

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA-UFPB  
LABORATÓRIO DE TECNOLOGIA FARMACÊUTICA PROF. DELBY FERNANDES  
DE MEDEIROS -LTF  
LABORATÓRIO DE ENSAIOS TOXICOLÓGICOS – LABETOX  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS  
BIOATIVOS

IGARA OLIVEIRA LIMA

Avaliação farmacológica do extrato metanólico bruto e da fase n-  
butanólica obtida da espécie *Herissantia crispera* (L.) Brizicky em  
modelos animais frente à atividade antiulcerogênica

João Pessoa, PB  
2008

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

IGARA OLIVEIRA LIMA

Avaliação farmacológica do extrato metanólico bruto e da fase n-butanólica obtida da espécie *Herissantia crispera* (L.) Brizicky em modelos animais frente à atividade antiulcerogênica

Dissertação apresentada ao Programa em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes Medeiros do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba como requisito para a obtenção do título de mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na área de Farmacologia.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Leônia Maria Batista

João Pessoa – PB  
2008

L732a Lima, Igara Oliveira.  
Avaliação farmacológica do extrato metanólico bruto e da fase n-butanólica obtida da espécie *Herissantia crispera* (L.) Brizicky em modelos animais frente à atividade antiulcerogênica - João Pessoa, 2008.  
112p.  
Orientadora: Leônia Maria Batista  
Dissertação (mestrado). UFPB/CCS  
1-Gastroenterologia. 2.Úlcera gástrica. 3. Flavonóides. 4. *Herissantia crispera*.

UFPB/BC

CDU 616.33 (043)

IGARA OLIVEIRA LIMA

Avaliação farmacológica do extrato metanólico bruto e da fase n-butanólica obtida da espécie *Herissantia crispera* (L.) Brizicky em modelos animais frente à atividade antiulcerogênica.

Dissertação apresentada ao Programa em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica Prof. Delby Fernandes Medeiros do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba como requisito para a obtenção do título de mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na área de Farmacologia.

Aprovado em 05 de março de 2008

BANCA EXAMINADORA

---

Profa Dra Leônia Maria Batista  
Orientadora - UFPB

---

Profa Dra Margareth de Fátima Formiga de Melo Diniz  
Examinadora interna - UFPB

---

Prof Dr Josemar Sena Batista  
Examinador externo - UFS

Dedico esse trabalho aos meus pais, Solano e Edel  
e as minhas irmãs, Maíra e Catiana.

## AGRADECIMENTOS

À minha família por sempre me incentivar e apoiar em todos os momentos;

À Profa. Dra. Leônia Maria Batista, pela orientação e por ter acreditado em mim;

Ao grupo de pesquisa em úlcera gástrica – Heloína Falcão, Guilherme Eduardo, Sabrina Melo, Jacqueline Alvez, Juliana Moura, Vanda Lúcia e Kelly Lira;

À Profa. Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza e sua equipe, pelo fornecimento do material fitoquímico para a investigação farmacológica;

À Profa. Dra. Maria de Fátima Agra pela identificação a espécie vegetal em estudo;

À Profa. Dra. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz e sua equipe, por terem cedido o ambiente de trabalho para que fosse possível a execução desse e de outros trabalhos em úlcera gástrica;

A Profa. Dra. Márcia Piuvezam, ao Prof. Dr. Isac Medeiros e suas respectivas equipes, por muitas vezes terem cedido equipamentos para execução de alguns experimentos;

Aos funcionários Crispim Duarte, Luiz Cordeiro e Adriano Cordeiro;

Aos demais funcionários do LTF por terem possibilitado a execução do presente trabalho;

Aos colegas Wyly Araújo e Antônio Cláudio por terem contribuído de forma indireta ao trabalho;

À Fundação de Apoio às Pesquisas do Estado da Paraíba (FAPESQ) e CAPES pelo suporte financeiro ao grupo de pesquisa em úlcera gástrica.

## RESUMO

**Título:** Avaliação farmacológica do extrato metanólico bruto e da fase n-butanólica obtida da espécie *Herissantia crispera* (L.) Brizicky em modelos animais frente à atividade antiulcerogênica. LIMA, I. O. 2008.

*Herissantia crispera* (L.) Brizicky (Malvaceae) não possui indicação popular, entretanto, baseado em critérios quimiotaxonômicos, a espécie vegetal foi selecionada para estudo, uma vez que a mesma pertence a uma família rica em flavonóides. O extrato metanólico bruto (EMeOH) e a Fase n-butanólica (F. n-ButOH) obtidos das partes aéreas de *H. crispera* foram avaliados quanto a toxicidade e ação antiulcerogênica. Na triagem comportamental, o EMeOH não alterou os parâmetros avaliados, nas doses crescentes até 2000 mg/kg (i.p.) e 5000 mg/kg (v.o.), com isso, estes resultados indicam que o EMeOH é de baixa toxicidade, além de apresentar ausência de morte, sendo assim, não foi possível determinar a dose letal 50% (DL<sub>50</sub>). O EMeOH (250, 500 e 750 mg/kg) e a F. N-ButOH (125, 250 e 500 mg/kg), administrados oralmente, foram estudados em modelos de indução aguda de úlcera gástrica induzida por etanol em ratos, por estresse (imobilização e frio) e antiinflamatório não – esteroideal em camundongos. Nestes modelos, ambas as amostras vegetais inibiram as lesões ulcerativas induzidas por tais agentes. Nas úlceras induzidas por contensão do suco gástrico no modelo de ligadura de piloro, o EMeOH (500 mg/kg, i.d.) e a F. n-ButOH (125 mg/kg, i.d.) reduziram significativamente as lesões ulcerativas, resultando também na atividade antiulcerogênica. No mesmo modelo, o EMeOH (500 mg/kg, i.d.) e a F. n-ButOH (125 mg/Kg, i.d.) não alteraram o pH e a concentração de íons, entretanto os mesmos reduziram o volume gástrico. Na tentativa de elucidar os mecanismos de ação da atividade antiulcerogênica do EMeOH e da F. n-ButOH, foram avaliadas as participações do muco, dos grupamentos sulfidrilas e do óxido nítrico. A F. n-ButOH (125 mg/kg) aumentou a produção de muco de forma significativa; o EMeOH (500 mg/kg) e a F. n-ButOH (125 mg/kg) administrados oralmente, possuem ação gastroprotetora independente da via do óxido nítrico e a citoproteção exercida pelo EMeOH (500 mg/kg) é dependente de grupamentos sulfidrilas. Com isso é possível sugerir que a atividade antiulcerogênica poderá está relacionada com mecanismo citoprotetor e possível ação anti-secretória e antioxidante.

**Palavras-chaves:** úlcera gástrica, flavonóides, *Herissantia crispera*



## ABSTRACT

**Title:** Pharmacologic evaluation of methanolic extract and of the n-butanolic fraction obtained of specie *Herissantia crispera* (L.) Brizicky in animal models against antiulcerogenic activity. LIMA, I. O. 2008.

*Herissantia crispera* (L.) Brizicky (Malvaceae) do not have popular indication, however this specie was choose according quimiotaxonomic criteria, because this plant belongs to family that is rich in flavonoids. The toxicity and antiulcerogenic activity of the methanolic extract (EMeOH) and n-butanolic fraction (F. n-ButOH) obtained of the aerial parts of *H. crispera* were valued. On the behaviour evaluation, the EMeOH did not change the valued paramenters, at the increasing doses up to 2000 mg/kg (i.p.) and 5000 mg/kg (v.o.). These results indicate that the EMeOH do had low toxicity. The EMeOH did not cause death in the animal, so, it was not possible to calculate the letal dose determination 50% (LD<sub>50</sub>). The EMeOH (250, 500 and 750 mg/kg) and F. n-ButOH (125, 250 and 500 mg/kg), administrated orally, they were studied on models that induce gastric ulcers, like, ethanol in rats, stress (restriction and cold) and non steroidal anti-inflammatory (piroxicam) in mice. On these models, the vegetable samples inhibited the ulcerative lesions induced by these agents. On the ulcers induced on pyloric model, the EMeOH (500 mg/kg) and F. n-ButOH (125 mg/kg) reduced the ulcerative lesions. On the same model, the EMeOH (500 mg/kg) and F. n-ButOH (125 mg/kg) did not altered the pH and ions concentration, however, this vegetable samples reduced the gastric volume. To elucidate the action mechanisms of gastroprotective activity of EMeOH and F. n-ButOH, it was studied the participation of mucus, sulphhydryls group and nitric oxide. The F. n-ButOH (125 mg/kg) increase the production of mucus; the EMeOH (500 mg/kg) and the F. n-ButOH (125 mg/kg) orally, have gastroprotective action independent of nitric oxide and the antiulcerogenic activity of the EMeOH (500 mg/kg) is dependent of sulphhydryls group. It is possible to suggest that gastroprotective action of EMeOH and F. n-ButOH can be related with citprotective nechanism, and anti-secretory and antioxidant activity can be related.

