparação de grupos no teste de Kruskal-Wallis ($p<0,05$). PMNNs: Polimorfonucleados neutrófilos.

2. DISCUSSÃO

Terapias a base de AINEs não seletivos são amplamente utilizada nos equinos, apesar de seus efeitos colaterais sobre a mucosa glandular do estômago dos equinos serem descritos amplamente na literatura. Além dos efeitos gastrintestinais, alterações renais também já foram relacionadas com sobredoses destes medicamentos, sem descartar-se a possibilidade de serem induzidas com doses recomendadas. Isto pelo sinergismo de fatores que potencializam os efeitos colaterais destas moléculas. Porém os protocolos de doses e frequência de administração utilizados nos dois protocolos de indução neste trabalho foram capazes de causar lesões limitadas na mucosa gástrica sem complicações em outros segmentos intestinais ou outros órgãos.

A maior presença de úlceras na área glandular da mucosa na primeira gastroscopia foi um achado contrário aos reportados na literatura, uma vez que se relata uma maior predisposição na área não glandular da mucosa. Pode ser que nos animais estudados estavam ausentes os efeitos cáusticos do ácido clorídrico e aumento do nível de enchimento gástrico, descrito em cavalos atletas (Lorenzo-Figueras et al., 2002; Bell et al., 2007). Os resultados deste trabalho sinalizam para o envolvimento de outros fatores geradores de estresse a que foram submetidos os animais e conseqüentemente, alteraram os mecanismos de defesa da área glandular da mucosa.

Por outro lado, a primeira avaliação endoscópica evidenciou presença de úlceras antes do início da indução. Possivelmente, o desenvolvimento destas lesões ocorreu durante o período de adaptação como foi reportado por Graaf-Roelfsema et al. (2010), devido a situações de estresse geradas pelo confinamento e das mudanças de manejo e ambiente, circunstâncias que foram comuns

a todos os animais, e são reconhecidas pelos potenciais efeitos ulcerogênicos (Jonsson e Egenvall 2006; Luthersson et al., 2009b), uma vez que eram animais criados soltos a pasto. A combinação de todos esses fatores gerou diferentes escores no sistema de classificação das úlceras para todos os grupos tratados. A adequada condição clínica e a ausência de sinais clínicos de ulcerações gástricas permitiram que os grupos fossem distribuídos ao acaso no princípio do experimento, embora tenha se descrito uma correlação variável entre estes aspectos (Murray e Grodinsky, 1989).

Devido ao efeito dos AINEs no estômago, foi mais frequente a ocorrência de ulcerações na mucosa glandular após sete (7) dias nos grupos tratados com a FBZ. Também ocorreram processos inflamatórios na mucosa não glandular, que certamente foi afetada secundariamente por este fármaco, como o descrito por Merritt (2003). Pelos resultados obtidos neste trabalho, as ulcerações foram mais frequentes no grupo que recebeu maior dose e número de administrações, ou seja, certamente a mucosa respondeu segundo a quantidade da FBZ utilizada, como se evidenciou nos animais do G III e se constatou nos do GII que só recebeu uma sobredose. Porém não foi determinada diferença estatística dos achados gastroscópicos. Embora tenha sido demonstrado que a ocorrência de ulcerações gástricas também obedeceu a efeitos do confinamento e mudanças de manejo, pela presença de lesões no GI que não receberam FBZ, como foi descrito anteriormente, esta presença não mostrou significância entre os grupos avaliados.

Os equinos tratados com óleo de milho receberam entre 245 e 332ml de óleo/dia, o equivalente a 107,42 e 145,57gramas/dia de ácido linoléico respectivamente. Este ácido graxo essencial tem benefícios terapêuticos em várias entidades patológicas, tanto em seres humanos como em animais. No cavalo tem sido utilizado com objetivos nutricionais

e esportivos, além de apresentar efeitos na modulação da resposta inflamatória e imune (Hall et al., 2004b). O óleo de milho utilizado nas duas doses para o tratamento das ulcerações induzidas neste estudo mostrou efeitos positivos. Embora os dois grupos tenham atingido a resolução das úlceras, aparentemente a dose de 70ml/100kg mostrou um resultado mais rápido, entretanto os graus da classificação iniciais das úlceras foram menores que do grupo tratado com 90ml/100kg de óleo de milho. A ausência de alterações clínicas e laboratoriais importantes nos Gs tratados frente ao G controle reforça a aumentada margem de tolerabilidade do óleo na espécie equina (Junior et al., 2003), para ser utilizado de acordo com a complexidade do quadro da SUGE.

A biópsia obtida para análises histológicas não foi representativa da mucosa gástrica em sua totalidade, já que as lesões neste tecido podem ser multifocais e heterogêneas, requerendo no mínimo entre seis (6) e oito (8) amostras por superfície gástrica, além de incluir para sua interpretação mucosa e submucosa (Mansell e Willard, 2003). Porém neste estudo foram colhidas sete (7) biópsias da área glandular, mas só uma delas para fins histológicos. A endoscopia revelou a boa capacidade de cicatrização das lesões induzidas no ato das biópsias e a segurança do procedimento para o órgão da amostragem, resultados de acordo com os reportados por Rodriguez et al. (2009).

Apesar da limitação devido ao número de amostras, as análises histológicas mostraram que a intensidade das lesões induzidas oscilou entre superficial e profunda, correspondendo à classificação gastroscópica adotada (grau 1 e 2). Além disso, a celularidade e infiltrado inflamatório ficaram entre discreta e moderada com um padrão de distribuição difuso na maioria dos grupos e tempos de avaliação. Nestas

condições não foram evidenciadas células inflamatórias no escore intenso, o que concorda com a baixa intensidade das lesões e possivelmente a não apresentação de sinais clínicos nestes animais, apesar da correlação entre a manifestação clínica e a intensidade das lesões seja variável (Murray e Grodinsky, 1989).

A presença das células inflamatórias nos cortes histológicos não foi influenciada pelos tratamentos nem pelos períodos de avaliações, a exceção dos mastócitos que aumentaram na indução com FBZ, com persistência até o final do experimento no grupo que recebeu maior quantidade deste AINE, uma vez que estas células são as principais residentes no tecido gástrico. A dinâmica dos PMNNs e macrófagos corresponderam com o índice das enzimas MPO e NAG respectivamente. Possivelmente, o aumento da NAG e diminuição da MPO se relacionaram com a resolução das ulcerações. Entretanto, a queda dos PMNNs foi interpretada como um efeito benéfico na prevenção das lesões da mucosa nos grupos tratados com óleo de milho.

A presença de bactérias espiraladas do gênero *Helicobacter* em equinos com ulcerações gástricas acompanhadas com quadros inflamatórios foi descrita, mas a variabilidade nos diagnósticos de animais doentes e sadios faz com que seja controversa sua participação dentro a fisiopatologia da SUGE. Os quadros de gastrite crônica, gastrite crônica ativa e gastrite eosinofílica crônica tem sido descritos em equinos com ulcerações de intensidade diversa (Cardona et al., 2009). Porém, as análises dos equinos estudados foram negativas para a presença desta bactéria, fato correlacionado com a ausência de padrões característicos da resposta inflamatória descrita na literatura.

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A presença de lesões inflamatórias e ulcerativas nos equinos dos GII e III que receberam a FBZ indicou a não plena expressão dos mecanismos de gastroproteção e gastroadaptação, respectivamente, da mucosa contra este AINE na faixa posológica e frequência utilizadas. Este fato se relaciona com as diferenças não significativas entre as demais variáveis avaliadas. Por outro lado, alguns resultados obtidos podem explicar de certo modo o impacto deste fármaco sobre a

mucosa, quando se faz a comparação com o G controle.

Os Gs II e III que receberam como tratamento o óleo de milho restabeleceram a mucosa glandular ulcerada, apesar da ausência de diferença estatística entre os escores dos achados gastroscópicos avaliados. Esse efeito certamente envolveu várias vias de mecanismos celulares, bioquímicos e enzimáticos que interagem de forma direta e indireta na mucosa, que serão apresentados e discutidos nos próximos capítulos.

CAPITULO IV

EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS

AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO GÁSTRICO

1. Resultados

Os resultados das variáveis analisadas no conteúdo gástrico estão relacionados nas tabelas 1, 2 e 3. A extração da fase líquida do conteúdo gástrico através do canal de trabalho do gastrosκόpio com uma sonda ureteral auxiliar para a sucção apresentou certas dificuldades em alguns cavalos, pela obstrução com material sólido do estreito canal, apesar da visualização e localização oferecida pelo endoscópio. Mas, foi possível recolher a quantidade suficiente de material em todos os equinos nas coletas programadas para as análises previstas.

As concentrações de PGE₂ nos três grupos e dentro dos períodos avaliados (indução e tratamento) não apresentaram diferenças ($p>0,05$), mas evidenciaram tendência de aumento nos grupos tratados com óleo de milho, assim como também um leve aumento ao final do período de indução. O cálculo da concentração final da PGE₂ em cada coleta, foi obtida através da curva padrão apresentada na Figura 1. O intervalo da produção média nestes cavalos oscilou entre 827 e 2261pg/ml de PGE₂.

A avaliação do pH do conteúdo gástrico mostrou um comportamento contrário à PGE₂, mas também sem significância estatística entre os grupos e períodos de

coleta. Mas o pH foi menor ao final dos tratamentos a base de óleo de milho, quando comparando ao grupo controle. A FBZ causou alterações de pouca relevância nos grupos induzidos. As concentrações de AGVs foram afetadas em diferente forma em cada tratamento e período avaliado com amplas faixas de variação.

Os ácidos acético e butírico foram os mais abundantes no conteúdo (2,32-3,80 e 1,64-2,39mmol/L respectivamente) e não apresentaram interação entre os tratamentos e os períodos de coleta. Porém, a média marginal nos períodos o ácido acético mostrou diminuir significativamente no último período, quando comparado com a concentração na indução e início dos tratamentos. Entretanto o ácido butírico na média geral nos tratamentos foi menor no GIII em relação aos outros grupos. O ácido propiónico foi diferente no final do tratamento se comparado com o valor de início da indução no G I e para o G II no tempo 14 do tratamento. A concentração do ácido acético foi diferente ($p<0,05$) nos grupos tratados com o óleo de milho. Em geral, os AGVs apresentaram menor concentração nos grupos tratados com óleo de milho frente ao tratado com sucralfato, igualmente o esquema de indução das úlceras influenciou nos valores iniciais destes AGVs.

Tabela 1. Médias (\pm DPM) da concentração de PGE₂ (pg/ml) do conteúdo gástrico de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI).

Grupos	Períodos de coleta [†]				
	Indução 0	7	14	21	Média
I	1940,41 \pm 1519,96	2261,00 \pm 1872,47	1960,41 \pm 2262,77	1826,74 \pm 1205,13	1997,14 \pm 273,60
II	827,89 \pm 453,50	939,56 \pm 688,28	1317,34 \pm 846,24	909,61 \pm 544,97	998,6 \pm 217,67
III	1264,69 \pm 967,11	1501,19 \pm 834,94	1476,54 \pm 901,95	1756,29 \pm 1332,04	1499,51 \pm 201,33
Média	1344,1 \pm 560,52	1567,25 \pm 663,19	1584,76 \pm 334,91	1419,29 \pm 448,98	-

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). Médias iguais pelo teste Tukey (p>0,05).

Tabela 2. Medias (\pm DPM) da mensuração do pH do fluido gástrico de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, G I).

Grupos	Períodos de coleta [†]				
	Indução 0	7	14	21	Média
I	3,31 \pm 0,97	4,01 \pm 1,31	2,91 \pm 1,75	3,88 \pm 1,80	3,53 \pm 0,51
II	2,79 \pm 1,62	3,10 \pm 1,25	3,77 \pm 1,89	2,38 \pm 1,06	3,01 \pm 0,59
III	3,05 \pm 1,78	3,59 \pm 2,07	3,48 \pm 2,20	2,69 \pm 2,32	3,20 \pm 0,41
Média	3,05 \pm 0,26	3,57 \pm 0,46	3,38 \pm 0,44	2,98 \pm 0,79	-

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). Médias iguais pelo teste t (p>0,05).

Tabela 3. Médias (\pm DPM) (ácidos acético e butírico) e medianas (ácidos propiônico e láctico) da concentração de ácidos graxos voláteis (AGVs) de amostras de conteúdo gástrico de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, G II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI).

AGVs	Grupo	Períodos de coleta [†]				
		Indução 0	7	14	21	Média
Acético* (mmol/L)	I	3,80 \pm 1,27	2,82 \pm 0,04	2,92 \pm 0,10	2,32 \pm 0,01	2,96 \pm 0,61
	II	3,20 \pm 0,09	2,79 \pm 0,05	3,04 \pm 0,02	2,39 \pm 0,01	2,86 \pm 0,35
	III	3,44 \pm 0,70	2,85 \pm 0,05	2,72 \pm 0,04	2,46 \pm 0,02	2,87 \pm 0,41
	Média	3,47 \pm 0,30A	2,82 \pm 0,03B	2,89 \pm 0,16B	2,39 \pm 0,07C	-
Butírico** (mmol/L)	I	2,39 \pm 0,04	2,00 \pm 0,01	1,86 \pm 0,01	1,83 \pm 0,01	2,02 \pm 0,26a
	II	1,61 \pm 0,02	2,12 \pm 0,01	1,88 \pm 0,01	1,83 \pm 0,02	1,86 \pm 0,21ab
	III	1,98 \pm 0,02	1,70 \pm 0,01	1,64 \pm 0,01	1,76 \pm 0,01	1,77 \pm 0,15b
	Média	1,99 \pm 0,39	1,94 \pm 0,22	1,79 \pm 0,13	1,81 \pm 0,04	-
Propiônico (mmol/L)***	I	0,12(0,02-0,31)aA	0,02(0,01-0,05)ab	0,02(0,01-0,05)ab	0,0015(0-0,01)b	-
	II	0,01(0,01-0,05)abB	0,02(0,01-0,02)ab	0,03(0,01-0,05)a	0,01(0-0,01)b	-
	III	0,07(0,08-0,22)aAB	0,01(0,0010-0,05)a	0,012(0,01-0,13)a	0,01(0-0,041)a	-
Lático (mmol/L)***	I	0,08(0,05-0,28)	0,05(0,03-0,06)	0,06(0,43-0,09)	0,05(0,04-2,02)	-
	II	0,04(0,03-0,06)b	0,61(0,01-0,12)ab	0,07(0,06-0,09)ab	0,10(0,06-0,13)a	-
	III	0,08(0,02-0,40)a	0,05(0,03-0,06)a	0,10(0,06-0,27)ab	0,07(0,06-0,104)b	-

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). *Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha representam diferença pelo teste Tukey (p<0,05). **Médias seguidas de letras distintas minúsculas na coluna representam diferença pelo teste t (p<0,05). ***Medianas seguidas de letras minúsculas distintas na linha representam diferença pelo método de Dunn (p<0,05) para comparação de grupos no teste de Friedman (p>0,05); Medianas seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna representam diferença pelo método de Dunn (p<0,05) para comparação de grupos no teste de Kruskal-Wallis (p<0,05).