**Key-words:** gastric ulcer, flavonoids, *Herissantia crispera*

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Trato gastrintestinal	17
<b>Figura 2.</b> Regiões anatômicas do estômago	17
<b>Figura 3.</b> Camadas do estômago	18
<b>Figura 4.</b> Composição celular de uma glândula gástrica	19
<b>Figura 5.</b> Mudanças morfológicas da célula parietal durante o processo da secreção ácida	19
<b>Figura 6.</b> Regulação da acidez gástrica	23
<b>Figura 7.</b> Mecanismo da secreção ácida na célula parietal quando estimulada pela gastrina e acetilcolina.	25
<b>Figura 8.</b> Mecanismo da secreção ácida na célula parietal quando estimulada pela histamina.	26
<b>Figura 9.</b> Formação de íons H <sup>+</sup> na célula parietal.	27
<b>Figura 10.</b> Proteção da mucosa gástrica.	34
<b>Figura 11.</b> Sistema antioxidante enzimático e não enzimático	35
<b>Figura 12.</b> Úlcera péptica	37
<b>Figura 13.</b> Núcleo fundamental dos flavonóides	46
<b>Figura 14.</b> Partes aéreas de <i>Herissantia crisper</i> L. (Brizicky)	49
<b>Figura 15.</b> Flavonóides isolados da <i>H. crisper</i>	50
<b>Figura 16.</b> Marcha fitoquímica para a obtenção do EMeOH e a F. n-ButOH	54
<b>Figura 17.</b> Estômago de rato ulcerado com etanol	56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Efeitos da administração oral do lansoprazol e EMeOH obtido das partes aéreas de <i>H. crispa</i> nas lesões gástricas induzidas por etanol em ratos.	64
<b>Tabela 2.</b> Efeitos da administração oral do lansoprazol e F. n-ButOH obtida das partes aéreas de <i>H. crispa</i> nas lesões gástricas induzidas por etanol em ratos.	65
<b>Tabela 3.</b> Efeito da administração oral da cimetidina e do EMeOH obtido de <i>H. crispa</i> nas lesões gástricas induzidas por estresse (imobilização e frio) em camundongos.	66
<b>Tabela 4.</b> Efeitos da administração oral da cimetidina e da F. n-ButOH obtida de <i>H. crispa</i> nas lesões gástricas induzidas por estresse (imobilização e frio) em camundongos.	66
<b>Tabela 5.</b> Efeitos da administração oral da cimetidina e do EMeOH obtido das partes aéreas de <i>H. crispa</i> nas lesões gástricas induzidas por antiinflamatório não esteroideal (piroxicam) em camundongos.	67
<b>Tabela 6.</b> Efeitos da administração oral da cimetidina e da F. n-ButOH obtida das partes aéreas de <i>H. crispa</i> nas lesões gástricas induzidas por antiinflamatório não esteroideal (piroxicam) em camundongos.	68
<b>Tabela 7.</b> Efeitos da administração intraduodenal da cimetidina, EMeOH e F. n-ButOH nas lesões gástricas induzidas por contensão da secreção gástrica através da ligadura de piloro em ratos.	69
<b>Tabela 8.</b> Efeito da administração intraduodenal de cimetidina, EMeOH e F. n-ButOH obtidos das partes de <i>H. crispa</i> sobre os parâmetros bioquímicos do suco gástrico após a ligadura de piloro em ratos.	70

## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1.** Efeito da administração oral da carbenoxolona e da F. n-ButOH obtida de *H. crispa* na produção de muco. 71
- Gráfico 2.** Efeito da administração oral de carbenoxolona, EMeOH e F. n-ButOH obtidos das partes aéreas de *H. crispa* em úlceras gástricas induzidas por etanol em ratos pré-tratados com L-NAME. 72
- Gráfico 3.** Efeito da administração oral de carbenoxolona, EMeOH e F. n-ButOH obtidos das partes aéreas de *H. crispa* em úlceras gástricas induzidas por etanol em ratos pré-tratados com NEM. 74

## LISTA DE ABREVIATURAS

AMPc = Adenosina 3',5'-monofosfato cíclica;  
AD = Ciclase de adenilil;  
ATP = Adenosina trifosfato;  
CAT = Catalase;  
CCK<sub>2</sub> = Receptor de colecistocinina do tipo 2;  
COX = Enzima cicloxigenase;  
DL<sub>50</sub> = Dose letal 50%;  
ECL = Célula semelhante à enterocromafin;  
EMeOH = Extrato metanólico bruto;  
EROs = espécies reativas de oxigênio;  
F. n-ButOH = Fase n-butanólica;  
GMPc = Guanosina 3', 5'-monofosfato cíclica;  
GR = Glutaciona redutase;  
GSH = Glutaciona não protéica;  
GSH – Px = Glutaciona peroxidase;  
GSSG = Glutaciona oxidada;  
GST = Glutaciona transferase;  
H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase = Bomba de próton potássio ATPase;  
HCl = Ácido clorídrico;  
HGF = Fator de crescimento hepático;  
i.d. = intraduodenal;  
L-Name = N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginina-metil-ester;  
LT = Leucotrieno;  
NEM = N-etilmaleimida;  
NO = Óxido nítrico;  
NOS = Enzima sintase de óxido nítrico;  
PG = Prostaglandina;  
PKA = Proteína fosfocinase A;  
PKC = Proteína fosfocinase C;  
SH = Grupamento sulfidril ou tiol;  
SNC = Sistema Nervoso Central;

SNA = Sistema Nervoso Autônomo;

SOD = Supéroxido desmutase;

SST<sub>2</sub> = Receptor de somatostatina;

TGF = Fator de crescimento transformador;

TNF = Fator de crescimento tumoral;

VEGF = Fator de crescimento endotelial.

v.o. = via oral

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	15
1.2 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO ESTÔMAGO	16
1.2.1 Secreção ácida gástrica	21
1.2.2 Proteção do estômago	27
1.2.2.1 Defesa pré-epitelial: Muco e bicarbonato	27
1.2.2.2 Defesa epitelial: Epitélio da mucosa gástrica	29
1.2.2.3 Defesa sub-epitelial: Fluxo sanguíneo	29
1.2.2.4 Fatores que modulam a barreira gástrica	30
1.3 FISIOPATOLOGIA DA ÚLCERA GÁSTRICA	36
1.4 TERAPÊUTICA DA ÚLCERA PÉPTICA	40
1.5 PLANTAS COMO FONTE DE NOVAS ALTERNATIVAS NA TERAPÊUTICA	43
1.5.1 Plantas no tratamento da úlcera péptica	45
1.5.2 Fitoconstituintes	45
1.6 ESPÉCIE SELECIONADA : <i>Herissantia crispa</i> (L.) Brizicky	48
2. OBJETIVOS	52
2.1 GERAL	52
2.2 ESPECÍFICOS	52
3. MATERIAIS E MÉTODOS	53
3.1 LOCAL DA PESQUISA	53
3.2 FINANCIAMENTO	53
3.3 ESPÉCIE VEGETAL	53
3.4 ANIMAIS	54
3.5 DROGAS UTILIZADAS	55
3.6 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES TOXICOLÓGICA E FARMACOLÓGICA DE <i>Herissantia crispa</i> L. (Brizicky)	55

3.6.1 Triagem farmacológica comportamental e determinação da dose letal 50% (DL <sub>50</sub> )	57
3.6.2 investigação da atividade antiulcerogênica	57
3.6.2.1 Indução de úlcera gástrica por etanol	57
3.6.2.2 Indução de úlcera gástrica por etanol por estresse (imobilização e frio)	58
3.6.2.3 Indução de úlcera gástrica por etanol por antiinflamatório não-esteroidal (piroxicam)	58
3.6.3 Indução de úlcera gástrica por contensão e avaliação dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico através do modelo de ligadura de piloro	59
3.6.4 Avaliação dos mecanismos de ação envolvidos na atividade antiulcerogênica	60
3.6.4.1 Determinação de muco aderido à mucosa gástrica	60
3.6.4.2 Participação do óxido nítrico (NO) na citoproteção	60
3.6.4.3 Participação dos grupamentos sulfidrilas (SH) na citoproteção	61
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA	61
4. RESULTADOS	63
4.1 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES TOXICOLÓGICA E FARMACOLÓGICA DE <i>Herissantia crispa</i> L. (Brizicky)	63
4.1.1 Triagem farmacológica comportamental e determinação da dose letal 50% (DL <sub>50</sub> )	63
4.1.2 Investigação da atividade antiulcerogênica	63
4.1.2.1 Indução de úlcera gástrica pelo etanol	64
4.1.2.2 Indução de úlcera gástrica pelo estresse (imobilização e frio)	65
4.1.2.3 Indução de úlcera gástrica pelo antiinflamatório não-esteroidal (piroxicam)	67
4.1.2.4 Indução de úlcera gástrica por contensão da secreção gástrica no modelo de ligadura de piloro	68
4.2.2 Avaliação dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico através do modelo de ligadura de piloro	69
4.3.1 Avaliação dos mecanismos de ação envolvidos na atividade antiulcerogênica de <i>H. crispa</i>	70



4.3.1.1 Determinação do muco aderido na mucosa gástrica	70
4.3.1.2 Participação do óxido nítrico (NO) na citoproteção	71
4.3.1.3 Participação dos compostos sulfidrílicos na citoproteção	73
5. DISCUSSÃO	75
6. CONCLUSÃO	89
7. PERSPECTIVAS	90
REFERÊNCIAS	91
ANEXO	111

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

As plantas têm sido utilizadas de forma empírica como drogas para tratamento de doenças durante séculos, sendo uma das mais antigas formas de práticas medicinais (TAYLOR, et al., 2001; VEIGA-JÚNIOR et al., 2005), através do conhecimento repassado de geração a geração (TAYLOR, et al., 2001). A investigação das plantas medicinais a partir das informações fornecidas pela medicina popular e fitoterapia tem ganhado espaço na pesquisa científica, com o objetivo de desenvolver novas drogas efetivas que não apresentem efeitos tóxicos ou possuam baixa toxicidade (TAYLOR, et al., 2001).

As plantas medicinais apresentam ampla distribuição, entretanto, são abundantemente encontradas em países tropicais. Tais plantas têm exercido um papel chave nos cuidados a saúde, e apesar dos avanços na medicina moderna em décadas recentes, as plantas ainda contribuem de forma essencial para o tratamento de doenças e cuidados básicos de saúde (CALIXTO, 2000).

Grande parte da população de países em desenvolvimento utiliza as plantas medicinais para o tratamento de enfermidades devido ao alto custo dos medicamentos industrializados (TAYLOR, et al., 2001; VEIGA-JÚNIOR, 2005); além do difícil acesso aos centros de atendimento hospitalares e por estas fazerem parte de um contexto cultural (VEIGA-JÚNIOR, 2005).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou, no início da década de 90, que cerca de 65 a 80 % da população de países em desenvolvimento dependiam de plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde (AKERELE, 1993).

As empresas farmacêuticas, incluindo as multinacionais, têm demonstrado interesse na comercialização de medicamentos à base de plantas medicinais. Neste sentido, é estimado que apenas o comércio Europeu alcançou cerca de 7 bilhões de dólares em 1997 (CALIXTO, 2000).

Alguns autores relatam que as florestas tropicais abrigam cerca de 600 mil espécies vegetais (DAVID et al., 2004). No Brasil, a diversidade genética de plantas

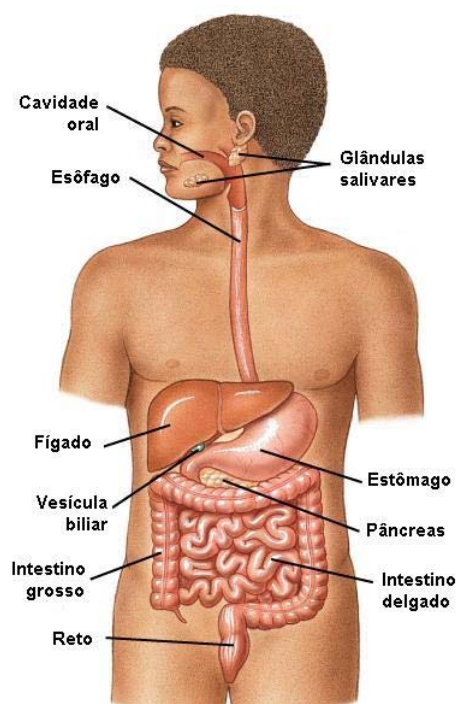
medicinais compreende cerca de 55 000 espécies identificadas de um total estimado entre 350 000 a 500 000 espécies vegetais existentes no mundo, e aproximadamente dois terços dessas são encontradas nos trópicos. Desta forma, nosso país ocupa uma posição privilegiada, uma vez que possui uma grande diversidade de espécies vegetais (BRAZ-FILHO, 1999).

No Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são utilizadas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes (VEIGA-JÚNIOR, 2005). Com base nessas afirmações, a pesquisa com plantas medicinais se torna importante, uma vez que irá validar as ações farmacológicas das mesmas. É importante considerar que para estudar as possíveis ações biológicas de plantas, se faz necessária uma integração multidisciplinar, envolvendo as áreas da botânica, química, farmacologia e toxicologia e tem como fim viabilizar os estudos de eficácia e segurança das espécies vegetais na perspectiva de correlacionar os constituintes ativos às atividades farmacológicas (RATES, 2001).

É nesse contexto, que pode-se verificar a necessidade de se pesquisar cada vez mais as possíveis ações biológicas de plantas, sendo necessária a integração multidisciplinar. Neste sentido, o grupo de pesquisa em úlcera péptica do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba tem procurado estudar o efeito de espécies vegetais sob úlceras gástricas produzidas em modelos experimentais que mimetizam tal doença no homem, com o objetivo de contribuir para o entendimento da fisiopatologia da úlcera, além de contribuir para o uso racional de espécies vegetais.

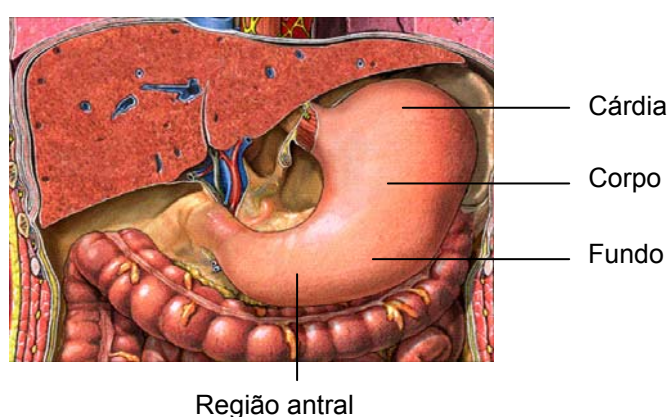
## 1.2 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO ESTÔMAGO

O trato gastrintestinal é composto pela cavidade oral, esôfago, estômago, intestino delgado e grosso, reto e ânus. O estômago corresponde à parte dilatada do trato gastrintestinal e tem a função de armazenar alimentos, digerir proteínas, absorver ferro e proteínas, além de eliminar microrganismos (Figura 1) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; KUTCHAI, 2004 a).



**Figura 1.** Trato gastrointestinal. (Fonte: SILVERTHON, 2003 a)

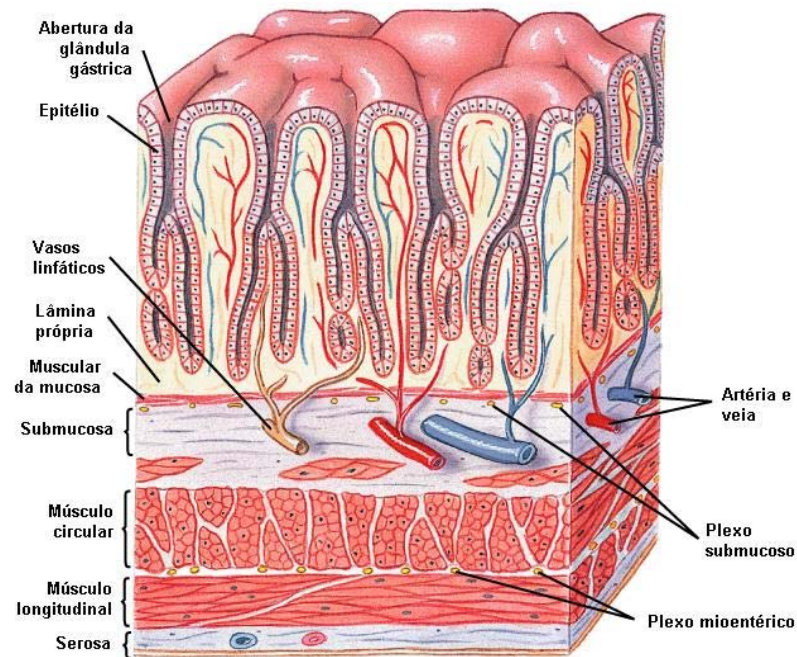
O estômago é dividido em quatro regiões anômicas: cárdia, corpo, fundo e antro (Figura 2), as quais apresentam revestimento epitelial constituído de células prismáticas. A superfície epitelial do estômago origina depressões (fossetas gástricas) onde se localizam as glândulas gástricas. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; EL-ZIMAITY, 2007).



**Figura 2.** Regiões anômicas do estômago (Fonte: POTTER, 2008).

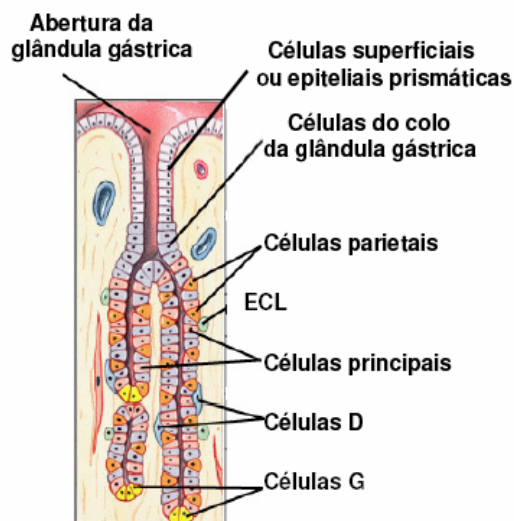
Como todo o trato gastrointestinal, o estômago é constituído, histologicamente, de camadas teciduais: a mucosa (revestida por células prismáticas), a submucosa (constituída de tecido conjuntivo frouxo com colágeno,

fibrilas de elastina, vasos sanguíneos e linfáticos); a muscular externa (constituída de duas camadas musculares lisas, sendo uma circular ou interna e longitudinal ou externa); e a serosa ou adventícia, camada mais externa (constituída principalmente de tecido conjuntivo) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; KUTCHAI, 2004 b; SILVERTHON, 2003 a; LIU; CRAWFORD, 2005) (Figura 3).



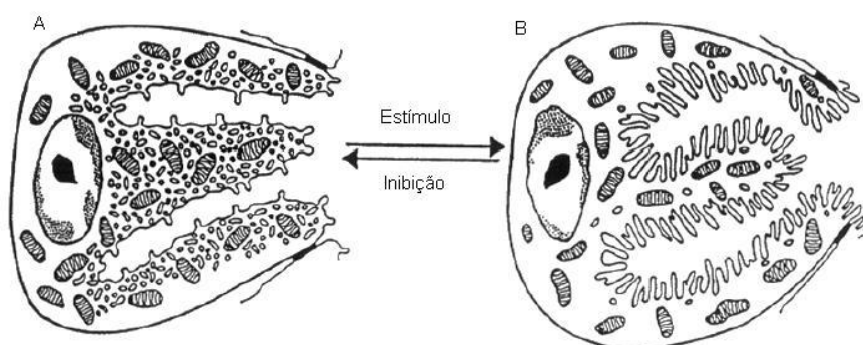
**Figura 3.** Camadas do estômago (Fonte: SILVERTHON, 2003 a).

Nas glândulas gástricas, se encontram as células responsáveis pela secreção do suco gástrico: células parietais, que secretam HCl e fator intrínseco; células principais, responsáveis pela secreção de pepsinogênio; células produtoras de muco, encarregadas de secretarem muco e bicarbonato; células enterocromafins, células D e células G, que secretam histamina, somatostatina e gastrina, respectivamente, hormônios responsáveis pela regulação da secreção ácida gástrica (SILVERTHORN, 2003 a; KUTCHAI, 2004 a; EL-ZIMAITY, 2007) (Figura 4).



**Figura 4.** Composição celular de uma glândula gástrica (Fonte: SILVERTHORN, 2003a).

As células parietais quando estimuladas, sofrem alterações morfológicas através da fusão das membranas das tubovesículas com as membranas plasmáticas dos canalículos secretores intracelulares, aumentando de forma significativa o número de sítios bombeadores do ácido clorídrico (FORTE; YAO, 1996; URUSHIDANI; FORTE, 1997; YAO, FORTE, 2003; KUTCHAI, 2004a) (Figura 5).



**Figura 5.** Mudanças morfológicas da célula parietal durante o processo da secreção ácida. A) Célula parietal em repouso; B) Célula parietal estimulada (Fonte FORTE; YAO, 1996).

O trato gastrintestinal (TGI) é innervado por neurônios intrínsecos e extrínsecos aferentes e eferentes; essa complexa innervação do TGI permite um controle adequado das atividades secretoras e motoras através dos arcos reflexos intrínsecos e extrínsecos (KUTCHAI, 2004b).

As ações contrátil e secretórias do TGI são controladas pelo Sistema Nervoso Central (SNC), Sistema Nervoso Entérico (SNE), hormônios e substâncias

parácrinas. A motilidade gástrica tem como principais funções: 1) permitir que o estômago sirva como reservatório de alimento; 2) quebrar o bolo alimentar em partículas menores e misturá-las com a secreção gástrica, possibilitando a digestão; 3) esvaziar o conteúdo gástrico no duodeno a um fluxo controlado (KUTCHAI, 2004b).