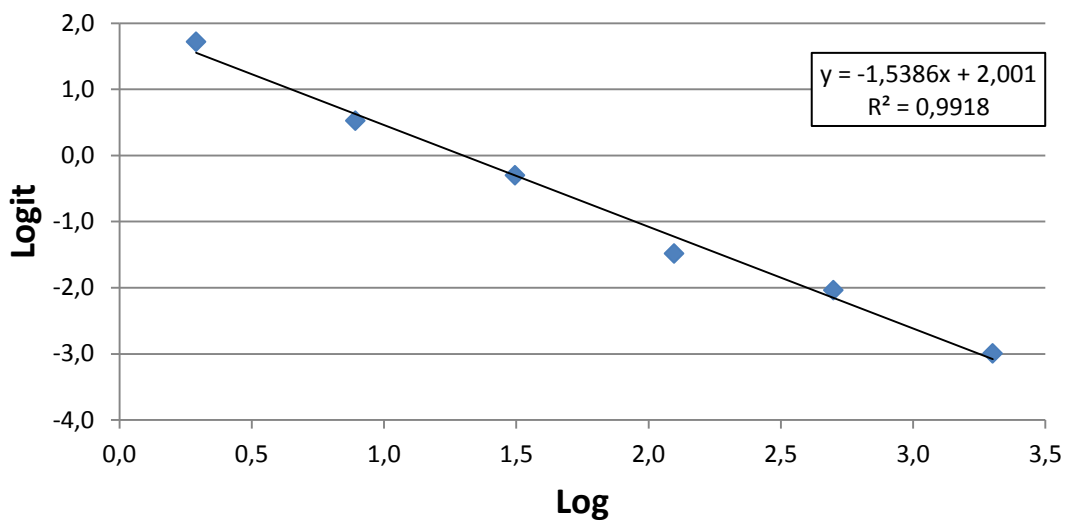


Figura 1. Curva padrão utilizada para a mensuração da concentração de PGE₂ do conteúdo gástrico de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, G I).

2. Discussão

O estudo das secreções e conteúdo gástrico tem sido utilizado no entendimento da fisiopatologia da SUGE e em estudos do ecossistema gástrico. O método utilizado neste trabalho foi empregado em vários outros (Sojka et al., 1991), com dificuldades semelhantes às obtidas neste estudo. Apesar da visualização para o posicionamento do extremo do gastrosκόpio dentro do lume, o reduzido diâmetro do canal do trabalho impossibilita a coleta de grandes volumes de amostras em períodos pós-prandial, embora estes animais tenham sido coletados em jejum. Outra vantagem é que é um método pouco invasivo útil para amostragem da fase líquida do suco gástrico (Varloud et al., 2007b).

A inibição das PG citoprotetoras devido ao bloqueio das ciclooxigenases (COXs) tem sido relacionada com os efeitos colaterais dos AINEs na mucosa gástrica. Apesar das evidências destes efeitos adversos por

depleção de PG, um recente estudo concluiu que não há alteração na expressão dos genes da COX_{1,2} após a administração oral de FBZ (Nieto et al., 2012). Neste estudo, a queda na concentração de PGE₂ após administração de FBZ não aconteceu, possivelmente o aumento deste prostanóide foi devido à sobre expressão de COX constitutiva e induzível em ambas mucosas pelo efeito das lesões ou processo cicatricial das mesmas (Morrissey et al., 2010). Contudo, se sugere outras possíveis vias de lesão na mucosa gástrica derivadas do uso dos AINEs (Naito et al., 1998; Polat et al., 2010).

Os óleos vegetais têm ampla utilização em equinos como suplemento energético pela alta digestibilidade e tolerância nos cavalos, demonstrado por pesquisas (Junior et al., 2003). Além do que, foi descrito no trato gastrointestinal de ratos e humanos os efeitos antiinflamatórios e anti-ulcerogênico baseado pelo aumento de prostanóides endógenos (Grant et al., 1988; Mandel et al., 1994; Sammon e Iputo, 2006). Nos equinos,

o óleo de milho diminuiu a produção de ácido clorídrico e aumentou o sódio e PGE₂ do estômago, com mucosa hígida (Cargile et al., 2004). Contudo, Frank et al. (2005) determinaram a não prevenção de úlceras na área não glandular da mucosa induzidas com dietas ulcerogênicas. O presente trabalho confirmou em parte este fato, uma vez que não houve cicatrização das úlceras nesta área da mucosa, apesar que os modelos de indução foram diferentes e se objetivou resolução e não prevenção das lesões como em outros trabalhos.

Dentre os principais constituintes do óleo de milho, encontram-se em alta proporção o ácido graxo poliinsaturado linoléico com alto potencial de ser precursor do ácido araquidônico e, por conseguinte de aumentar a produção de PGE₂ intragástrica, fato demonstrado em ratos (Grant et al., 1988), humanos (Sammon e Iputo, 2006) e equinos (Cargile et al., 2004). Neste trabalho, possivelmente os efeitos gastroprotetores desta PG predominaram na cicatrização das úlceras na área glandular da mucosa, devido ao aumento nos grupos tratados com óleo de milho comparado com o controle, apesar de ausência de diferenças significativas. Porém, o pH do conteúdo gástrico, relacionado diretamente com a PGE₂ diminuiu em todos os grupos, mas também sem diferenças significativas. Isso pode ser devido a influências do tempo de jejum determinado para as avaliações gastroscópicas ao que se recomenda mensurações do pH intragástrico e em intervalos de tempo mais curtos antes e depois da privação do alimento.

Por outro lado, tem sido demonstrada alta expressão de PGE₂ a partir de precursores como o ácido linoléico, em dietas com deficiências de riboflavina, lipídeos e com baixo conteúdo de ácido graxo ômega-3. Mas neste trabalho não foram analisados os componentes da dieta, para avaliar as possíveis interações com a concentração de PGE₂ induzida pelo óleo de milho utilizado, para explicar a ausência de significância

entre os tratamentos, contudo estima-se que este óleo contém 60% de ácido linoléico. No entanto, neste estudo os cavalos receberam 4.3 – 5.8 vezes mais a quantidade de ácido linoléico utilizada em pôneis saudáveis por Cargile et al. (2004), indicando diferenças nos modelos utilizados.

A proximidade na concentração de PGE₂ entre os grupos tratados com o óleo de milho e o controle que recebeu sucralfato, pode ser explicada pelos efeitos gastroprotetores demonstrados deste último ao aumentar a produção da PG, mucosidade e reagir com o ácido clorídrico (Gulcan et al., 2012), contribuindo desta maneira para a presença de um pH mais elevado e a resolução das úlceras neste grupo. Porém se deve levar em conta na comparação, o escore discreto de ulcerações iniciais ao não receber FBZ para a indução, além disso o uso de sucralfato deve ser utilizado no mínimo três vezes por dia.

Outros estudos também enfatizaram no uso de componentes da dieta para a prevenção e tratamento da SUGA. Nadeau et al. (2000) e Craig (2007) determinaram a capacidade anti-ulcerogênica do feno de alfalfa pelo efeito tamponante no conteúdo gástrico ao aumentar o pH e a concentração de AGVs. Por outro lado, Hayes et al. (2009) não demonstraram os efeitos de um suplemento com traços minerais (Zn, Mn, Cu e Co) na resolução de úlceras gástricas, porém o uso de Zn mostrou eficiência na proteção e cicatrização de úlceras em ratos (Opoka et al., 2010). Igualmente, Cargile et al. (2004) utilizaram o óleo de milho e Frank et al. (2005) o óleo de arroz e milho, onde determinaram utilidade somente para ulcerações na área glandular da mucosa, sendo similares estes resultados aos obtidos neste trabalho.

A concentração de AGVs total no conteúdo gástrico dos equinos deste trabalho foi maior à reportada por Frank et al. (2005) ao utilizarem preventivamente o óleo de milho e de arroz para lesões causadas por manejo

alimentar ulcerogênico, contudo menor ao reportado sobre dietas à base de ração e feno de alfalfa (Nadeau et al., 2000). As diferenças nestes resultados podem derivar-se de fatores pouco controlados nestas pesquisas. A concentração de AGVs diminuiu acentuadamente cinco (5) horas após de cada refeição, neste estudo as análises foram feitas depois de 12-14 horas de jejum, o efeito diluente do consumo de água teve tempo variável de restrição antes das gastroscopias e além disso a produção de AGVs depende do tipo, qualidade e quantidade da alimentação, fator que variou amplamente entre estes trabalhos.

O envolvimento de AGVs no desenvolvimento das úlceras depende do pH no lúmen gástrico. Especificamente em pH <4 estes ácidos acentuam as alterações na área não glandular da mucosa (Nadeau et al., 2003ab). Neste trabalho, possivelmente a perpetuação das lesões na área aglandular da mucosa foram derivadas da não ionização dos AGVs analisados (acético, butírico e propiônico), pelo pH baixo do conteúdo gástrico e aumento na concentração destes nos grupos tratados com óleo de milho. A princípio estas lesões foram induzidas indiretamente pela FBZ na mucosa, de acordo com Merritt (2003).

O ácido acético apresentou a maior concentração (59%) no conteúdo gástrico, dado similar a outros estudos, e menor que 85% determinado em cavalos tratados também com óleo de milho e de arroz (Frank et al., 2005). Entretanto este ácido causa lesões discretas à mucosa gástrica. Diferente do reportado por Frank et al. (2005), o ácido butírico nos animais deste estudo apresentou concentrações de 40% frente ao 2,2% da concentração total de AGVs reportada por estes autores. Estudos

in vitro demonstraram um maior efeito lesivo do ácido butírico sobre a área não glandular da mucosa (Nadeau et al., 2003a). Pelas condições apresentadas, possivelmente o ácido butírico teve envolvimento nas ulcerações presente nesta área da mucosa dos animais estudados. O ácido propiônico apresentou efeito gastrolesivo mediano, enquanto o ácido láctico não alterou significativamente as características bioelétricas da área não glandular da mucosa *in vitro* (Andrews et al., 2008), sendo o efeito relacionado com a quantidade e tempo de exposição da mucosa, porém nos animais deste trabalho as concentrações foram menores às descritas, indicando baixa participação na presença das úlceras.

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A determinação da concentração de PGE₂ no conteúdo gástrico mostra uma produção geral deste prostanoide na mucosa gástrica, quando comparado com a mensuração a partir de uma pequena fração da mucosa (Cargile, et al., 2004), porém a origem desta PG se deve determinar pela expressão das COXs constitutiva e induzível, para avaliar a capacidade indutora do ácido linoléico contido no óleo de milho.

Devido à instabilidade nas concentrações das variáveis analisadas no conteúdo gástrico, se sugere mensurações mais contínuas e a curtos períodos de tempo, devido à elevada dinâmica das fases de esvaziamento gástrico e as mudanças dos componentes do fluido gástrico que poderiam ter intervindo nos resultados finais. Igualmente, se devem considerar os componentes das dietas já que podem influir na composição do conteúdo gástrico a analisar.

CAPITULO V

EFEITOS DO ÓLEO DE MILHO E DO SUCRALFATO EM EQUINOS PORTADORES DE ÚLCERAS GÁSTRICAS

PARÂMETROS ANTIOXIDANTES - OXIDANTES

1. Resultados

Os valores dos parâmetros antioxidantes e oxidantes encontram-se na Tabela 1 e Figura 1 a 3 e na Tabela 2 e Figura 4 a 6 respectivamente. Estes apresentaram respostas variáveis entre os tempos avaliados em cada grupo. Entretanto, os grupos submetidos à indução das úlceras com a FBZ mostraram maior variação nestes parâmetros. Todos os grupos apresentaram dinâmicas em resposta a outros fatores além do AINE. Ao final do experimento, estes parâmetros mostraram redução na concentração ou atividade segundo a variável, a exceção do ON nos Gs I e II, NAG nos três grupos e do MDA nos Gs II e III que apresentaram aumento.

As variáveis CAT, ON e MPO não tiveram interação entre grupos e tempos, mas nas

médias marginais das colunas (tempos) mostraram uma diminuição ($p < 0,05$) no período 21, se comparado com o inicial (período 7). A atividade da enzima SOD só mostrou diminuição significativa nos Gs I e II entre os períodos avaliados. Entretanto, a NAG apresentou aumento significativo nos grupos tratados com óleo de milho (II e III). O MDA apresentou diferença significativa entre os períodos de tratamento de todos os grupos, porém com um maior aumento nos tratados com óleo de milho. Não foram determinadas concentrações de GSH maiores ou iguais a $25\mu\text{M}/\text{mg}$ de tecido neste trabalho, sendo este o menor ponto da curva padrão ($R^2 = 0,997$) (Figura 7). As curvas padrão utilizadas para a mensuração da concentração de ON e MDA em todos os grupos e períodos de coletas encontra-se nas Figuras 8 e 9 respectivamente.

Tabela 1. Médias (\pm DPM) (CAT e ON) e mediana (SOD) dos parâmetros antioxidantes da área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70-90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/TID, GI).

Parâmetro	Grupo	Períodos de coleta [†]				Média
		Indução 0	7	Tratamento 14	21	
CAT* (Uni./mg/pt)	I	15,69 \pm 5,51	77,62 \pm 107,13	36,74 \pm 29,59	11,97 \pm 5,33	35,51 \pm 30,12
	II	32,32 \pm 22,41	24,66 \pm 15,11	32,84 \pm 18,13	9,96 \pm 3,80	24,95 \pm 10,67
	III	23,77 \pm 10,69	20,65 \pm 7,08	23,53 \pm 15,02	17,60 \pm 11,47	31,8 \pm 2,90
	Média	23,96 \pm 8,32A	40,98 \pm 31,80A	31,04 \pm 6,79A	13,17 \pm 3,96 B	-
ON* (μ mol/ml)	I	4,49 \pm 1,08	2,94 \pm 1,29	2,34 \pm 1,54	2,64 \pm 1,84	3,10 \pm 0,96
	II	4,41 \pm 1,13	3,54 \pm 0,94	3,39 \pm 0,66	3,63 \pm 1,35	3,74 \pm 0,46
	III	4,35 \pm 0,84	3,67 \pm 1,05	3,19 \pm 0,52	3,07 \pm 1,80	3,57 \pm 0,58
	Média	4,42 \pm 0,07 A	3,39 \pm 0,39 A	2,97 \pm 0,56 B	3,11 \pm 0,50 B	-
SOD** (Uni./mg/pt)	I	14 (10,4-24,9)ab	34,7 (9,3-267,9)aA	3,8 (2,1-4,3)ab	2,4 (0,4-3,2)b	-
	II	8,8 (3,2-25,6)ab	10,8 (3,6-22,8)aAB	3,3 (1,8-4)ab	2,3 (1,4-2,5)b	-
	III	5,3 (3,2-10,1)	3,2 (2,2-11,8)B	4,1 (2,5-8,5)	3,3 (1,80-5,1)	-
GSH (μ M/mg/te)	I	0	0	0	0	0
	II	0	0	0	0	0
	III	0	0	0	0	0

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). *Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha representam diferença pelo teste t ($p < 0,05$). **Medianas seguidas de letras minúsculas distintas na linha representam diferença pelo método de Dunn ($p < 0,05$) para comparação de grupos no teste de Friedman ($p < 0,05$); medianas seguidas de letras maiúsculas distintas na coluna representam diferença pelo método de Dunn ($p < 0,05$) para comparação de grupos no teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). CAT: catalase; ON: óxido nítrico; SOD: superóxido dismutase; GSH: glutatona total; Uni.: Unidades; mg/Pt: miligrama de proteína total; mg/te: miligrama de tecido.

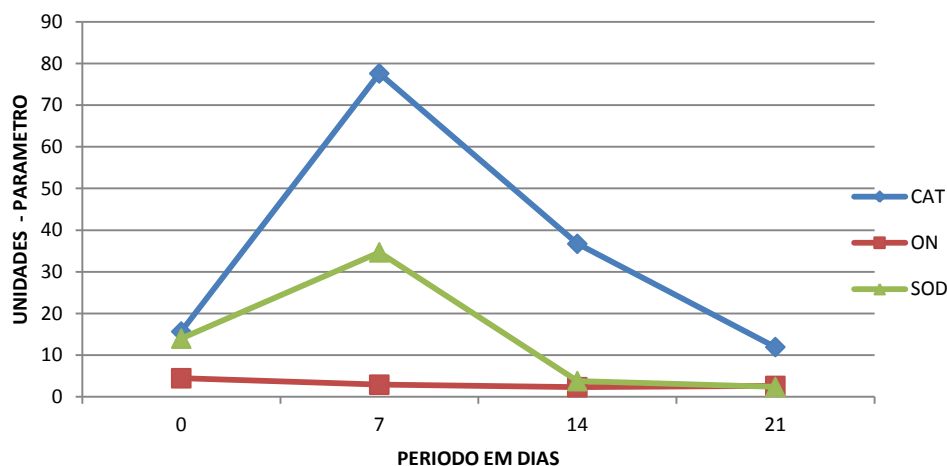


Figura 1. Dinâmica dos parâmetros antioxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos considerados controle (GI) na primeira fase experimental (sem indução de úlceras) e tratados na segunda fase com sucralfato (30mg/kg/vo/TID). CAT: Catalase (Uni./mg/pt); ON: óxido nítrico (μ mol/ml); SOD: superóxido dismutase (Uni./mg/pt).

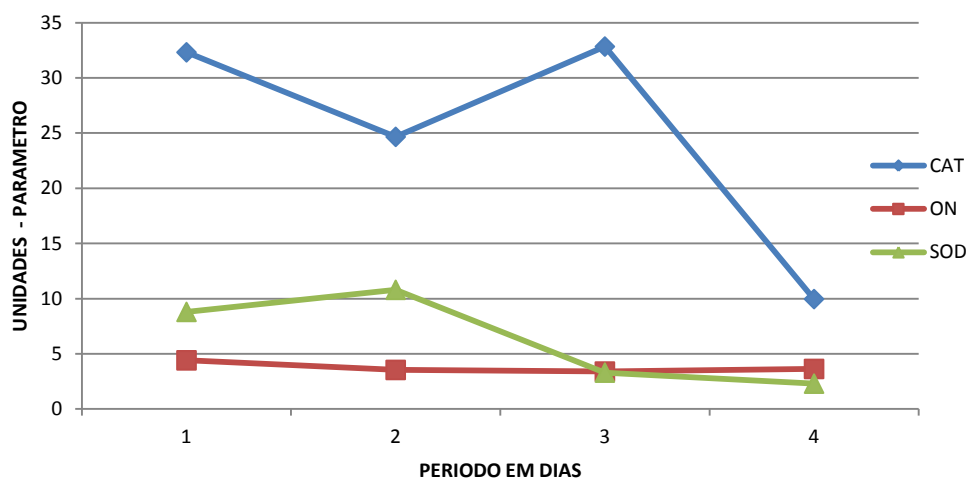


Figura 2. Dinâmica dos parâmetros antioxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos submetidos à indução de úlceras com FBZ (sobre dose única) na primeira fase experimental e tratados na segunda fase com óleo de milho (70ml/100kg/BID), GII. CAT: Catalase (Uni./mg/pt); ON: óxido nítrico (µmol/ml); SOD: superóxido dismutase (Uni./mg/pt).

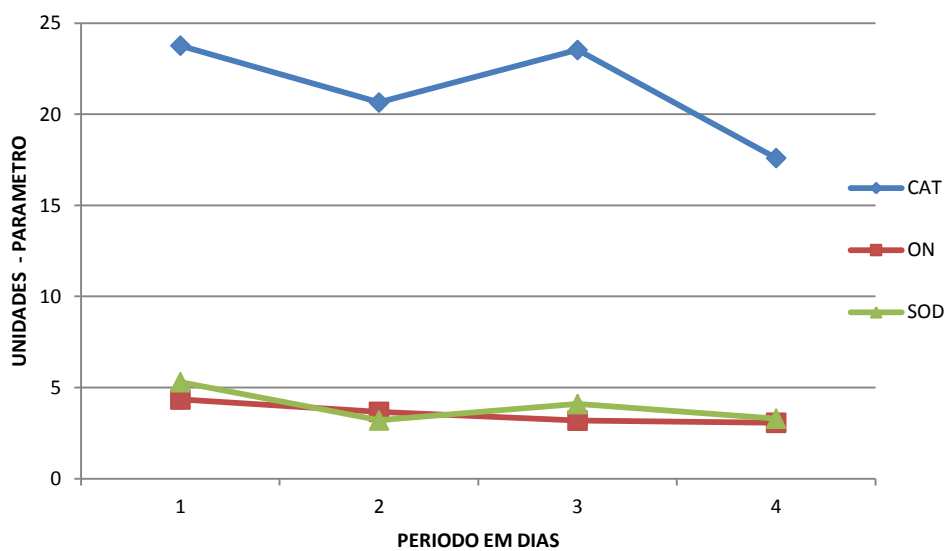


Figura 3. Dinâmica dos parâmetros antioxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos submetidos à indução de úlceras com FBZ (doses terapêuticas contínuas + sobre dose única) na primeira fase experimental e tratados na segunda fase com óleo de milho (90ml/100kg/BID), GIII. CAT: Catalase (Uni./mg/pt); ON: óxido nítrico (µmol/ml); SOD: superóxido dismutase (Uni./mg/pt).

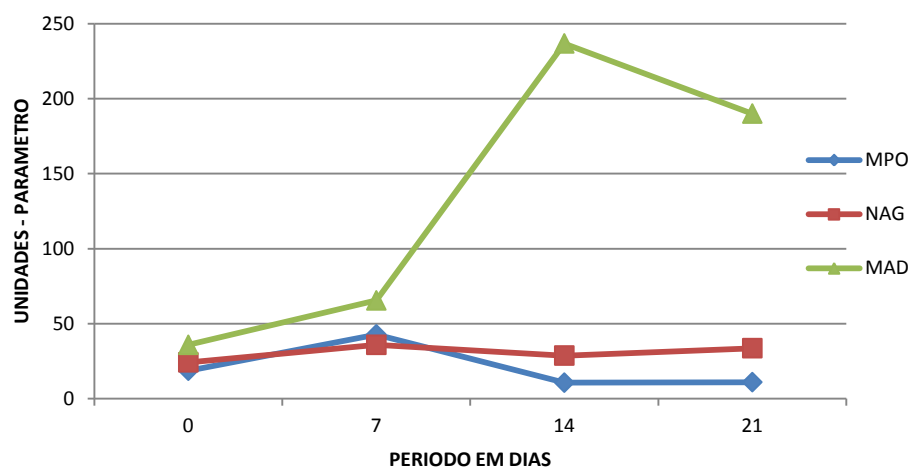


Figura 4. Dinâmica dos parâmetros oxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos considerados controle (GI) na primeira fase experimental (sem indução de úlceras) e tratados na segunda fase com sucralfato (30mg/kg/vo/TID). MPO: mieloperoxidase (DO/mg/te); NAG: n-acetilglicosaminidase (DO/mg/te); MDA: malondialdeído (µg/ml).

Tabela 2. Médias (\pm DPM) dos parâmetros oxidantes da mucosa glandular gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70-90ml/100Kg/vo/bid, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/TID, GI).

Parâmetro	Grupo	Períodos de coleta [†]				Média
		Indução 0	7	14	21	
MPO* (OD/mg/te)	I	18,63±15,05	42,85±40,61	10,68±3,14	11,01±4,06	20,79±15,16
	II	24,44±13,06	22,71±16,02	12,96±6,13	13,22±7,01	18,33±6,10
	III	33,34±17,24	19,68±9,79	23,29±19,20	11,44±12,01	21,94±9,08
	Média	25,47±7,41A	28,41±12,59A	15,64±6,72B	11,89±1,17B	-
NAG** (OD/mg/te)	I	24,22±19,35	35,88±16,51	28,73±15,37AB	33,64±19,21	-
	II	33,22±12,84ab	22,65±5,69b	21,33±11,75Bb	39,56±10,86a	-
	III	22,79±6,17b	20,76±1,35b	41,29±13,87Aa	49,85±11,68a	-
MDA** (µg/ml)	I	35,89±42,03cB	65,49±29,25bB	236,76±65,78a	190,02±41,01a	-
	II	46,64±34,42cAB	73,43±28,37bcAB	122,68±31,32ab	223,31±90,99a	-
	III	117,84±108,57bA	156,4±60,31bA	145,05±42,36ab	369,65±134,31a	-

[†]Períodos em dias: indução das úlceras (dia 0) e tratamento (7, 14, 21). *Médias seguidas de letras distintas maiúsculas na linha representam diferença pelo teste t ($p < 0,05$). **Médias seguidas de letras distintas minúsculas na linha e maiúsculas na coluna representam diferença pelo teste Tukey ($p < 0,05$). MPO: mieloperoxidase; NAG: n-acetilglicosaminidase; MDA: malondialdeído. DO/mg/te: densidade óptica por miligrama de tecido.

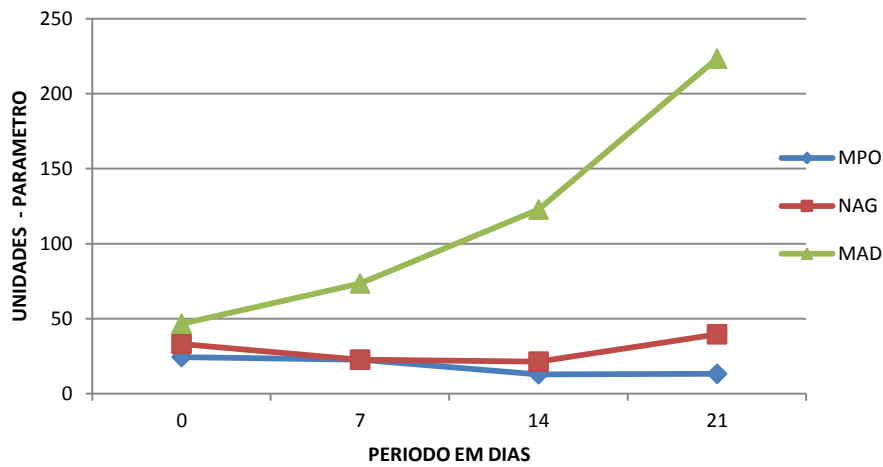


Figura 5. Dinâmica dos parâmetros oxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos submetidos à indução de úlceras com FBZ (sobre dose única) na primeira fase experimental e tratados na segunda fase com óleo de milho (70ml/100kg/BID), GII. MPO: mieloperoxidase (DO/mg/te); NAG: n-acetilglicosaminidase (DO/mg/te); MDA: malondialdeído (µg/ml).