O sistema nervoso entérico (SNE) é constituído de plexo mioentérico (plexo de Auerbach) e submucoso (plexo de Meissner). O primeiro, se localiza logo abaixo da camada muscular da mucosa e o segundo, entre as camadas musculares lisas circular e longitudinal. Os plexos submucoso e mioentérico são constituídos de redes de fibras nervosas e corpos de células ganglionares. (KUTCHAI, 2004b) (Figura 3).

A inervação extrínseca do trato gastrintestinal, via nervos simpáticos e parassimpáticos, projeta-se sobre os plexos mioentérico e submucoso, com a finalidade de excitar ou inibir os plexos neuronais determinados. Desta forma, através do SNE, a inervação extrínseca coordena as funções motoras e secretórias do TGI. Entretanto, na ausência dos estímulos extrínsecos, a regulação das atividades do TGI é mantida pelo SNE (KUTCHAI, 2004b).

Os neurônios aferentes intrínsecos (locais) fornecem ramos dos arcos reflexos locais e centrais. Tais ramos possuem nas suas terminações quimiorreceptores e mecanorreceptores, na mucosa; e os corpos celulares destes receptores sensoriais se localizam nos plexos mioentérico e submucoso e desta forma, qualquer mudança perceptível aos neurônios sensoriais resulta em alterações na secreção e motilidade gastroduodenais (KUTCHAI, 2004b).

Os neurônios aferentes extrínsecos se originam nos gânglios nodosos (neurônios aferentes vagais) e raízes dorsais (neurônios aferentes espinhais). Os mesmos são responsáveis pela liberação de neuropeptídeos que agem como mensageiros químicos, a exemplo do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), que têm como função informar o SNC, através das sensações de desconforto e dor, quando o TGI se encontra danificado; desencadeando reações autonômicas e endócrinas, contribuindo para a homeostasia do TGI (HOLZER, 2000 a).

Os neurônios eferentes simpáticos e parassimpáticos se comunicam de forma direta com o TGI, e de forma indireta através do SNE, regulando as funções das camadas musculares externa e da mucosa, além das células endócrinas, secretórias e dos vasos sanguíneos (KUTCHAI, 2004 b).

Em geral, os nervos parassimpáticos estimulam a motilidade do músculo liso gástrico e as secreções gástricas, enquanto que o simpático as inibe. Neste processo, vários neurotransmissores estão envolvidos, a exemplo da acetilcolina (ACh), peptídeo relacionado com o gene da calcitonina (CGRP), óxido nítrico (NO), substância P, dentre outros neuromoduladores. A ACh e a substância P aumentam a motilidade, sendo que a primeira ainda estimula a secreção de células parietais; o CGRP estimula a produção de NO, que age causando relaxamento das células musculares lisas (KUTCHAI, 2004b).

### 1.2.1 Secreção ácida gástrica

O líquido secretado pelo estômago é denominado suco gástrico, este constitui uma mistura de secreções de células epiteliais superficiais e glândulas gástricas e tem como componentes HCl, íons, sais, água, pepsina, fator intrínseco, muco e bicarbonato (SILVERTHORN, 2003a; KUTCHAI, 2004 a). Por dia, o estômago secreta cerca de 2,5 L de suco gástrico (RANG et al., 2007). A secreção das células parietais é uma solução isotônica de HCl (150 nmol/L com pH abaixo de 1, sendo a concentração de íons hidrogênio, no lúmen gástrico, mais que um milhão de vezes mais alta que a do plasma (RANG et al., 2007).

A secreção de HCl no estômago se faz necessária, uma vez que este possui um importante papel na digestão de proteínas (SCHUBERT, 2003; HOU; SCHUBERT, 2006; CUI; WALDUM, 2007), através da ativação do pepsinogênio em pepsina (KUTCHAI, 2004a); na absorção do ferro; na eliminação de microrganismos (SCHUBERT, 2003; HOU; SCHUBERT, 2005; CUI; WALDUM, 2007), e na absorção da vitamina B<sub>12</sub> e cálcio (SCHUBERT, 2003; HOU; SCHUBERT, 2006).

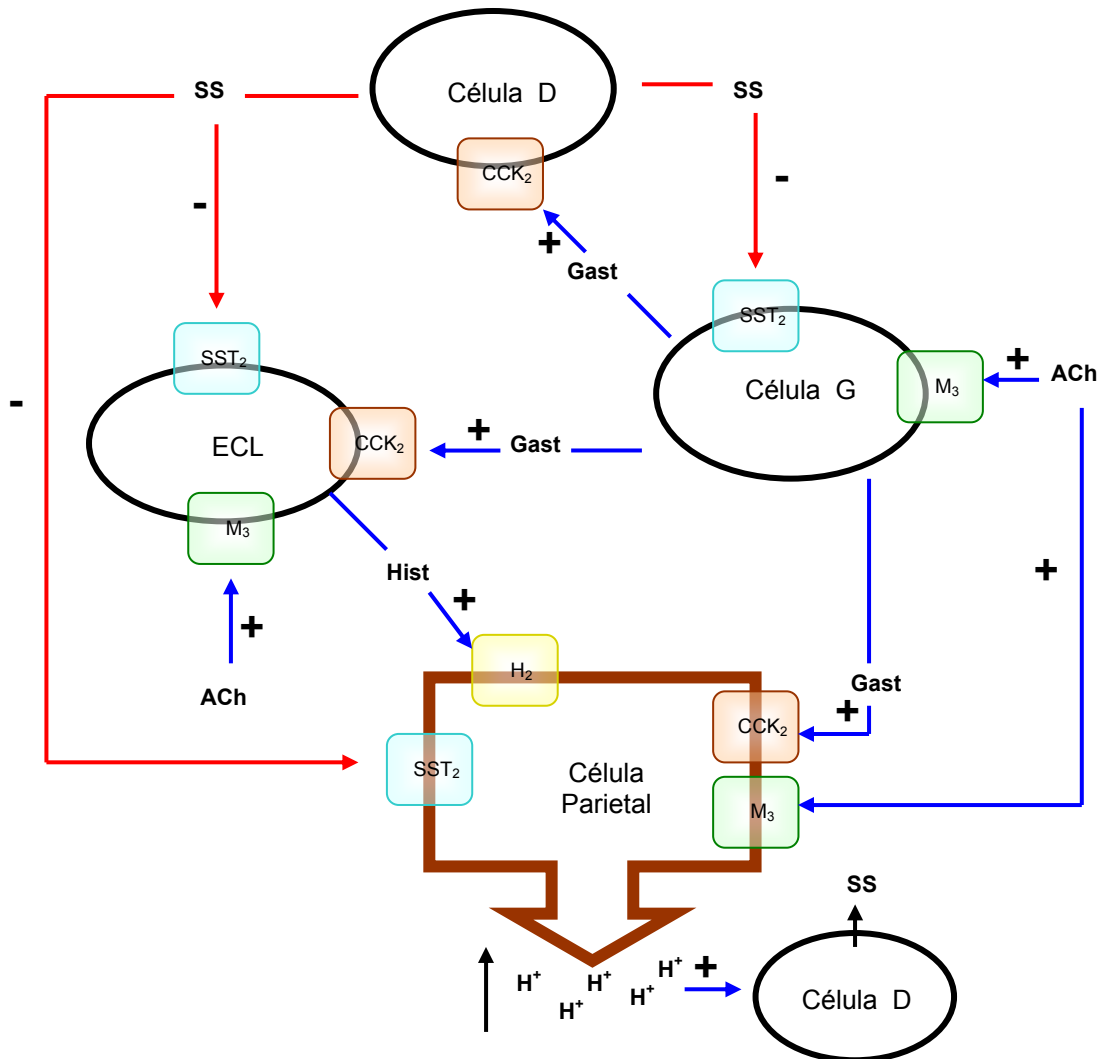
A secreção ácida envolve mecanismos neuronais e humorais, compreendendo três fases distintas: 1) Fase cefálica, mediada pelo nervo vago, resultante da atividade no Sistema Nervoso Central (SNC) e envolve estímulos visuais, gustativo e olfativo (HERSEY; SACHS, 1995; SCHUBERT, 2003; SCHUBERT, 2005); 2) Fase gástrica, ocorre na presença do alimento no estômago, resultando em estímulos químicos e mecânicos mediados por reflexos neuronais locais (HERSEY; SACHES, 1995; SCHUBERT, 2005) e 3) Fase intestinal: que é



decorrente dos estímulos químicos no duodeno, os quais inibem a secreção ácida pelo estômago (HERSEY; SACHS, 1995; KUTCHAI, 2004a; LIU; CRAWFORD, 2005). A regulação da secreção ácida é complexa e envolve mediadores que atuam de forma parácrina (histamina e somatostatina), neurócrina (óxido nítrico e acetilcolina) e endócrina (gastrina) (SCHUHBERT, 2005; HOU; SCHUBERT, 2006).

A acetilcolina (ACh) liberada dos ramos do nervo vago e fibras pós ganglionares do sistema nervoso entérico estimula a secreção ácida atuando no receptor muscarínico do subtipo  $M_3$ , o qual envolve o aumento de cálcio intracelular na célula parietal (SACHS et al., 1997; URUSHIDANI; FORTE, 1997; BAROCELLI; BALLABENI, 2003; YAO, FORTE, 2003; AIHARA et al., 2005); e de forma indireta, na célula ECL, através do estímulo da liberação de histamina (SACHS et al., 1997; BAROCELLI; BALLABENI, 2003) e nas células G, através da liberação de gastrina. Além dessas ações, a estimulação colinérgica da secreção ácida é mediada, possivelmente, pela ativação dos receptores  $M_5$ , localizados no plexo submucoso levando a liberação de neuropeptídeos e neurotransmissores, os quais estimulam a liberação de histamina das células ECL (AIHARA et al., 2005). Tanto a gastrina como a histamina atuam na célula parietal estimulando a secreção ácida (SCHUBERT, 2003) (Figura 6).

A gastrina, quando liberada pela célula G, localizada no antro gástrico, chega até a célula parietal através da corrente sanguínea (LINDSTRÖM et al., 2001; BAROCELLI; BALLABENI, 2003; SCHUBERT, 2005) e atua diretamente no receptor do tipo  $CCK_2$  (SACHS et al., 1997; URUSHIDANI; FORTE, 1997; BAROCELLI; BALLABENI, 2002) acoplado à proteína  $G_q$  localizado na célula parietal (URUSHIDANI; FORTE, 1997; KUTCHAI, 2004a) e de forma indireta, a gastrina interage com o mesmo tipo de receptor, localizado na célula enterocromafin, estimulando a liberação de histamina (SACHS et al., 1997; LINDSTRÖM et al., 2001; BAROCELLI; BALLABENI, 2003; PRINZ et al., 2003; SCHUBERT, 2003) (Figura 6).



**Figura 6.** Regulação da acidez gástrica. ACh = acetilcolina; SS = somatostatina; Hist = histamina; Gast = gastrina. Seta azul representa estimulação, seta vermelha representa inibição.

Quando a gastrina e a acetilcolina se ligam em seus respectivos receptores, localizados na célula parietal, os mesmos mudam de conformação e se ligam à subunidade  $\alpha$  da proteína  $G_q$ , resultando na perda da afinidade pelo GDP e substituição deste pelo GTP, o qual se encontra em altas concentrações no citoplasma. A seguir, a subunidade  $\alpha$  ligada ao GTP ativa a fosfolipase C (PLC), responsável pela hidrólise do fosfatidil inositol 4,5-bisfosfato ( $PIP_2$ ) em 1,2 diacil glicerol (DAG) e o inositol 1,4,5-trifosfato ( $IP_3$ ) (LODISH et al., 2003; BILLINGTON; PENN, 2003) (Figura 7).

O  $IP_3$  se liga aos canais de  $Ca^{2+}$  do retículo endoplasmático (RE), resultando na saída de  $Ca^{2+}$  para o meio citosólico, e consequente aumento do nível intracelular de cálcio. Nesse sentido, o aumento de  $Ca^{2+}$  no citoplasma promove a abertura de canais de cálcio operados por voltagem, localizados na membrana

plasmática. O aumento de cálcio intracelular e o DAG ativam a proteína cinase C (PKC) (LODISH et al., 2003) (Figura 7).

Na célula parietal, o aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular promove a expressão da  $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  e a exocitose do fator intrínseco contidos nas tubovesículas, através da fusão de suas membranas com a parte apical da célula (YAO; FORTE, 2003) (Figura 7).

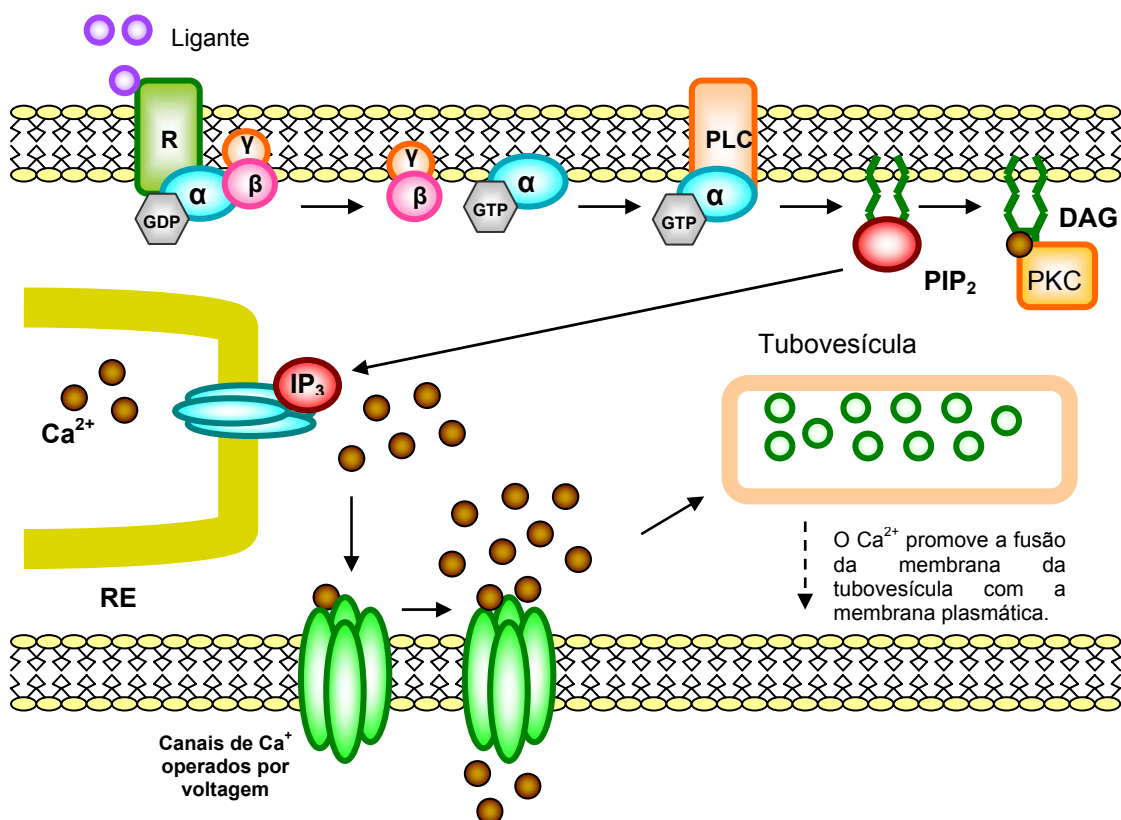
A histamina, uma vez liberada, atua no receptor do tipo  $\text{H}_2$  localizado na célula parietal, onde estimulará a secreção de  $\text{H}^+$  através do aumento de adenosina 3',5'-monofosfato cíclica (AMPc) (SACHS et al., 1997; LINDSTRÖM et al., 2001; BAROCELLI; BALLABENI, 2003) (Figura 8).

A histamina atua no receptor metabotrópico do tipo  $\text{H}_2$ , acoplado à proteína G estimulatória ( $G_s$ ) (HERSEY, SACHS, 1995; URUSHIDANI; FORTE, 1997; YAO; FORTE, 2003; KONTUREK et al., 2005). Uma vez o agonista ligado no receptor, este sofre mudança em sua conformação, tornando-se ativo, resultando na ligação desse à subunidade  $\alpha$  da proteína  $G_s$ . Como consequência, ocorre dissociação do GDP anteriormente ligado a subunidade  $G_{s\alpha}$  e substituição do GDP pelo GTP; em seguida, a  $G_{s\alpha}\text{-GTP}$  interage com a ciclase de adenilil (AD) estimulando-a (LODISH et al., 2003; BILLINGTON; PENN, 2003). (Figura 8).

A AD ativada, catalisa a adenosina trifosfato (ATP) em AMPc, o qual se liga à subunidade regulatória dependente de AMPc da proteína cinase A (PKA). A seguir, as subunidades catalíticas se dissociam das subunidades regulatórias da PKA, a qual se torna fosforilada e responsável pela atividade de inúmeras proteínas (BILLINGTON; PENN, 2003). Na célula parietal, a PKA atua no sítio de fosforilação da subunidade  $\alpha$  da  $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  (HERSEY; SACHS, 1995) estimulando a secreção de  $\text{H}^+$ . Além disso, a PKA promove a expressão da  $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  e a exocitose do fator intrínseco, através da facilitação da fusão da membrana das tubovesículas com a membrana apical da célula parietal (YAO; FORTE, 2003) (Figura 8).

A somatostatina é o mediador responsável pela regulação da secreção ácida, através da inibição indireta, atuando no receptor  $\text{SST}_2$ , localizado na célula enterocromafin, impedindo a liberação de histamina (SACHS et al., 1997; BAROCELLI; BALLABENI, 2003; PRINZ et al., 2003; SCHUBERT, 2003) e agindo no mesmo tipo de receptor, localizado na célula G, a somatostatina inibe a secreção de gastrina (KUTCHAI, 2004a). Diretamente, esse mediador atua no receptor  $\text{SST}_2$

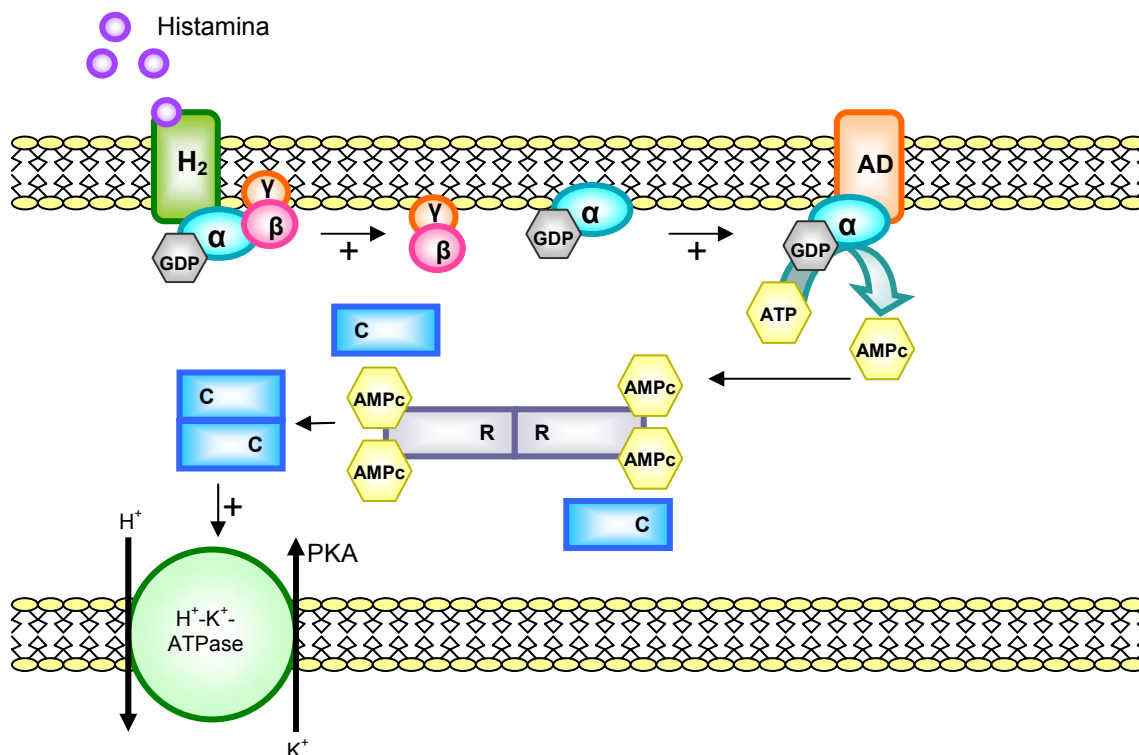
(BAROCELLI; BALLABENI, 2003; SCHUBERRT, 2003), acoplado a proteína G inibitória ( $G_i$ ), causando diminuição nos níveis de AMPc, (URUSHIDANI; FORTE, 1997) e por conseguinte, inibindo a secreção ácida (BAROCELLI; BALLABENI, 2003; SCHUBERRT, 2003) Esse mediador, liberado pela célula D é estimulado pela gastrina (SACHS et al., 1997; KUTCHAI, 2004a) e pela presença de íon  $H^+$  (SACHS et al., 1997; KONTUREK et al., 2005) (Figura 6).