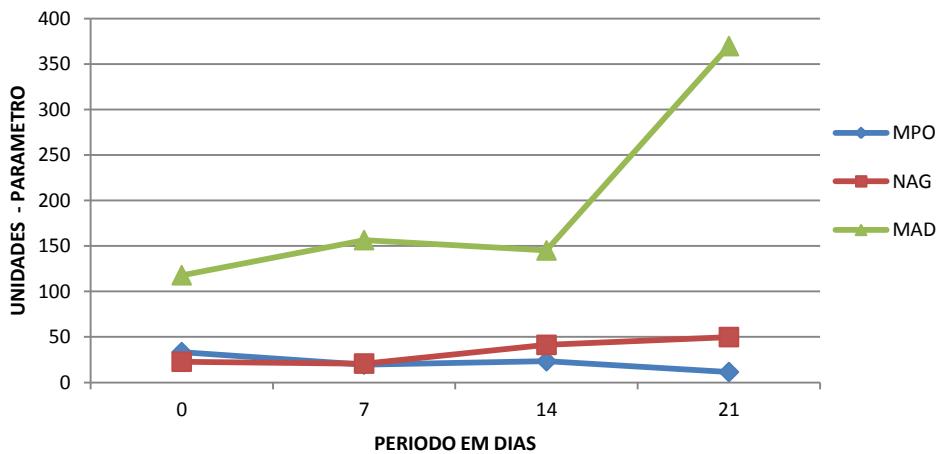


Figura 6. Dinâmica dos parâmetros oxidantes mensurados em quatro coletas da área glandular da mucosa gástrica de cinco equinos submetidos à indução de úlceras com FBZ (doses terapêuticas contínuas + sobre dose única) na primeira fase experimental e tratados na segunda fase experimental com óleo de milho (90ml/100kg/BID), GIII. MPO: mieloperoxidase (DO/mg/te); NAG: n-acetilglicosaminidase (DO/mg/te); MDA: malondialdeído (µg/ml).

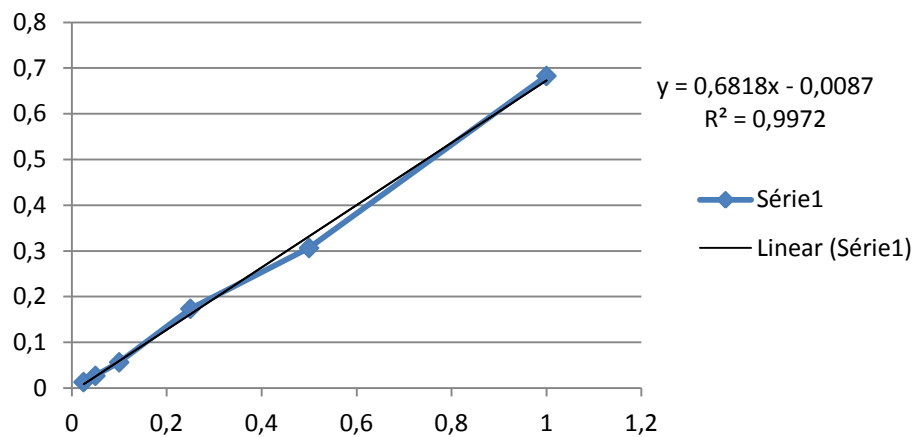


Figura 7. Curva padrão utilizada para a mensuração da concentração de GSH da área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI).

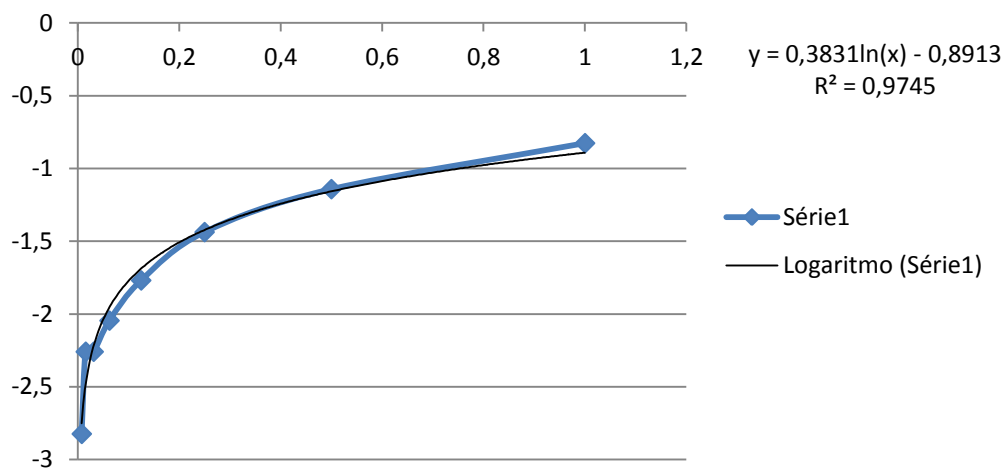


Figura 8. Curva padrão utilizada para a mensuração da concentração de ON da área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI).

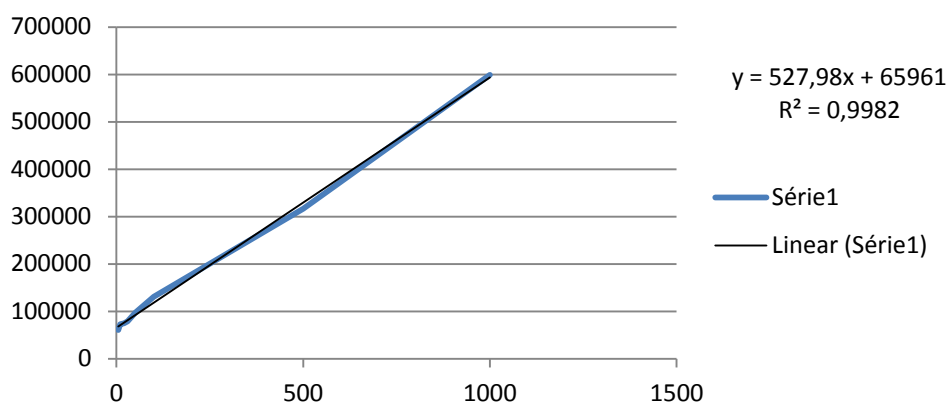


Figura 9. Curva padrão utilizada para a mensuração da concentração de MDA da área glandular da mucosa gástrica de 15 equinos submetidos a período de indução de úlceras e tratados com óleo de milho (70 - 90ml/100Kg/vo, Gs II e III respectivamente) e sucralfato (30mg/kg/vo/tid, GI).

2. Discussão

A redução dos valores referentes aos parâmetros antioxidantes e oxidantes (CAT, SOD e MPO) em todos os grupos ao final do experimento, teve correspondência com a cicatrização das úlceras na área glandular da mucosa, sendo a atividade destas enzimas sinalizadoras de intensidade de lesão (Sanchez et al., 2002). Além disso, foi confirmada gastroscopicamente a resolução destas lesões na última avaliação. As concentrações do ON, MDA e NAG, tiveram comportamentos diferentes, talvez influenciados pelos tratamentos, inclusive nos dois tratados com óleo de milho. Esse fato também se relaciona com o grau de lesão causado pela FBZ influenciado de maneira dependente pelas doses e frequência de administração. Isso se relaciona com a via de lesão dos AINEs através da alteração do equilíbrio antioxidante - oxidante que gera estresse oxidativo na mucosa gástrica (Naito et al., 1998).

O comportamento das variáveis antioxidantes e oxidantes (CAT, SOD, ON, MPO, MDA e NAG) do grupo controle que

recebeu sucralfato, evidenciou as propriedades gastroprotetoras deste fármaco, certamente devido aos mecanismos já descritos na literatura, como a inibição da permeabilidade microvascular, diminuição de radicais livres e aumento de muco e da atividade da óxido nítrico sintase (Hamaishi et al., 2006; Abdallah, 2010; Gulcan et al., 2012). Deste modo, a queda do MDA indicou baixa lesão por radicais livres, considerando este um marcador de peroxidação lipídica. O aumento da NAG, pode estar relacionado com a participação dos macrófagos no processo de restituição ou reparação da mucosa gástrica.

A enzima SOD tem efeito antioxidante ao capturar e transformar o radical superóxido (O_2^-) em água e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Halliwell, 1994). A FBZ na posologia utilizada nos equinos do GIII demonstrou uma diminuição marcante na atividade desta enzima. Este resultado está de acordo com o descrito em relação ao efeito dos AINEs sobre a SOD (Basiviredy et al., 2003). Consequentemente, a diminuição da SOD certamente alterou a atividade da CAT ao não ter substrato

derivado da dismutação (H_2O_2), como demonstra os resultados de ambos os grupos tratados. Porém, este resultado contrasta com os reportados na mucosa gástrica de murinos, onde se descreveram mecanismos de dismutação espontânea deste radical livre em resposta à indometacina (Mahadik e Scheffer, 1996; Odabasoglu et al., 2008). Mas o óleo de milho utilizado no GII foi comparável com o comportamento mostrado pelo sucralfato, levando em conta que o grau de lesão foi menor e a resolução das lesões aconteceu mais rapidamente. Porém o óleo de milho utilizado no GIII também restabeleceu a atividade destas enzimas no período intermédio, como foi descrito por Lastra et al. (2002) e Odabasoglu et al. (2008), utilizando óleos de milho, oliva e girassol em estômago de ratos. A queda na atividade destas enzimas coincidiu com a cicatrização das úlceras.

O óxido nítrico (ON) participa em diversas funções fisiológicas e patológicas. Na mucosa gástrica contribui para a integridade junto às PGs, além de ser considerado gastroprotetor e antioxidante (Wink et al., 2001; Abdallah, 2010). Os achados neste estudo foram pouco claros em relação a seu comportamento gastroprotetor, porém mostrou recuperação discreta na concentração de maneira responsiva à resolução das lesões (grupo I e II), já que está envolvido nos mecanismos de reparação gástrica (Wallace e Miller, 2000). Foi também evidente o efeito depressor da FBZ sobre o ON, como foi observado no grupo que recebeu maior quantidade do AINE, sem mostrar recuperação significativa ao final do tratamento. Estes fatos concordam com os resultados obtidos por Slomiany et al. (1999) e Abdallah (2010) que descreveram desequilíbrios na concentração deste metabólito no tecido gástrico de murinos tratados com indometacina. Embora, a variabilidade desta molécula pode ser pelas técnicas de mensuração empregadas, uma vez que os mecanismos de produção e os efeitos biológicos dependem da localização

e formas do ON (Sun et al., 2003; Beall et al., 2012).

A concentração de GSH cumpre funções de proteção celular por mecanismos de detoxicação de agentes oxidantes endógenos e exógenos provenientes do estresse oxidativo (Meister e Anderson, 1983). Em tecido gástrico de murinos e humanos, as concentrações de GSH encontram-se elevadas (Abukhalaf et al., 2002), sendo que os AINEs produzem depleção em sua concentração (Chattopadhyay et al., 2006). No presente estudo não ficaram confirmado estes achados, aventando-se a hipótese de deficiência de mecanismo não enzimático na mucosa glandular, o que pode estar envolvido na alta incidência de lesões ulcerativas gástricas em equinos. Embora, recentemente foi demonstrada diminuição das concentrações de GSH em processo isquêmicos mediados por estresse oxidativo e moléculas proinflamatórias no intestino delgado de equinos (Marañon et al., 2009).

A atividade da enzima MPO, um marcador qualitativo de infiltração neutrófila em modelos de lesão gástrica (Sanchez et al., 2002), mostrou queda nos grupos tratados com FBZ. Este achado concorda com os efeitos inibitórios dos AINEs sobre esta enzima (Murakami et al., 1999; Odabasoglu et al., 2006), assim como também estes AINEs não seletivos podem alterar os mecanismos de aderência dos neutrófilos ao endotélio (Wallace et al., 2000). Porém os resultados encontrados são diferentes dos descritos na literatura para a indometacina, aspirina e o diclofenaco administrados experimentalmente em murinos (Takeuchi et al., 1998; Odabasoglu et al., 2008; Sundaresan et al., 2007). Fato que pode indicar diferenças na expressão desta enzima e variabilidade nos animais utilizados nos modelos.

Comparando os achados dos parâmetros oxidantes dos grupos tratados com óleo de milho frente aos obtidos no grupo controle

que recebeu sucralfato, a atividade da MPO mostrou diminuição similar, indicando redução na infiltração de neutrófilos, conduzindo a uma atenuação do dano da mucosa por neutrófilos ativados (Odabasoglu et al., 2008). A flutuação nos períodos intermédios desta enzima em grupos tratados com óleo de milho foi devido ao efeito inibitório da FBZ, possivelmente igual ao descrito com o uso da indometacina (Odabasoglu et al., 2006), já no controle o aumento foi derivado do processo inflamatório presente das lesões. Em relação à atividade da NAG, evidenciou-se uma infiltração macrofágica, possivelmente consequente da dinâmica do processo de cicatrização, apesar das intermitências durante os períodos de avaliação.

O MDA é aceito como indicador de peroxidação lipídica da membrana celular pelo estresse oxidativo, sendo recentemente considerado como mecanismo de lesão pelos AINEs independente da inibição de PGs (Naito et al., 1998). Neste sentido, a FBZ utilizada nos equinos do G III promoveu a produção de radicais livres de modo dependente do protocolo de administração, demonstrado pelo o aumento de MDA, quando comparados com os equinos dos demais grupos. Este resultado está de acordo com trabalhos realizados com outros AINEs (Sundaresan et al., 2007; Polat et al., 2010; Abdallah, 2010). Nas condições deste experimento, se determinou a possível influencia do tempo de confinamento nas concentrações de MDA, uma vez que houve aumento no período sete (7) em todos os grupos.

Nos grupos tratados com óleo de milho houve aumento progressivo do MDA nas amostras da área glandular da mucosa, sugerindo inicialmente peroxidação lipídica por efeito de radicais livres, uma vez que se considera o principal marcador biológico da peroxidação de ácidos graxos poliinsaturados (Del Rio et al., 2005). Desta

maneira contrasta com a sanidade gástrica avaliada no último exame gastroscópico e não concorda com o comportamento demonstrado pelo o grupo controle e com resultados reportados em outros estudos utilizando o óleo de oliva (Lastra et al., 2002; Cicerale et al., 2012).

Pela diminuição da MPO e a atividade das enzimas antioxidantes avaliadas junto à resolução das lesões, sugere outras vias ou fontes de produção do MDA. As vias enzimáticas e não enzimáticas tem sido descritas na origem deste marcador. A síntese de PGs e tromboxanos pode gerar MDA (Hecker e Ullrich, 1989) e recentemente outras hipóteses foram aventadas, onde os processos oxidativos do ácido linoléico em ambiente ácido podem exacerbar a produção deste metabólito (Onyango e Baba, 2010). Possivelmente, estes mecanismos podem explicar o aumento no tratamento com óleo de milho, por ter elevada concentração de ácido linoléico e ao mesmo tempo precursor de ácido araquidônico.

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O óleo de milho como todos os óleos vegetais, tem componentes menores como α -tocoferol, ácido oléico, sitosterol, ácidos graxos saturados e polifenóis que cumprem funções biológicas, uma vez que reduzem a geração de radicais livres (H_2O_2 e O_2), além de inibir a atividade das enzimas ciclooxigenase e lipo-oxigenase (Visioli et al., 2002; Moreno, 2003). Entretanto, a variabilidade e instabilidade da maioria dos parâmetros avaliados neste trabalho, pode ter influenciado estes componentes. Além disso, a ausência de homogeneidade nas lesões gástricas iniciais e induzidas, permitiu diversas respostas. Isto aponta para a necessidade de futuros estudos a fim de avaliar por um período mais extenso o comportamento das variáveis analisadas.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nas condições deste experimento conclui-se o seguinte:

- Os protocolos de indução utilizados causaram lesões ulcerativas nas áreas glandular e não glandular da mucosa gástrica dos equinos. Entretanto, a área glandular da mucosa gástrica não expressou plenamente os mecanismos de gastroproteção e gastroadaptação à FBZ nos esquemas de administração empregados.

- O óleo de milho deve ser usado como adjuvante no tratamento das ulcerações na área glandular da mucosa gástrica, induzidas pelo uso de AINEs e/ou situações de estresse. Entretanto, para a área não glandular da mucosa não tem benefícios terapêuticos.

- Os tratamentos a base de óleo de milho e sucralfato causaram mudanças nos parâmetros antioxidantes e oxidantes, possivelmente contribuindo na restituição do epitélio gástrico das lesões ulcerativas induzidas na área glandular da mucosa, mas as variações não foram estatisticamente significativas.

- Apesar de que as concentrações da PGE₂ derivada do ácido linoléico contido no óleo de milho não terem diferido do controle, mostrou-se leve recuperação nas concentrações dos grupos tratados que terminaram com a resolução das ulcerações da área glandular da mucosa gástrica.

- As lesões na área não glandular da mucosa foram perpetuadas possivelmente pela alta concentração do ácido butírico e o baixo pH gerado nos grupos tratados com o óleo de milho, apesar de não terem diferido estatisticamente do grupo controle.

- O comportamento do MDA sugeriu lesão por estresse oxidativo na indução das

ulcerações, porém na fase final do tratamento mostrou-se aumento com o óleo de milho, mas sem diferença estatística. O aumento do MDA possivelmente se deva à oxidação de ácidos graxos poliinsaturados aportados no óleo de milho e não pela peroxidação lipídica das membranas celulares.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Finalmente, é possível considerar que a execução desse trabalho experimental permitiu responder as seguintes indagações adicionais:

- O óleo de milho apresentou benefícios terapêuticos observados clinicamente, mas sem diferença significativa na maioria das variáveis estudadas. Por isso, se faz necessária a implementação de um grupo controle negativo e de tempos experimentais por períodos mais longos em futuros trabalhos.

- As lesões causadas na área glandular da mucosa gástrica pela FBZ tiveram origem principalmente devido à indução de estresse oxidativo e também pela alteração das prostaglandinas. Isso sugere que os sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos da mucosa são mecanismos eficientes de proteção gástrica, que devem ser mais explorados em futuros estudos.

- A área da mucosa glandular, a mais afetada pelo modelo utilizado, respondeu melhor ao tratamento com óleo de milho, permitindo levantar a hipótese que o óleo de milho tem ação benéfica maior nessa área da mucosa.

- Os resultados desse trabalho sinalizaram que há uma ampla margem de segurança para o uso do óleo de milho. Por isso, se fazem necessários outros experimentos para testar a faixa limite da posologia e definir a que oferece melhores resultados.

- A ausência ou a deficiente concentração de glutathione total (GSH) determinada nesse estudo, sinaliza particularidades da mucosa gástrica dos equinos e permite levantar a hipótese de que a elevada sensibilidade da mucosa gástrica pode estar relacionada com

a insuficiente quantidade de substâncias captadoras de radicais livres, necessitando-se de outros estudos com métodos mais específicos para determinar o papel da GSH.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDALLAH, D. M. Nicotinamide alleviates indomethacin – induced gastric ulcers: A novel antiulcer agent. *Europ. J. Pharmacol.*, v. 627, p. 276-280, 2010.
- ABUKHALAF, I. K.; SILVESTROV, N.A.; MENTER, J. N.; et al. High performance liquid chromatographic assay for the quantitation of total glutathione in plasma. *J. Pharma. Biomed. Anal.*, v. 28, p. 637-643, 2002.
- AEBI, H. Catalase - Method. *Enzymol.*, v. 105, p. 121-126, 1984.
- AL JASSIM, R.; ANDREWS, F. The Bacterial Community of the Horse Gastrointestinal Tract and Its Relation to Fermentative Acidosis, Laminitis, Colic, and Stomach Ulcers. *Vet. Clin. Equine*, v. 25, p. 199-215, 2009.
- ALLEN, A.; FLEMSTRÖN, G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, v. 288, p. 1-9, 2005.
- ANDREWS, F. Ulcers in the Stomach and Colon; Diagnosis and Treatment: A Pain in the Gut!. In: *Focus Meeting: American Association of Equine Practitioners – AAEP*. Québec, Canada, 2005, p. 1-7.
- ANDREWS, F.; BERNARD, W.; BYARS, D. et al. Recommendations for the diagnosis and treatment of equine gastric ulcer syndrome (EGUS). *Equine Vet. Educ.*, 122, 1999a.
- ANDREWS, F.; BUCHANAN, B. R.; SMITH, S. H. et al. In vitro effects of hydrochloric acid and various concentrations of acetic, propionic, butyric, or valeric acids on bioelectric properties of equine gastric squamous mucosa. *Am J. Vet. Res.*, v. 67, p. 1873-1882, 2006.
- ANDREWS, F. M.; BUCHANAN, B. R.; ELLIOTT, R. A. et al. In vitro effects of hydrochloric and lactic acids on bioelectric properties of equine gastric squamous mucosa. *Equine Vet. J.*, v. 40, p. 301-305, 2008.
- ANDREWS, F.; McCONNICO, R. Cause for concern: Evidence that therapeutic dosing of nonselective NSAIDs contributes to gastrointestinal injury. *Equine Vet. Educ.*, v. 21, p. 663-664, 2009.
- ANDREWS, F.; REINEMEYER, C.; MCCRACKEN, M. et al. Comparison of endoscopic, necropsy and histology scoring of equine gastric ulcers. *Equine Vet. J.*, v. 34, p. 475-478, 2002.
- ANDREWS, F.; SIFFERMAN, R.; BERNARD, W. et al. Efficacy of omeprazole paste in the treatment and prevention of gastric ulcers in horses. *Equine Vet. J.*, v. 29, p. 81-86, 1999b.
- ANON. Survey Shows Nearly All Horse Owners, Trainers Administer Nonsteroidal Anti inflammatory, *Merial Press Release*. 29th April 2009.
- ARGENZIO, R. A. Comparative pathophysiology of non-glandular ulcer disease: a review of experimental studies. *Equine Vet. J.*, v. 29, p. 19-23, 1999.
- BAILEY, P. J. Sponge implants as models. *Meth. Enzimol.*, v. 162, p. 327-334, 1988.
- BARTON, M. H.; WILLIAMSON, L.; JACKS, S. et al. Effects on plasma endotoxin and eicosanoid concentrations and serum cytokine activities in horses competing in a 48, 83, or 159 km endurance ride under similar terrain and weather conditions. *Am. J. Vet. Res.*, v. 64, p. 754-761, 2003.

- BASIVIREDY, J.; JACOB, M.; RAMAMOORTHY, P. et al. Indomethacin – induced free radical mediate changes in the intestinal brush border membranes. *Biochem. Pharmacol.*, v. 65, p. 683-695, 2003.
- BEALL, C. M.; LASKOWSKI, D.; ERZURUM, S. C. Nitric oxide in adaptation to altitude. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 52, p. 1123-1134, 2012.
- BELL, R. J. W.; MOGG, T. D.; KINGSTON J. K. Equine gastric ulcer syndrome in adult horses: a review. *N. Z. Vet. J.*, v. 55, p. 1-12, 2007.
- BELLI, C. B.; FERNANDES, W. R.; SILVA, L. C. L. Estudo gastroscópico em equinos adultos com suspeita de ulceração gástrica. *Rev. Bras. Ciên. Vet.*, v. 12, p. 92-98, 2005.
- BELO, A. V.; BARCELOS, L. S.; FERREIRA, M.; TEXEIRA, M. M.; ANDRADE, S. P. Inhibition of inflammatory angiogenesis by distant subcutaneous tumor in mice. *Life Scien.*, v. 74, p. 2827-2837, 2004.
- BERGER, H.; SILVA, R.; KLEMM, M. et al. Gastric Ulcers in Brazilian performance horses. In: Proceedings of the 11th International Congress of the World Equine Veterinary Association. 24-27 de September 2009, Guarujá, Proceeding, SP, Brazil, 2009.
- BEZDEKOVA, B.; JAHN, P.; VYSKOCIL, M. Gastric ulceration and exercise intensity in Standarbred Racehorses in Czech Republic. *Acta Vet Brno.*, v. 74, p. 67-71, 2005.
- BIAS, P.; BUCHNER, A.; KLESSER, B. et al. The gastrointestinal tolerability of the LOX/COX inhibitor, licofelone, is similar to placebo and superior to naproxeno therapy in healthy volunteers: results from a randomized, controlled trial. *Am. J. Gastroenterol.*, v. 99, p. 611–618, 2004.
- BJARNASON, I.; ZANELLI, G.; SMITH, T. et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced intestinal inflammation in humans. *Gastroenterol.*, v. 93, p. 480-489, 1987.
- BJARNASON, I.; HAYLLAR, J.; MACPHERSON, A. J. et al. Side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the small and large intestine in humans. *Gastroenterol.*, v. 104, p. 1832-1847, 1993.
- BLIKSLAGER, A. Pathophysiology of mucosal injury and repair. IN: REED, S. M.; BAYLY, W. M.; SELTON, D. C. *Equine internal Medicine*. 2^a ed. United States: Saunder, 2004, p. 802-815.
- BLIKSLAGER, A.; JONES, S. NSAIDs. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 25, p. 98-102, 2005.
- BORNE, A.; T.; MaCALLISTER, C. G. Effect of sucralfate on healing of subclinical gastric ulcers in foals. *J. Am. Vet. Med.*, v. 2002, p. 1465-1468, 1993.
- BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; DROZDOWICZ, D. et al. Role of central and peripheral Ghrelin in the mechanism of gastric mucosal defence. *Inflammopharm.*, v. 13, p. 45-62, 2005.
- BUCHANAN, B. R.; ANDREWS, F. M. Treatment and prevention of equine gastric ulcer syndrome. *Vet. Clin. N. Am. Equine Prac.*, v. 19, p. 575-597, 2003.
- BULLIMORE, S. R.; CORFIELD, A. P.; HICKS, S. J. et al. Surface mucus in the non-glandular region of the equine stomach. *Res. Vet. Sci.*, v. 70, p. 149-155, 2001.
- CAMPBELL-THOMPSON, M. L. Secretagogue-induced aminopyrene uptake in isolated equine parietal cells. *Am. J. Vet. Res.*, v. 55, p. 132-137, 1994.

- CARBAJAL, D.; MOLINA, V.; NOA, M. et al. Effect of d-002 on gastric mucus composition in ethanol-induced ulcer. *Pharmacol. Res.*, v. 42, p. 329-332, 2000.
- CARDONA, J. A.; PAREDES, E. H.; FERNANDEZ, H. Caracterización histopatológica de gastritis asociada a la presencia de *Helicobacter* spp en estómagos de caballos. *Rev. MVZ Córdoba*, v. 14, p. 1750-1755, 2009.
- CARGILE, J. L.; BURROW, J. A.; KIM, I. et al. Effect of dietary corn oil supplementation on equine gastric fluid acid, sodium, and prostaglandin E₂ content before and during pentagastrin infusion. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 18, p. 545-549, 2004.
- CARLINI, E. A.; MACAUBAS, C. I. P.; OLIVEIRA, M. G. M. et al. Toxicologia pré-clínica da Espinheira-Santa (*Maytenus ilicifolia*). In: Estudo de Ação Antiúlcera Gástrica de Plantas Brasileiras (*Maytenus ilicifolia* “espinheira-santa” e outras), *Central de Medicamentos CEME*, Ministério da Saúde, 1988, p. 49-66.
- CAROLLO, M.; HOGABOAM, C.; KUNKEL, S. et al. Analysis of the temporal expression of chemokines and chemokines receptors during experimental granulomatous inflammation: role and expression of MIP-1 α and MCP-1. *Br. J. Pharmacol.*, v. 134, p. 1166-1179, 2001.
- CICERALE, S.; LUCAS, L. J.; KEAST, R. S. J. Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgen olive oil. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 23, p. 129-135, 2012.
- CHAMEROY, K. A.; NADEU, J. A.; BUSHMICH, S. L. et al. Prevalence of non-glandular gastric ulcers in horses involved in a university riding program. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 26, p. 207-211, 2006.
- CHATTOPADHYAY, I.; BANDYOPADHYAY, U.; BISWAS, K. et al. Indomethacin inactivates gastric peroxidase to induce reactive-oxygen-mediated gastric mucosal injury and curcumin protects it by preventing peroxidase inactivation and scavenging reactive oxygen. *Free Radical Biology Medicine*, v. 40, p. 1397-1408, 2006.
- CHATZAKI, E.; LAMBROPOULOU, M.; CONSTANTINIDIS, T. C. et al. Corticotropin – releasing factor (CRF) receptor type 2 in the human stomach: protective biological role by inhibition of apoptosis. *J. Cell Physiol.*, v. 209, p. 905-911, 2006.
- CHIOU, S. K.; TANIGAWA, T., AKAHOSHI, T. et al. Survivin a novel target for indomethacin induced gastric injury. *Gastroenterol.*, v. 128, p. 63-73, 2005.
- COLIN, F. M.; ERIN, D. M.; ABBY, M. S. et al. Evaluation of gastrointestinal activity patterns in healthy horses using B mode and Doppler ultrasonography. *Can. Vet. J.*, v. 46, p. 134-140, 2005.
- COLLINS, L.; TYLER, D. Phenylbutazone toxicosis in the horse: a clinical study. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 184, p. 699-703, 1984.
- COOK, V. L.; MEYER, C. T.; CAMPBELL, N. B. et al. Effect of firocoxib or flunixin meglumine on recovery of ischemic-injured equine jejunum. *Vet. Rec.*, v. 164, p. 814-815, 2009.
- CORUZZI, G.; VENTURI, N.; SPAGGIARI, S. Gastrointestinal safety of novel nonsteroidal antiinflammatory drugs: selective COX – 2 inhibitors and beyond. *Acta Biomed.*, v. 78, p. 96-110, 2007.