**Figura 7.** Mecanismo da secreção ácida na célula parietal quando estimulada pela gastrina e acetilcolina. Ligante = Ach ou gastrina; R =  $M_3$  ou  $CCK_2$

Além da somatostatina, a prostaglandina é responsável pela inibição da secreção ácida, atuando em seu receptor específico ( $EP_3$ ), através da inibição da AD e diminuição dos níveis de AMPc (WALLACE; GRANGER, 1996) (Figura 10).

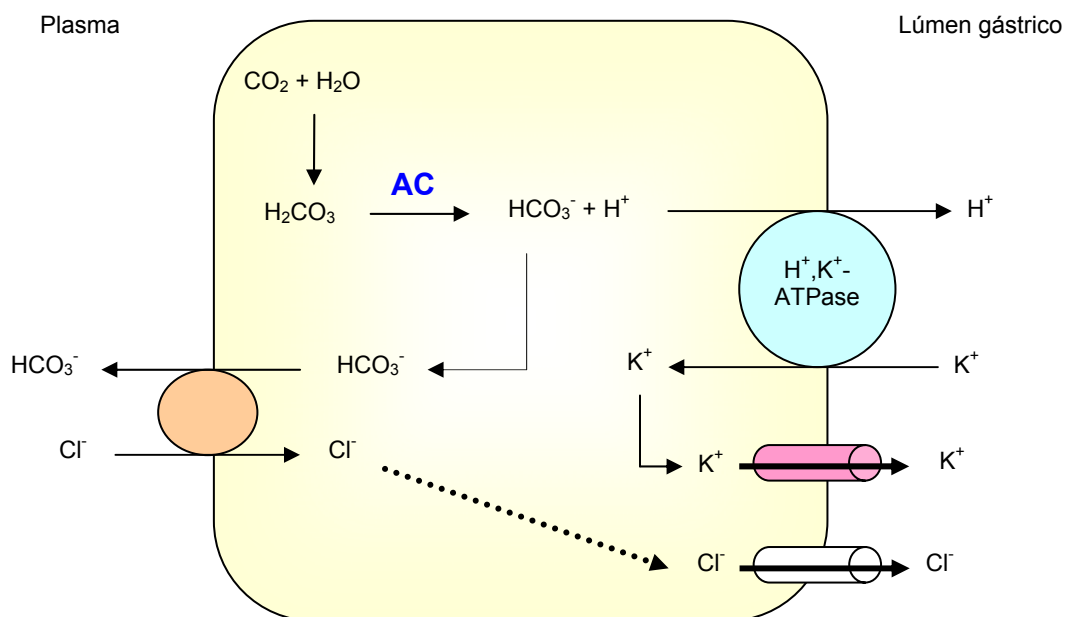
O HCl é liberado no lúmen gástrico através da ação da  $K^+, H^+$ -ATPase, localizada na membrana apical da célula parietal, responsável pela troca de  $H^+$  por  $K^+$  (KUTCHAI, 2004a). O íon  $H^+$  é liberado a partir do ácido carbônico ( $H_2CO_3$ ), o qual é formado a partir do dióxido de carbono ( $CO_2$ ) e água ( $H_2O$ ) (RANG et al., 2007) (Figura 9).



**Figura 8.** Mecanismo da secreção ácida na célula parietal quando estimulada pela histamina.

O  $\text{H}_2\text{CO}_3$  dissocia-se numa reação catalisada pela anidrase carbônica, dando origem aos íons  $\text{H}^+$  e  $\text{HCO}_3^-$  (RANG et al., 2007). O bicarbonato é transportado em direção ao plasma sanguíneo através de um co-transportador que o troca por íons cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), que migra em direção oposta ao  $\text{HCO}_3^-$  (KUTCHAI, 2004 b) (Figura 9).

O  $\text{Cl}^-$  movimentar-se em direção ao lúmen, através do canal de cloro na membrana apical. Os íons  $\text{H}^+$  são colocados para fora da célula, através da  $\text{H}^+, \text{K}^+$ -ATPase, que realiza o transporte de íons potássio ( $\text{K}^+$ ) em direção oposta aos íons  $\text{H}^+$ , resultando na formação de  $\text{HCl}$  no lúmen gástrico (SILVERTHORN, 2003 a) (Figura 9).



**Figura 9.** Formação de íons  $\text{H}^+$  na célula parietal. AC = anidrase carbônica.

## 1.2.2 Proteção do Estômago

A defesa da mucosa gástrica é exercida pela barreira gástrica, e esta é subdividida em: pré-epitelial, epitelial e subepitelial (FLEMSTRÖM; ISENBURG, 2001; BI; KAUNITZ, 2003).

### 1.2.2.1 Defesa pré-epitelial: Muco e Bicarbonato

O muco constitui a primeira linha de defesa pré-epitelial da mucosa gástrica (FLEMSTRÖM; ISENBURG, 2001; BI; KAUNITZ, 2003) e corresponde a uma camada de gel viscoso de espessura variando entre 80 e 280  $\mu\text{m}$  (FLEMSTRÖM; ISENBURG, 2001), o qual encontra-se aderido às células epiteliais superficiais do estômago, representando uma barreira física contra agentes agressores endógenos, como o ácido gástrico, proteases (pepsina), agentes agressores exógenos, a exemplo de etanol, antiinflamatórios (FLEMSTRÖM; ISENBURG, 2001; TANI et al., 2002; BI; KAUNITZ, 2003; ALLEN; FLEMSTRÖM,

2005), e bactérias, uma vez que a camada mucosa tem a capacidade de reduzir a aderência bacteriana ao epitélio (WALLACE; MILLER, 2000).

Esse gel viscoso é composto por 95% de água, 3 a 5% de mucinas (FLEMSTRÖM; ISENBURG, 2001; REPETTO; LLESUY, 2002) e pequenas quantidades de lipídios, ácidos nucleicos e proteínas incluindo imunoglobulinas (FLEMSTRÖM; ISENBURG, 2001). Na superfície do muco, existem fosfolipídios, que por possuírem alta polaridade, impedem a difusão de ácidos minerais ionizáveis, como HCl do lúmen gástrico em direção à mucosa gástrica (KONTUREK et al., 2004). Entretanto, esses fosfolipídios não são capazes de impedir que compostos orgânicos ionizáveis, como os sais biliares e o ácido acetil salicílico atravessem a camada de muco e causem danos no epitélio gástrico (KONTUREK et al., 2004), uma vez que estes compostos diminuem a hidrofobicidade do muco (ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005).

As mucinas, glicoproteínas responsáveis pelo aspecto gelatinoso do muco, são secretadas pelas células epiteliais superficiais e pelas células secretoras de muco localizadas nas glândulas gástricas (KUTCHAI, 2004a). As estruturas das mucinas secretadas pelas células anteriormente citadas diferem, indicando que o gel mucoso não é uniforme (BI; KAUNITZ, 2003).

O muco é armazenado nos grânulos contidos no citoplasma apical das células epiteliais superficiais e liberados por exocitose, que por sua vez é estimulada pelos mesmos mediadores responsáveis pelo aumento da secreção ácida, em especial a acetilcolina, liberada pelos terminais nervosos parassimpáticos próximos às glândulas gástricas (KUTCHAI, 2004a). Outros fatores como óxido nítrico; nervos aferentes sensíveis à capsaicina, prostaglandinas e a presença de ácido também estimulam a secreção do muco (KONTUREK et al., 2004).

O papel da secreção de  $\text{HCO}_3^-$  é de neutralizar o ácido gástrico e de manter o pH neutro na interface entre a camada de muco e a mucosa gástrica (ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005). O bicarbonato presente no muco promove um gradiente de pH, de modo que o pH próximo ao lúmen é ácido, e o pH próximo à mucosa gástrica é neutro (FLEMSTRÖM; ISENBURG, 2001; KUTCHAI, 2004a; ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005) (Figura 10).

São vários os fatores que estimulam a secreção de bicarbonato, como a presença do ácido (FLEMSTRÖM; ISENBURG, 2001; ALLEN; FLEMSTRÖM, 2005); estímulos colinérgicos, através da atuação da ACh no receptor  $M_3$  (FLEMSTRÖM;

ISENBERG, 2001; TANI et al., 2002); a prostaglandina (FLEMSTRÖM; ISENBERG, 2001); óxido nítrico (KONTUREK et al., 2004) e nervos aferentes sensíveis à capsaicina (KONTUREK et al., 2004). A secreção do bicarbonato é inibida pelo estímulo simpático agindo pelos adrenoreceptores do tipo  $\alpha_1$  (FLEMSTRÖM; ISENBERG, 2001).

#### 1.2.2.2 Defesa epitelial: Epitélio da mucosa gástrica

O epitélio, localizado sob a camada de muco, constitui a segunda linha de defesa ou proteção epitelial (BI; KAUNITZ, 2003). A presença de fosfolipídios bipolares na superfície dessas células impedem que íons  $H^+$  penetrem nas mesmas, muito embora este fato não ocorre quando as células epiteliais entram em contato com compostos orgânicos ionizáveis (aspirina e sais biliares) (KONTUREK et al., 2004). As células epiteliais são fortemente reunidas através de estruturas protéicas denominadas junções intercelulares (BI; KAUNITZ, 2003), de forma que são dificilmente permeáveis à maioria das substâncias (BI; KAUNITZ, 2003) e microrganismos (WALLACE; MILLER, 2000) (Figura 10).