- COSTAMAGNA, G.; SHAH, S. K.; RICCIONI, M. E. et al. A prospective trial comparing small bowel radiographs and video capsule endoscopy for suspected small bowel disease. *Gastroenterol.*, v. 123, p. 999-1005, 2002.
- CRAYG, T. L. *Gastric ulcer syndrome in exercising horses fed different types of hay*. 2007. 54f. Thesis (Master of science) – Texas A & M University, Texas.
- CRIMI, E.; SICA, V.; WILLIAMS-IGNARRO S.; et al. The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Radic Biol. Med.*, v. 40, p. 398 – 406, 2006.
- CROSS, A. S.; SAKARYA, S.; et al. Recruitment of murine neutrophils in vivo through endogenous sialidase activity. *J Biol Chem.* v.278, n.6, p. 4112 – 4120, 2003.
- CRYER, B. Mucosal defense and repair: Role of prostaglandins in the stomach and duodenum. *Gastroenterol. Clin. N. Am.*, v. 30, p. 877-894, 2001.
- CUZZOCREA, S.; RILEY, D.P.; CAPUTI, A.P.; et al. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev.*, v. 53, p. 135 – 59, 2001.
- DEARO, A.; LOPES, M.; GANDOLFI, W. Prevalence of gastric lesions (ulcers and/or erosions) and their relationship to possible stressfull factors in asymptomatic Quarter Horse foals: endoscopic survey. *Braz. J. vet. Res. Anim. Sci.*, v. 35, p. 166-169, 1998.
- DELBONI, C. C.; BELLI, C. B.; CHAPARRO, M.; et al. Gastroscopic evaluation of the protective effects of omeprazole or sucralfate associated with phenylbutazone treatment in horses. In: Proceedings of the 11th International Congress of the World Equine Veterinary Association, 2009, Guarujá. Sao Paulo - Brazil, 2009.
- DEL RIO, D.; STEWART, A. J.; PELLEGRINI, N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Dis.*, v. 15, p. 316-328, 2005.
- DIETERICH, S.; BIELIGK, U.; BEULICH, K. et al. Gene expression of antioxidative enzymes in the human heart: increased expression of catalase in the end-stage failing heart. *Circulation*, v. 101, p. 33-39, 2000.
- DUKTI, S. A.; PERKINS, S.; MURPHY, J. et al. Prevalence of gastric squamous ulceration in horses with abdominal pain. *Equine Vet. J.*, v. 38, p. 347-349, 2006.
- EL-ASHKER, M.; EL-KHODERY, S.; METWALLY, N. et al. Prognostic significance of oxidative stress markers in colitis associated with phenylbutazone administration in draft horses. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 32, p. 146-152, 2012.
- ETHELL, M. T.; HODGSON, D. R.; HILLS, B. A. Ultrastructure of the hydrophobic gastric surfactant barrier in the dog. *Aust. Vet. J.*, v. 77, p. 240-244, 1999.
- FERNANDES, W. R.; BELLI, C. B.; SILVA, L. C. L. Achados gastroscópicos em equinos adultos assintomáticos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v. 55, p. 405-410, 2003.
- FERRUCCI, F.; ZUCCA, E.; FABIO, V. D. et al. Gastroscopic findings in 63 Standardbred racehorse in training. *Vet. Res. Comm.*, v. 27, p. 759-762, 2003.
- FILARETOVA, L. P.; FILARETOV, A. A.; MAKARA, G. B. Corticosterone increase inhibits stress-induced gastric erosions in rats. *Am. J. Physiol. Gastrointest liver Physiol.*, v. 274, p. 1024-1030, 1998.

- FINK, C.; HEMBES, T.; BREHM, R. et al. Specific localization of gap junction protein connexin 32 in the gastric mucosa of horses. *Histochem. Cell Biol.*, v. 125, p. 307-313, 2006.
- FIORUCCI, S.; DISTRUTTI, E.; CIRINO, G. et al. The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterol.*, v. 131, p. 259-271, 2006.
- FRANK, N.; ANDREWS, F. M.; ELLIOTT, S. B. et al. Effects of dietary oils on the development of gastric ulcers in mares. *Am. J. Vet. Res.*, v. 66, p. 2006-2011, 2005.
- GEOR, R. J.; PETRIE, L.; PAPICH, M. G.; et al. The protective effects of sucralfate and ranitidine in foals experimentally intoxicated with phenylbutazone. *Can. J. Vet. Res.*, v. 53, p. 231-238, 1989.
- GRAAF-ROELFSEMA, E. D.; KEIZER, H. A.; WIJNBERG, I. D. The incidence and severity of gastric ulceration does not increase in overtrained Standardbred horses. *Equine Vet. J. Suppl.*, v. 42, p. 58-61, 2010.
- GRANT, H. W.; PALMER, K. R.; KELLY, R. W. et al. Dietary linoleic acid, gastric acid, and prostaglandin secretion. *Gastroenterol.*, v. 94, p. 955-959, 1988.
- GERRING, E. L.; HUNT, J. M. Pathophysiology of equine postoperative ileus: effect of adrenergic blockade, parasympathetic stimulation and metaclopramide in an experimental model. *Equine Vet. J.*, v. 18, 1986.
- GOLOUBEFF, B. *Alterações gástricas em potros submetidos ao estresse do desmame*. 2006. 195f. Tese (doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- GOMEZ, G.; ENGLANDER, E. W.; GREELEY, G. H.; et al. Nutrient inhibition of ghrelin secretion in the fasted rat. *Regul. Peptides*, v. 117, p. 33-36, 2004.
- GULCAN, E.; KELES, M.; UYANIK, A. et al. Can sucralfate be effective to protect on peritoneal membrane in patients receiving peritoneal dialysis treatment? *Med. Hypotheses*, v. 78, p. 415, 2012.
- HAGIWARA, M.; KATAOKA, K.; ARIMOCCHI, H. et al. Role of unbalanced growth of gramnegative bacteria in ileal ulcer formation in rats treated with a nonsteroidal anti-inflammatory drug. *J. Med. Invest.*, v. 51, p. 43-51, 2004.
- HALL, J.A.; VAN SAUN, R.J.; WANDER, R.C. Dietary (n-3) fatty acids from Menhaden Fish oil alter plasma fatty acids and leukotriene B synthesis in healthy horses. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 18, p. 871-879, 2004a.
- HALL, J.A.; VAN SAUN, R.J.; TORNQUIST, S.J. et al. Effect of type of dietary polyunsaturated fatty acid supplement (Corn oil or Fish oil) on immune responses in healthy horses. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 18, p. 880-886, 2004b.
- HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*, v. 344, p. 721-724, 1994.
- HAMAISHI, K.; KOJIMA, R.; ITO, M. Anti-ulcer effect of tea catechin in rats. *Biol. Pharm. Bull.* v. 29, p. 2206-2213, 2006.
- HAMMOND, C. J.; MASON, D. K.; WATKINS, K. L. Gastric ulceration in mature Thoroughbred horses. *Equine Vet. J.*, v. 18, p. 284-287, 1986.

- HARTMANN, A. M.; FRANKENY, R. L. A preliminary investigation into the association between competition and gastric ulcer formation in non-racing performance horses. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 23, p. 560-561, 2003.
- HAYES, A. D.; SIGLER, D. H.; COHEN, N. D. et al. Effect of Trace Mineral Supplementation on Gastric Ulcers in Exercising Yearling Horses. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 29, p. 361-362, 2009.
- HECKER, M.; ULLRICH, V. On the mechanism of prostacyclin and thromboxane A2 biosynthesis. *J. Biol. Chem.*, v. 264, p. 141-150, 1989.
- HEWETSON, M.; COHEN, N. D.; LOVE, S. et al. Sucrose concentration in blood: a new method for assessment of gastric permeability in horses with gastric ulceration. *J. Vet. Intern. Med.*, v. 20, p. 388-394, 2006.
- HOLBROOK, T. C.; SIMMONS, R. D.; PAYTON, M. E. et al. Effect of repeated oral administration of hypertonic electrolyte solution on equine gastric mucosa. *Equine Vet. J.*, v. 37, p. 501-504, 2005.
- HOLLANDER, D.; TARNAWSKI, A.; GERGELY, H.; et al. Sucralfate protection of the gastric mucosa against ethanol-induced injury: a prostaglandin mediated process. *Scand. J. Gastroenterol.*, v. 19, p. 97-102, 1984.
- HUSTED, L.; SANCHEZ, L. C.; BAPTISTE, K. E. et al. Effect of a feed/fast protocol on pH in the proximal equine stomach. *Equine Vet. J.*, v. 41, p. 658-662, 2009.
- HO, S. B.; TAKAMURA, K.; ANWAY, R. et al. The adherent gastric mucous layer is composed of alternating layers of MUC5AC and MUC6 mucin proteins. *Dig. Dis. Sci.*, v. 49, p. 1598-1606, 2004.
- JAIM, N. C. *Veterinary hematology*. 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.
- JOHNSON, L. R. Control of gastric secretion: no room for histamine?. *Gastroenterol.*, v. 61, p. 106-118, 1971.
- JONSSON, H.; EGENVALL, A. Prevalence of gastric ulceration in Swedish Standardbred in race-training. *Equine Vet. J.*, v. 38, p. 209-213, 2006.
- JUNIOR, T. R.; REZENDE, A. S. C.; JUNIOR, O. V. L. et al. Efeito do nível de óleo de milho adicionado à dieta de equinos sobre a digestibilidade dos nutrientes. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 56, p. 69-73, 2003.
- KANECO, J.; HARVEY, J.; BRUS, M. *Clinical Biochemistry of Domestic Animal*. 6, ed. Elsevier, William E. Hornbuckle; Kenneth W. Simpson; Bud C. Tennant). 2008, p. 886.
- KARATAS, F; KARATEPE, M; BAYSAR, A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. *Anal. Bioch.*, v. 311, p. 76-79, 2002.
- KIRKMAN, H. N.; GAETANI, G. F. Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends Biochem. Sci.*, v. 32, p. 44 - 50, 2007.
- KRAKOWKA, S. Comparative aspects of bacterial gastritis in domestic animals. In: Proceeding of the ACVP/ASVCP Concurrent Annual Meetings, 2007, Savannah. Georgia, 2007, p. 1-5.
- KOBAYASHI, K.; ARAKAWA, T. Arachidonic acid cascade and gastric mucosal injury, protection, and healing: topics of this decade. *J. Clin. Gastroenterol.*, v. 21, p. 12-17, 1995.

- KÖNIG, H. E.; SAUTET, J.; LIEBICH, H. G. Aparelho digestório. In: KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. *Anatomia dos animais domésticos*. 2^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2004, p. 15-79.
- LAI, S. K.; WANG, Y. Y.; WIRTZ, D. et al. Micro- and macrorheology of mucus. *Advan. Drugs Deliv. Rev.*, v. 61, p.86-100, 2009.
- LAINÉ, L.; HARPER, S.; SIMON, T. et al. A Randomized trial comparing the effect of rofecoxib, a cyclooxygenase 2 – specific inhibitor, with that of ibuprofen on the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis. Rofecoxib Osteoarthritis Endoscopy Study Group. *Gastroenterol.*, v. 117, p. 776-783, 1999.
- LAINÉ, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: Bench to bedside. *Gastroenterol.*, v. 135, p. 41-60, 2008.
- LAMONT, J. T. Mucus: the front line of intestinal mucosal defense. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, v. 664, p. 190-201, 1992.
- LANAS, A.; PANES, J.; PIQUE, J. M. Clinical implications of COX-1 and/or COX2 inhibition for the distal gastrointestinal tract. *Curr. Pharm. Des.*, v. 9, p. 2253-2266, 2003.
- LANAS, A.; SOPEÑA, F. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs and Lower Gastrointestinal Complications. *Gastroenterol. Clin. N. Am.*, v. 38, p. 333-352, 2009.
- LANS, C.; TURNER, N.; BRAUER, G. et al. Ethnoveterinary medicines used for horses in Trinidad and in British Columbia, Canada. *J. Ethnobiol. And Ethnomed.*, v. 31, 2006.
- LASTRA, C. A.; BARRANCO, M. D.; MARTIN, M. J. et al. Extra-virgin olive oil-enriched diets reduce indomethacine induced gastric oxidative damage in rats. *Dig. Dis. Sci.*, v. 47, p. 2783-2790, 2002.
- LESS, P.; LANDONI, M. F.; GIRAUDEL, J. et al. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in species of veterinary interest. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, v. 27, p. 479-490, 2004.
- LICHTENBERGER, L. M. Gastroduodenal mucosal defense. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, v. 15, p. 463-472, 1999.
- LOREN, L.; KOJL, T.; ANDRZEJ, T. Gastric mucosal defense and cytoprotection: Bench to bedside. *Gastroenterol.*, v. 135, p. 41-60, 2008.
- LORENZO-FIGUERAS, M.; JONES, G.; MERRITT, A. M. Effects of various diets on gastric tone in the proximal portion of the stomach of horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 63, p. 1275-1278, 2002.
- LORENZO-FIGUERAS, M.; PRESTON, T.; OTT, E. A. et al. Meal-induced gastric relaxation and emptying in horses after ingestion of high-fat versus high-carbohydrate diets. *Am. J. Vet. Res.*, v. 66, p. 897-906, 2005.
- LUTHERSSON, N.; NIELSEN, K. H.; HARRIS, P. et al. The prevalence and anatomical distribution of equine gastric ulceration syndrome (EGUS) in 201 horses in Denmark. *Equine Vet. J.*, v. 41, p. 619-624, 2009a.
- LUTHERSSON, N.; NIELSEN, K. H.; HARRIS, P. et al. Risk factors associated with equine gastric ulceration syndrome (EGUS) in 201 horses in Denmark. *Equine Vet. J.*, v. 41, p. 625-630, 2009b.
- MACALLISTER, C. G.; MORGAN, S. J.; BORNE, A. T. et al. Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine, and ketoprofen in horses. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, v. 202, p. 71-77, 1993.

- MACALLISTER, C. G.; ANDREWS, F. M.; DEEGAN, E. et al. A scoring system for gastric ulcers in the horse. *Equine Vet. J.*, v. 29, p. 430-433, 1997.
- MAHADIK, S. P.; SCHEFFER, R. E. Oxidative injury and potential use of antioxidants in schizophrenia. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, v. 55, p. 45-54, 1996.
- MANDEL, K. G.; BERTRAM, T. A.; EICHOLD, M. K. et al. Fatty acid-mediated gastroprotection does not correlate with prostaglandin elevation in rats exposed to various chemical insults. *Vet. Pathol.*, v. 31, p. 679-688, 1994.
- MANSELL, J.; WILLARD, M. Biopsy of the gastrointestinal tract. *Vet. Clin. N. Am.: Small Anim. Pract.*, v. 33, p. 1099-1116, 2003.
- MARAÑÓN, G; MANLEY, W; CAYADO, P. et al. Alterations in the glutathione metabolism could be implicated in the ischemia-induced small intestinal cell damage in horses. *BMC Vet. Res.*, v. 5, p. 1-9, 2009.
- MARJANI, A.; MANSOURIAN, A.R., VEGHARI, G.R.; RABIEE, M.R. Age-related alterations of plasma lipid peroxidation and erythrocyte superoxide dismutase activity in different ethnic groups of gorgan. *J. Applied Sci.*, v. 7, p. 1795 – 1799, 2007.
- MARKESICH, D. C.; ANAND, B. S.; LEW, G. M. et al. *Helicobacter pylori* infection does not reduce the viscosity of human gastric mucus gel. *Gut*, v. 36, p. 327-329, 1995.
- MARQUEZ, F. J. Equine Gastric Ulcer Syndrome. *L. Ani. Vet.*, v. 7, p. 1-6, 2007.
- MARTINEAU, H.; THOMPSON, H.; TAYLOR, D. Pathology of gastritis and gastric ulceration in the horse. Part 1: Range of lesions present in 21 mature individuals. *Equine Vet. J.*, v. 41, p. 638-644, 2009a.
- MARTINEAU, H.; THOMPSON, H.; TAYLOR, D. Pathology of gastritis and gastric ulceration in the horse. Part 2: A scoring system. *Equine Vet. J.*, v. 41, p. 646-651, 2009b.
- MATHESON, N.R.; WONG, P.S.; TRAVIS, J. Isolation and properties of human neutrophils MPO. *Biochemistry*. v. 20, p. 325-330, 1981.
- MATYJASZEK, S. A.; MORTON, A. J.; FREEMAN, D. E. et al. Effects of flunixin meglumine on recovery of colonic mucosa from ischemia in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 70, p. 992-1000, 2009.
- McCLURE, S. R.; CARITHERS, D. S.; GROSS, S. et al. Ulcer development in horses in a simulated show or training environment. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 227, p. 775-777, 2005.
- McCLURE, S. R.; GLICKMAN, L. T.; GLICKMAN, N. W. Prevalence of gastric ulcers in show horses. *J. Am. Vet. Med.*, v. 215, p. 1130-1133, 1999.
- McCLURE, S. R.; WHITE, G.; SIFFERMAN, R. et al. Efficacy of omeprazole paste for prevention of gastric ulcers in horses in race training. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 226, p. 1681-1684, 2005.
- McCONNICO, R. S.; MORGAN, T. W.; WILLIAMS, C. C. et al. Pathophysiologic effects of phenylbutazone on the right dorsal colon in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 69, p. 1496-1505, 2008.
- MEISTER, A.; ANDERSON, M. E. Glutathione. *Annual Rev. Bioch.*, v. 52, p. 711-760, 1983.
- MERRITT, A. M. Normal equine gastroduodenal secretion and motility. *Equine Vet. J. Suppl.*, v. 29, p. 7-13, 1999.

- MERRITT, A. M. The Equine Stomach: A Personal Perspective (1963-2003), In: 49TH Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 2003, New Orleans. Louisiana, 2003.
- MERRITT, A. M. Appeal for proper usage of the term "EGUS": Equine Gastric Ulcer Syndrome. *Equine Vet. J.*, v. 41, p. 616, 2009.
- MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G.; WINK, D. A. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, v. 5, p. 62-71, 2001.
- MOELLER, B.; MCCALL, C.; SILVERMAN, S. et al. Estimation of Saliva Production in Crib-Biting and Normal Horses. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 28, p. 85-90, 2008.
- MONREAL, L.; SABATÈ, D.; SEGURA, D. et al. Lower gastric ulcerogenic effect of suxibuzone compared to phenylbutazone when administered orally to horses. *Res. Vet. Sci.*, v. 76, p. 145-149, 2004.
- MORENO, J. J. Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages raw 264.7. *Free Radical Bio. Med.*, v. 35, p. 1073-1081, 2003.
- MORTON, A. S.; GROSCHE, A.; RÖTTING, A. K. Expression of cyclooxygenase 1-2 in left dorsal colon after different durations of ischemia and reperfusion in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 70, p. 1536-1544, 2009.
- MORRISSEY, N. K.; BELLENGER, C. R.; BAIRD, A. W. Bradykinin stimulates Prostaglandin E₂ production and cyclooxygenase activity in equine nonglandular and glandular gastric mucosa in vitro. *Equine Vet. J.*, v. 40, p. 332-336, 2008.
- MORRISSEY, N. K., BELLENGER, C. R., RYAN, M. T. et al. Cyclooxygenase-2 mRNA expression in equine nonglandular and glandular gastric mucosal biopsy specimens obtained before and after induction of gastric ulceration via intermittent feed deprivation. *Am. J. Vet. Res.*, v. 71, p. 1312-1320, 2010.
- MOYAERT, H.; HAESBROUCK, F.; DEWULF, J. et al. Helicobacter equorum is highly prevalent in foals. *Vet. Microbiol.*, v. 133, p. 190-192, 2009.
- MOZAFFARI, A.A.; DERAKHSHANFAR, A. The gastrointestinal and myocardial adverse effects of flunixin meglumine, ketoprofen and phenylbutazone in Iranian Cashmere (Rayeni) goats: clinical, hematological, biochemical, and pathological findings. *Comp. Clin. Pathol.*, v. 21, p. 49-53, 2012.
- MUKHERJEE, D. Selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors and potential risk of cardiovascular events. *Biochem. Pharmacol.*, v. 63, p. 817-821, 2002.
- MURAKAMI, K.; OKAJIMA, K.; HARADA, N. et al. Pleunitol prevents indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats by inhibiting neutrophil activation. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v. 13, p. 521-530, 1999.
- MURRAY, M. J. Gastroduodenal ulceration in foals. *Equine Vet. Edu.*, v. 11, p. 199-207, 1999.
- MURRAY, M. J. Disorders of the stomach. In: BRADFORD, P. SMITH. *Large Animal Internal Med.* 4. Ed. Editorial Mosby, 2009, p. 1821.

- MURRAY, M. J.; EICHORN, E. S. Effects of intermittent feed deprivation, intermittent feed deprivation with ranitidine administration and stall confinement with ad libitum access to hay on gastric ulceration in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 57, p. 1599-1603, 1996.
- MURRAY, M. J.; GRODINSKY, C. Regional gastric pH measurement in horses and foals. *Equine Vet. Suppl.*, p. 73-76, 1989.
- MURRAY, M. J.; GRODINSKY, C.; ANDERSON, A. C. et al. Gastric Ulcers in horses: a comparison of endoscopic findings in horses with and without clinical signs. *Equine Vet. J. Suppl.*, v. 7, p. 68-72, 1989.
- MURRAY, M. J.; NOUT, Y. S.; WARD, D. Endoscopic Findings of the Gastric Antrum and Pylorus in Horses: 162 Cases (1996–2000). *J. Vet. Intern. Med.*, v. 15, p. 401-406, 2001.
- MURRAY, M. J.; SCHUSSER, G. F.; PIPERS, F. S. et al. Factors associated with gastric lesions in Thoroughbred horses. *Equine Vet. J.*, v. 28, p. 368-374, 1996.
- MURRAY, M.J. Equine model of inducing ulceration in alimentary squamous epithelial mucosa. *Dig. Dis. Sci.*, v. 39, p. 2530-2535, 1994.
- NADEAU, J. A.; ANDREWS, F. M.; MATHEW, A. G. et al. Evaluation of diet as a cause of gastric ulcers in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 61, p. 784-790, 2000.
- NADEAU, J.A.; ANDREWS, F.M.; PATTON, S. S. et al. Effects of hydrochloric, acetic, butyric, and propionic acids on pathogenesis of ulcers in the nonglandular portion of the stomach of horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 64, p. 404-412, 2003a.
- NADEAU, J. A.; ANDREWS, F. M.; PATTON, S. S. et al. Effects of hydrochloric, valeric and other volatile fatty acids on pathogenesis of ulcers in the non-glandular portion of the stomach of horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 64, p. 413-417, 2003b.
- NAITO, Y.; YOSHIKAWA, T.; YOSHIDA, N. et al. Role of oxygen radical and lipid peroxidation in indomethacin-induced gastric mucosal injury. *Dig. Dis. Sci.*, v. 43, p. 30-34, 1998.
- NAPPERT, G.; VRINS, A.; LARYBYERE, M. Gastroduodenal ulceration in foals. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, v. 11, 1989.
- NARUMIYA, S.; SUGIMOTO, Y.; USHIKUBI, F. Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol. Rev.*, v. 79, p. 1193-1226, 1999.
- NIETO, J. E., ALEMAN, M., ANDERSON, J. D. et al. Effects of phenylbutazone on gene expression of cyclooxygenase-1 and -2 in the oral, glandular gastric, and bladder mucosae of healthy horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 73, p. 98-104, 2012.
- NIETO, J. E.; SNYDER, J. R.; VATISTAS, N. et al. Effect of gastric ulceration on physiologic responses to exercise in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 70, p. 787-795, 2009.
- O'CONNOR, M. S.; STEINER, J. M.; ROUSSEL, A. J. et al. Evaluation of urine sucrose concentration for detection of gastric ulcers in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v. 65, p. 31-39, 2004.
- ODABASOGLU, F.; CAKIR, A.; SULEYMAN, H. et al. Gastroprotective and antioxidant effects of usnic acid on indomethacin-induced gastric ulcer rats. *J. Ethnopharmacol.* v. 103, p. 59-65, 2006.

- ODABASOGLU, F.; HALICI, Z.; CAKIR, A. et al. Beneficial effects of vegetable oils (corn, olive and sunflower oils) and α tocopherol on anti-inflammatory and gastrointestinal profiles of indomethacin in rats. *European J. Pharm.*, v. 591, p. 300-306, 2008.
- OKAMURA, K.; NAOKI, S.; MICHIAKI, Y. et al. Effects of mosaprida citrate, metoclopramide hydrochloride, lidocaine hydrochloride, and cisapride citrate on equine gastric emptying, small intestinal and caecal motility. *Res. Vet. Scie.*, v. 86, p. 302-308, 2009.
- OKTEDALEN, O.; LUNDE, O. C.; OPSTAD, P. K. et al. Changes in the gastrointestinal mucosa after long-distance running. *Scand. J. Gastroenterol.*, v. 27, p. 270-274, 1992.
- OLIVEIRA, M. G.; MONTEIRO, M. G.; MACAUBAS, C. et al. Pharmacologic and toxicologic effects of two Maytenus species in laboratory animals. *J. Ethnopharmacol.*, v. 34, p. 29-41, 1991.
- ONYANGO, A. N.; BABA, N. New hypotheses on the pathways of formation of malondialdehyde and isofurans. *Free Radical Biol. Med.*, v. 49, p. 1594-1600, 2010.
- OPOKA, W.; ADAMEK, D.; PLONKA, M. et al. Importance of luminal and mucosal zinc in the mechanism of experimental gastric ulcer healing. *J. Physiology Pharma.* v. 61, p. 581-591, 2010.
- ORSINI, J. A.; HACKETT, E. S.; GRENAGER, N. The effect of exercise on equine gastric ulcer syndrome in the Thoroughbred and Standardbred athlete. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 29, p. 167-171, 2009.
- PAI, R.; SOREGHAN, B. A.; SZABO, I. L. et al. Prostaglandin E₂ transactivates EGF receptor: a novel mechanism for promoting colon cancer growth and gastrointestinal hypertrophy. *Nat. Med.*, v. 8, p. 289-293, 2002.
- PATTON, K.; WRIGHT, A.; KUROI, K. et al. Hemorrhagic gastritis associated with renal failure, hemoglobinuria, and isolation of *Clostridium perfringens* in a horse. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 29, p. 633-638, 2009.
- PELLEGRINE, F. L. A novel antibody test can help to differentiate gastric from colonic ulcers in horses, In: Proceedings of the 11th International Congress of the World Equine Veterinary Association, 2009, Guarujá. Sao Paulo - Brazil, 2009.
- PIETRA, M.; MORINI, M.; PERFETTI, G. et al. Comparison of endoscopy histology, and cytokine mRNA of the equine gastric mucosa. *Vet. Res. Commun.*, v. 34, p. 121-124, 2010.
- POLAT, B.; SULEYMAN, H.; HAKAN, A. H. Adaptation of rat gastric tissue against indomethacin toxicity. *Chemico-Biol. Interact.*, v. 186, p. 82-89, 2010.
- PRYOR, W. A.; HOUK, K. N.; FOOTE, C. S.; et al. Free radical biology and medicine: it's a gas, man! *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, v. 291, p. 491 – 511, 2006.
- RABUFFO, T. S.; ORSINI, J. A.; SULLIVAN, E. et al. Associations between age, sex and prevalence of gastric ulceration in Standardbred racehorses in training. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, v. 221, p. 1156-1159, 2002.
- RABUFFO, T. S.; HACKETT, E. S.; GRENAGER, N. et al. Prevalence of gastric ulcerations in horse whit colic. *J. Equine Vet. Sci.*, v. 29, p. 540-546, 2009.