#### 1.2.2.3 Defesa sub-epitelial: Fluxo sanguíneo

O fluxo sanguíneo é um importante componente da função da barreira gástrica, constituindo a proteção sub-epitelial (BI; KAUNITZ, 2003). O mesmo é controlado pelo sistema nervoso central e entérico, pela regulação parácrina de hormônios e fatores de crescimento, e pelos eicosonóides produzidos pela mucosa local (BI; KAUNITZ, 2003), fornecendo oxigênio, nutrientes e hormônios gastrintestinais, removendo resíduos materiais; mantendo a secreção de bicarbonato e participando da cicatrização da úlcera péptica (KAWANO; TSUJI, 2000) (Figura 10).



#### 1.2.2.4 Fatores que modulam a barreira gástrica

##### A) *Enzima cicloxigenase*

A enzima cicloxigenase é uma hemoproteína, homodímera largamente distribuída nas células (SMITH; SKELTON, 2002) sendo responsável pela conversão do ácido araquidônico em prostaglandina  $G_2$ , através da inserção de duas moléculas de oxigênio (SMITH; SKELTON, 2002; PESKAR, 2005). A prostaglandina  $G_2$  reduz-se a prostaglandina  $H_2$  ( $PGH_2$ ) através da atividade hidroxil-endoperoxidase  $PGH_2$  (SMITH; SKELTON, 2002). A  $PGH_2$  é metabolizada por enzimas específicas em diversas prostaglandinas: prostaglandina  $E_2$  ( $PGE_2$ ), prostaglandina  $I_2$  ( $PGI_2$ ), prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PG F_{2\alpha}$ ), prostaglandina  $D_2$  ( $PGD_2$ ) e tromboxanos (SMITH; SKELTON, 2002; PESKAR, 2005).

A cicloxigenase 1 (COX-1) é constitutivamente expressa na maioria dos tecidos, enquanto que a cicloxigenase 2 (COX-2) é uma enzima indutível (SMITH; SKELTON, 2002; GUDIS; SAKAMOTO, 2005) e expressa sobre estímulos inflamatórios, a exemplo da interleucina -  $1\beta$  e interferon -  $\gamma$ , nos macrófagos (GUDIS; SAKAMOTO, 2005). A primeira possui ação protetora na mucosa gástrica, uma vez que as prostaglandinas metabolizadas por essa enzima são responsáveis pela secreção de muco e bicarbonato (GUDIS; SAKAMOTO, 2005) e pela regulação do fluxo sanguíneo (WALLACE et al., 2000; GUDIS; SAKAMOTO, 2005) (Figura 10).

Além das células inflamatórias, as células da mucosa gástrica, ao sofrerem lesão, expressam mRNA e a proteína COX-2 (GUDIS; SAKAMOTO, 2005). Os níveis de COX-2 estão relacionados proporcionalmente com o grau de lesão, e essa enzima é envolvida no processo de reparo e cicatrização da mucosa gástrica uma vez que a  $PGE_2$  derivada da COX-2 induz a expressão de fatores de crescimento, a exemplo do fator crescimento de hepatócito (GUDIS; SAKAMOTO, 2005).

##### B) *Prostaglandinas*

As prostaglandinas são eicosanóides derivados do ácido araquidônico (EBERHART; DUBOIS, 1995), que são metabolizadas pela enzima cicloxigenase (COX) e são produzidos em quase todas as células, com exceção das hemácias (BOTTING, 2006).

As prostaglandinas exercem importantes funções no estômago, como as de:

- Inibir a secreção ácida (WALLACE; GRANGER, 1996) atuando no receptor do tipo EP<sub>3</sub> (DING et al., 1997; NISHIO et al., 2007), acoplado à proteína G inibitória (G<sub>i</sub>) (SUGIMOTO; NARUMIYA, 2007);

- Promover a secreção de bicarbonato (WALLACE; GRANGER, 1996; TAKEUCHI et al., 1997; TAKEUCHI et al., 2006), atuando no receptor do tipo EP<sub>1</sub> (TAKEUCHI et al., 1997; FLEMSTRÖM; ISENBERG, 2001; TAKEUCHI et al., 2006), acoplado à proteína G<sub>q</sub>, presente nas células da mucosa gástrica (EBERHART; DUBOIS, 1995; TAKEUCHI et al., 2006; SUGIMOTO; NARUMIYA, 2007) (Figura 10);

- Promover a secreção de muco nas células da mucosa gástrica (WALLACE; GRANGER, 1996; TANI et al., 2002), atuando no receptor EP<sub>2</sub> através da via do AMPc (TANI et al., 2002) (Figura 10);

- Aumentar o fluxo sanguíneo na mucosa gástrica, atuando como vasodilatadores, a exemplo das PGE<sub>2</sub>, PGE<sub>1</sub> e PGI<sub>2</sub> (ABDEL-SALAM, 2001) (Figura 10).

### C) Óxido nítrico

O óxido nítrico (NO) é um radical livre, gasoso, incolor, inorgânico; apresentando um elétron desemparelhado. O mesmo constitui uma das menores e mais simples moléculas biossintetizadas (DUSSE et al., 2003).

O NO possui relevância nas ações biológicas, devido ao fato do mesmo atuar como um importante segundo mensageiro, ativando ou inibindo diferentes

moléculas-alvo envolvidas em diversos processos, como regulação do tônus vascular, controle imunológico e neurotransmissão (BARRETO et al., 2005).

No sistema gastrointestinal, o NO contribui para a modulação de funções como aumento do fluxo sanguíneo, da produção de muco e bicarbonato, na ação antioxidante; entretanto, tem sido sugerido que o mesmo pode ser um mediador na injúria tecidual nas diversas desordens gastrointestinais (WALLACE; MILLER, 2000). Este paradoxo pode ser explicado pela habilidade das diferentes concentrações do NO em produzir efeitos completamente opostos no mesmo tecido (WALLACE; MILLER, 2000).

A enzima responsável pela síntese de óxido nítrico é a sintase de óxido nítrico (NOS), a qual oxida o átomo de nitrogênio terminal da L-arginina, na presença de dois co-substratos, o oxigênio ( $O_2$ ) e o NADPH, resultando na produção de L-citrulina e NO (MARTÍN et al., 2001; DUSSE et al., 2003).

Existem três isoformas da NOS, das quais duas são constitutivas e uma indutiva. A NOSe (isoforma III) é expressa nas células endoteliais e NOSn (isoforma I), localizada no sistema nervoso central e periférico, são constitutivas (CHO, 2001; MARTÍN et al., 2001). Ambas produzem pequenas quantidades de NO (pmol), necessitam de períodos curtos para serem expressas (KRÖNCKE et al., 1997; CHO, 2001; WALLACE; MILLER, 2000; MARTÍN et al., 2001) e são enzimas dependentes de cálcio e calmodulina (WALLACE; MILLER, 2000; DUSSE et al., 2003).

A NOS indutiva (NOSi) ou isoforma II se encontra localizada nos macrófagos, neutrófilos (MARTÍN et al., 2001; BARRETO et al., 2005), células da musculatura vascular e endoteliais (MARTÍN et al., 2001), é responsável pela produção de grande quantidade de NO (nmol); necessita de maior tempo para ser expressa (KRÖNCKE et al., 1997; CHO, 2001; WALLACE; MILLER, 2000; MARTÍN et al., 2001) e é independente de cálcio (DUSSE et al., 2003), sendo esta última estimulada por citocinas como o interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) (MURAD, 1999; WALLACE; MILLER, 2000), endotoxinas, fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e outras citocinas pró-inflamatórias (MURAD, 1999).

O NO reage com proteínas; ácidos nucleicos e possui a capacidade de se ligar à grupos heme presentes em diversas moléculas a exemplo da hemoglobulina, citocromo C oxidase (KRÖNCKE et al., 1997), COX (MARTÍN et al., 2001) e ciclase de guanilil (KRÖNCKE et al., 1997; WALLACE; MILLER, 2000).

O NO sintetizado na célula endotelial se difunde para a célula muscular lisa (SILVERTHORN, 2003b) o qual ativa a enzima guanilato ciclase solúvel (GC), que cataliza a conversão de trifosfato de guanosina (GTP) em monofosfato de cíclico de guanosina (GMPc), o qual ativa a proteína cinase G (PKG) (MURAD, 1999; GENUTH, 2004). Este processo resulta na redução dos níveis de cálcio intracelular (DUSSE et al., 2003), desencadeando no relaxamento da musculatura vascular (MURAD, 1999). Este relaxamento resulta na dilatação arterial com conseqüente aumento do fluxo sanguíneo, um importante fator para a reconstituição celular (WALLACE; MILLER, 2000).

As células enterocromafins (ECL) expressam a NOSe, sendo assim, estes achados sugerem que o NO deve agir como inibidor da secreção ácida gástrica, atuando de forma parácrina nas células parietais, através da via dependente de GMPc (BERG et al., 2004; BERG et al., 2005). Estudos morfológicos revelaram a presença do GMPc nas células parietais e em outras células da lâmina própria (célula D e ECL), entretanto, as células parietais são o principal sítio para a ativação de GC e produção de GMPc relacionados à inibição da acidez mediada pelo NO (BERG et al., 2005).

O NO está envolvido na manutenção da integridade homeostática mediada pela COX; sendo assim, o NO estimula a síntese de PGs, neste sentido, este processo resulta nos efeitos citoprotetores mediados pelas PGs (MARTÍN et al., 2001) (Figura 10).