- RADI, Z. A.; KHAN, N. K. Effects of cyclooxygenase inhibition on the gastrointestinal tract. *Experim. Toxic. Pathol.*, v. 58, p. 163-173, 2006.
- RADI, Z. A. Pathophysiology of cyclooxygenase inhibition in animal models. *Toxicol. Pathol.*, v. 37, p. 34-46, 2009.
- REES, W. D. W.; TURNBERG, L. A. Mechanisms of gastric mucosal protection: a role for the mucus-bicarbonate barrier. *Clin. Sci.*, v. 62, p. 343-348, 1982.
- REESE, R. E.; ANDREWS, F. M. Nutrition and Dietary Management of Equine Gastric Ulcer Syndrome. *Vet. Clin. Equine*, v. 25, p. 79-92, 2009.
- REUTER, B. K.; DAVIES, N. M.; WALLACE, J. L. Nonsteroidal anti-inflammatory drug enteropathy in rats: role of permeability, bacteria, and enterohepatic circulation. *Gastroenterology*, v. 112, p. 109 – 17, 1997.
- ROBERT, A.; NEZAMIS, J. E.; LANCASTER, C. et al. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCL, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterol.* v. 77, p. 433-443, 1983.
- ROCHA, G. A.; QUEIROZ, D. M.; MENDES, E.N. et al. Simple carbolfucsin staining for showing *C. pylori* and other spiral bacteria in gastric mucosa. *J. Clin. Pathol.*, v. 42, p. 1004-1005, 1989.
- RODRIGUES, N. L.; DORÉ, M.; DOUCETM, Y. Validation of a transendoscopic glandular and nonglandular gastric biopsy technique in horses. *Equine Vet. J.*, v. 41, p. 631-635, 2009.
- SAFARCHI, R.; MOZAFFARI, A. A.; DERAKHSHANFAR, A. et al. Evaluation of the effects of flunixin meglumine, ketoprofen and phenylbutazone administration on the brain, renal and hepatic functions in Iranian cross- breed goats. *J. Biol. Sci.*, v. 10, p. 170-173, 2010.
- SAMMON, A. M., IPUTO, J. E. Maize meal predisposes to endemic squamous cancer of the oesophagus in Africa: Breakdown of esterified linoleic acid to the free form in stored meal leads to increased intragastric PGE₂ production and low – acid reflux. *Med. Hypotheses*. v. 67, p. 1430-1435, 2006.
- SANCHEZ, S.; MARTIN, M.J.; ORTIZ, P. et al. Effects of dypirone on inflammatory infiltration and oxidative metabolism in gastric mucosa: comparison with acetaminophen and diclofenaco. *Dig. Dis. Sci.*, v. 47, p. 1389-1398, 2002.
- SANDIN, A.; ANDREWS, F. M.; NADEAU, J. A. et al. Effects of horse gastrin on gastric acid secretion in horses, dogs and rats. In: SANDIN, A. E.D. *Studies of gastrin and gastric secretion in the horse*. Uppsala: *Acta Univ. Agric. Sueciae*. 1999, p. 65-78.
- SANDIN, A.; SKIDELL, J.; HAGGSTROM, J. et al. Postmortem findings of gastric ulcers in Swedish horses older than age one year: a retrospective study of 3715 horses (1924-1996). *Equine Vet. J.*, v. 32, p. 36-42, 2000.
- SANTOS, V. L.; VIVIAM, B.; MACHADO, C. et al. Pharmacological studies of ethanolic extracts of *Maytenus rigida* Mart (Celastraceae) in animal models. *Br. J. Pharmac.*, v. 17, p. 336-342, 2007.
- SCHEIMAN, J. Balancing risks and benefits of cyclooxygenase-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, v. 38, p. 305-314, 2009.

- SCOTT, D. R.; MARCUS, E. A.; SHIRAZI-BEECHEY, S. S. et al. Evidence of Helicobacter infection in the horse. In: *Proceedings of the American Society of Microbiologists*. Washington, D.C. 2001. Washington, 2001, p. 287.
- SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and non-protein sulfhydryls groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.*, v. 25, p. 192-205, 1968.
- SIGTHORSSON, G.; SIMPSON, R. J.; WALLEY, M. et al. COX-1 and 2, intestinal integrity and pathogenesis of NSAID-enteropathy in mice. *Gastroenterol.*, v. 122, p. 1913-1923, 2002.
- SISSON, S.; GROSSMAN, J. Sistema digestivo de los Equinos. In: *Anatomía de los animales Domésticos*. 5. Ed. España: Salvat, 1985, p. 508-543.
- SLOMIANY, B. L.; PIOTROWSKI, J.; SLOMIANY A. Role of caspase - 3 and nitric oxide synthase in gastric mucosal injury induced by indomethacin: effect to sucralfato. *J. Physiol. Pharmacol.*, v. 50, p. 3-16, 1999.
- SLOMIANY, B. L.; SLOMIANY, A. Role of mucus in gastric mucosal protection. *J. Physiol. Pharmacol.*, v. 42, p. 147-161, 1991.
- SCHNEIDER, T.; ISSEKUTZ, A. C. Quantitation of eosinophil and neutrophil infiltration into rat lung by specific assays for eosinophil peroxidase and mieloperoxidase application in a Brown Norway rat model of allergic pulmonary inflammation. *J. Immunol. Meth.*, v. 198, p. 1-14, 1996.
- SOFFLER, C. Oxidative stress. *Vet. Clin. Equine*. v. 23, p. 135 - 157, 2007.
- SOJKA, J. E.; WEISS, J.S.; SAMUELS, M. L. et al. Effects of the somatostatin analogue octreotide on gastric fluid pH in ponies. *Am. J. Vet. Res.*, v. 53, p. 1818-1821, 1991.
- SOMA, L. R.; UBOH, C. E.; MAYLIN, G. M. The use of phenylbutazone in the horse. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, v. 35, p. 1-12, 2012.
- SPEIRS, V. C. The alimentary Tract. In: ROBINSON, N. E. Clinical examination of horses. Philadelphia: Saunders, 1997. p. 261-298.
- STROFF, T.; PLATE, S.; RESPONDEK, M. et al. Protection by gastrin in the rat stomach involves afferent neurons, calcitonin gene-related peptide, and nitric oxide. *Gastroenterol.*, v. 109, p. 89-97, 1995.
- SUN, J., ZHANG, X., BRODERICK, M. et al. Measurement of Nitric Oxide Production in Biological Systems by Using Griess Reaction Assay. *Sensors*, v. 3, p. 276-284, 2003.
- SUNDARESAN, R. D.; NARAYAN, S.; VANI, G. et al. Gastroprotective effect of Terminalia arjuna bark on diclofenac sodium induced gastric ulcer. *Chemico-Biol. Interact.*, v. 167, p. 71-83, 2007.
- TAKEUCHI, K.; YASUHIRO, T.; ASADA, Y. et al. Role of nitric oxide in pathogenesis of aspirin-induced gastric mucosal damage in rats. *Digestion*, v. 59, p. 298-307, 1998.
- TAMZALI, Y.; MARGUET, C.; PRIYMENKO, N. et al. Prevalence of gastric ulcer syndrome in high-level endurance horses. *Equine Vet. J.*, v. 43, p. 141-144, 2011.

- TANAKA, A.; ARAKI, H.; HASE, S. et al. Inhibition of both COX₁ and COX₂ is required for development of gastric damage in response to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J. Physiol. Paris.*, v. 95, p. 2-27, 2001.
- TANAKA, A.; ARAKI, H.; HASE, S. et al. Up-regulation of COX₂ by inhibition of COX₁ in the rat: a key to NSAID-induced gastric injury. *Aliment. Pharmacol. Ther.* v. 16, p. 90-101, 2002.
- TANAKA, A.; HATAZAWA, R.; TAKAHIRA, Y. et al. Preconditioning stress prevents cold restraint stress induced gastric lesions in rats: roles of COX-1, COX-2 and PLA₂. *Dig. Dis. Sci.*, v. 52, p. 478-487, 2007.
- TANAKA, K.; NISHIMOTO, K.; TOMISATO, W. et al. Adaptive Cytoprotection Induced by Pretreatment with Ethanol Protects Against Gastric Cell Damage by NSAIDs. *Dig. Dis. Sci.*, v. 49, p. 210-217, 2004.
- TARNAWSKI, A.; TANOUE, K.; SANTOS, A. M.; et al. Cellular and molecular mechanisms of gastric ulcer healing. Is the quality of mucosal scar affected by treatment? *Scand. J. Gastroenterol.*, v. 210, p. 9-14, 1995.
- THIM, L.; MADSEN, F.; POULSEN, S.S. Effect of trefoil factors on the viscoelastic properties of mucus gels. *Eur. J. Clin. Invest.*, 32, p. 519-527, 2002.
- TILLOTSON, K.; TRAUB-DARGATZ, J. Gastrointestinal protectants and cathartics. *Vet. Clin. Equine*, v. 19, p. 599-615, 2003.
- TOMISATO, W.; TSUTSUMI, S.; HOSHINO, T. et al. Role of direct cytotoxic effects of NSAID in the induction of gastric lesions. *Bioch. Pharmacol.*, v. 67, p. 575-585, 2004.
- TOMLINSON, J.; BLIKSLAGER, A. Role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in gastrointestinal tract injury and repair. *J.A.V.M.A.*, v. 222, p. 946-951, 2003.
- TOMLINSON, J. E.; WILDER, B. O.; YOUNG, K. M. et al. Effects of flunixin meglumine or etodolac treatment on mucosal recovery of equine jejunum after ischemia. *Am. J. Vet. Res.*, v. 65, p. 761-769, 2004.
- TSUTSUMI, S.; MIMA, S.; TOMISATO, W. et al. Molecular mechanism of adaptive cytoprotection induced by ethanol in human gastric cells. *Exp. Biol. Med.* v. 228, p. 1089-1095, 2003.
- TWARDOWSCHY, A. *Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das cascas de Tabebuia avellanedae Lorentz ex Griseb (Bignoniaceae)*. 2007. 76f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) Departamento de Farmacologia da Universidade Federal de Paraná, Curitiba.
- VATISTAS, N. J.; SNYDER, J. R.; CARLSON, G. et al. Cross sectional study of gastric ulcers of the squamous mucosa in Thoroughbred racehorses. *Equine Vet. J. Supp.*, v. 29, p. 34-39, 1999.
- VARLOUD, M.; FONTY, G.; ROUSSEL, A. et al. Postprandial kinetics of some biotic and abiotic characteristics of the gastric ecosystem of horses fed a pelleted concentrate meal. *J. Anim. Sci.*, v. 85, p. 2508-2516, 2007a.
- VARLOUD, M.; ROUSSEL, A.; BOISOT, P. et al. A technique for the collection and the study of biochemical and microbial characteristics of postprandial gastric contents from conscious horses. *Animal Feed Sci. Technol.*, v. 133, p. 259-274, 2007b.

- VIDELA, R.; ANDREWS, F. New perspectives in Equine Gastric Ulcer Syndrome. *Vet. Clin. Equine.*, v. 25, p. 283-301, 2009.
- VISIOLI, F.; POLI, A.; GALL, C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med. Res. Rev.*, v. 22, p. 66-75, 2002.
- WALLACE, J. L.; GRANGER, D. N. Pathogenesis of NSAID gastropathy: are neutrophils the culprits?. *Trends Pharmacol. Sci.* v. 13, p. 129-131, 1992.
- WALLACE, J. L.; MCKNIGHT, W.; REUTER, B. K. et al. NSAID-induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterol.*, v. 119, p. 706-714, 2000.
- WALLACE, J. L.; MILLER, M. J. Nitric oxide in mucosal defense: a little goes a long way. *Gastroenterol.*, v. 119, p. 512-520, 2000.
- WEISS, J.S.; LOBUGLIO, A.F. Phagocyte – generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab. Invest.*, v. 47, p. 5 – 16, 1982.
- WEYENBERG, S. V.; SALES, J.; JANSSENS, G. P. J. Passage rate of digesta through the equine gastrointestinal tract: A review. *Livestock Sci.*, v. 99, p. 3-12, 2006.
- WHITTLE, B.J.R. Temporal relationship between cyclooxygenase inhibition, as measured by prostacyclin biosynthesis, and the gastrointestinal damage induced by indomethacin in the rat. *Gastroenterol.*, v. 80, p. 94-98, 1981.
- WINK, D. A.; MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G. et al. Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxid. Redox. Signal.*, v. 3, p. 203- 213, 2001.
- YAMANDA, T.; DEITCH, E.; SPECIAN, R. D. et al. Mechanisms of acute and chronic intestinal inflammation induced by indomethacin. *Inflammation*, v. 17, p. 641-662, 1993.
- YANG, LI; WEI-PING, WANG; HONG-YING, WANG; et al. Intragástric administration of heparin enhances gastric ulcer healing through a nitric oxidized-dependent mechanism in rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 399, p. 205 – 214, 2000.
- YANG, Y. H., WU, W. K.; TAI, E. K. et al. The cationic host defense peptide rCRAMP promotes gastric ulcer healing in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, v. 318, p. 547-554, 2006.
- YOUNAN, F.; PEARSON, J.; ALLEN, A. et al. Changes in the structure of the mucus gel in the mucosal surface of the stomach in association with peptic ulcer disease. *Gastroenterol.*, v. 82, p. 827-831, 1982.