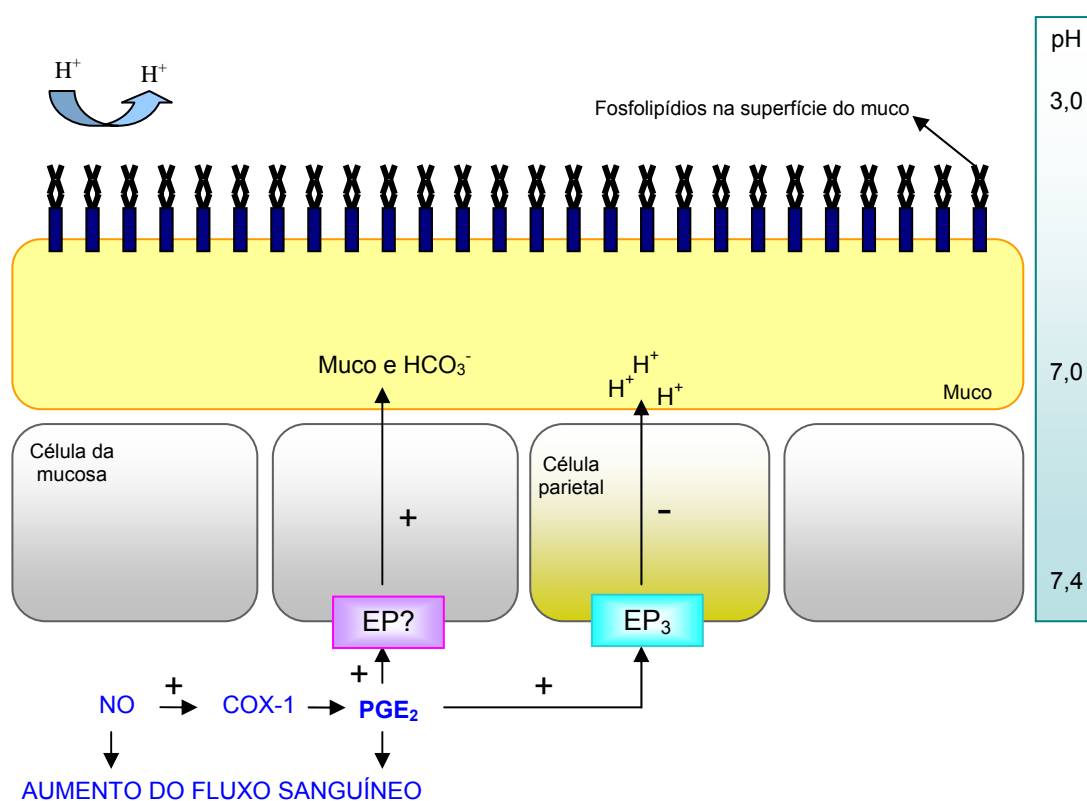
Em baixas concentrações, o NO tem demonstrado ação antioxidante, uma vez que o mesmo é capaz de proteger as células contra os efeitos deletérios do peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) ou peróxidos alquil, resultando na prevenção ou inibição da peroxidação lipídica (KRÖNCKE et al., 1997).

O NO inibe a expressão das moléculas de adesão nos neutrófilos e no endotélio, sendo assim, essa molécula inibe a aderência leucocitária, possuindo ação antinflamatória (WALLACE; MILLER, 2000).

#### D) *Grupamentos sulfidrilas e Sistema antioxidante*

Os radicais livres são fundamentais no nosso metabolismo e, assim, os mesmos são produzidos fisiologicamente ou devido a alguma disfunção biológica (BARREIROS, et al., 2006).

Os radicais livres, cujo elétron desemparelhado se encontra centrado no átomo de oxigênio ou nitrogênio, são denominados respectivamente, espécies reativas de oxigênio (EROs) ou de nitrogênio (ERNs). Esses radicais estão envolvidos em diversos processos fisiológicos importantes, tais como, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização celular e síntese de substâncias biológicas importantes (BARREIROS et al., 2006).



**Figura 10.** Proteção da mucosa gástrica.

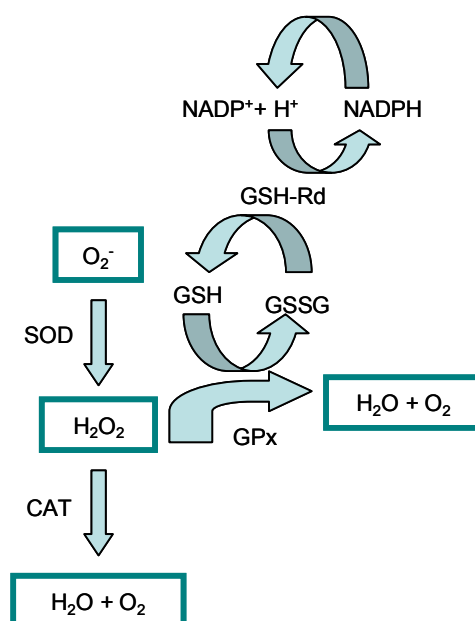
O excesso de radicais livres resulta em processos prejudiciais, a exemplo da peroxidação lipídica; agressão de proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA (BARREIROS et al., 2006).

Entretanto, o organismo possui um sistema antioxidante não –enzimático e enzimático. O primeiro é composto pela glutatona não reduzida, peptídios de histidina, proteínas ligadas ao ferro, dentre outros; e o segundo sistema, é composto pelas enzimas glutatona peroxidase (GPx), glutatona redutase (GSH-Rd), catalase

(CAT) e superóxido dismutase (SOD) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; GATÉ et al., 1999; KWIECIEN et al., 2002).

A SOD, enzima que constitui a primeira linha de defesa do organismo contra o estresse oxidativo, converte o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) em produtos menos tóxicos: peróxido de hidrogênio e oxigênio (GATÉ et al., 1999; BARREIROS et al., 2006). Essa reação é seguida da conversão do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, através da ação da CAT (GATÉ et al., 1999; BARREIROS et al., 2006) (Figura 11).

A redução do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio pode ocorrer através da atuação de outra enzima, a GPx, onde sua ação é acompanhada pela conversão da GSH em glutatona oxidada (GSSG) (KWIECIEN et al., 2002). Dessa forma, a GSH opera entre sua forma reduzida e oxidada (BARREIROS, 2006), neste sentido, a enzima GSH-Rd, uma flavoproteína dependente de NADPH, recupera os níveis de GSH (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; GATÉ et al., 1999) (Figura 11).



**Figura 11.** Sistema antioxidante enzimático e não enzimático. Legenda: SOD= superóxido dismutase; CAT = catalase; GPx =Glutationa peroxidase; GSH = glutatona não protéica ou reduzida; GSSG = glutatona oxidada; GSH-Rd=Glutationa redutase; NADP<sup>+</sup>= fosfato de dinucleotídeo adenina nictinamida; NADPH = fosfato de nicotinamida adenina reduzida.

Os grupamentos sulfidrilas ou tióis, a exemplo da glutatona reduzida ou não protéica (GSH, L-γ-glutamil-L-cisteinil-glicina), são capazes de se ligarem aos

radicais livres, influenciando as propriedades físicas do muco, uma vez que suas subunidades são ligadas por pontes de dissulfeto (SZABO et al., 1981). A redução das pontes de dissulfeto no muco altera o estado físico do mesmo, através da competição da forma de gel insolúvel na água para gel hidrossolúvel (SZABO et al., 1981). A mucosa gástrica contém uma considerável concentração de glutathione reduzida (KONTUREK et al., 1987), sendo o tiol mais abundante no meio intracelular (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; GATÉ et al., 1999). A presença do grupamento –SH na cisteína possibilita a GSH apresentar uma atividade redutora (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

#### E) *Fatores de crescimento*

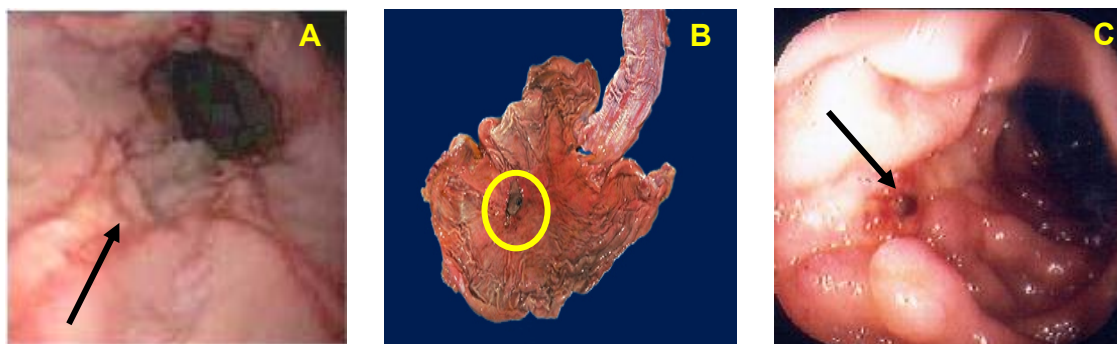
Os fatores de crescimento são polipeptídeos que estimulam proliferação, locomoção, contratilidade, diferenciação e angiogênese celulares; processos importantes na renovação e reparação tecidual (KUMAR et al., 2005). São exemplos desses fatores: fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento do hepatócito (HGF); fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento de fibroblasto (bFGF) (SCHMASSMANN, 1998; KUMAR et al., 2005; TARNAWSKI, 2005).

Esses fatores atuam em seus respectivos receptores de membrana, estimulando-os e desencadeando eventos intracelulares que culminarão para a proliferação e migração celular (SCHMASSMANN, 1998; TARNAWSKI, 2005). Neste sentido, esses fatores são responsáveis pela regeneração e/ou cicatrização celular na mucosa gástrica (SCHMASSMANN, 1998; SZABO; VINCZE, 2000), além da formação de novos vasos (SZABO; VINCZE, 2000).

### 1.3 FISIOPATOLOGIA DA ÚLCERA GÁSTRICA

A úlcera péptica é um conjunto de lesões que acomete a parede esofágica, gástrica ou intestinal, envolvendo a camada da mucosa, acometendo a muscular da

mucosa e camadas musculares, além dos vasos e nervos, podendo penetrar qualquer região do trato gastrointestinal (TARNAWSKI, 2005) (Figura 12).



**Figura 12.** Úlcera péptica. (A) Úlcera esofágica (Fonte: Manuka Honey USA, 2008 ); (B) Úlcera gástrica (Fonte: ROBBINS; COTRAN, 2005); (C) Úlcera duodenal (FONTE: eMedicine Images, 2008).

As lesões gástricas se desenvolvem a partir do desequilíbrio entre os fatores citoprotetores (muco, bicarbonato, fosfolipídios ativos, prostaglandinas, sistema antioxidante e fatores de crescimento) e fatores citodestrutivos endógenos (HCl, pepsina, refluxo biliar, leucotrienos, EROs) e os exógenos (etanol, estresse, antiinflamatórios não-esteroidais e esteroidais, *Helicobacter pylori*, fumo, dentre outros) (BANDYOPADHYAY et al., 2001; RAINSFORD, 2001; MAITY et al., 2003).

As lesões gástricas são responsáveis por aproximadamente 5% das desordens (doenças) do TGI que acometem a população mundial (BANDYOPADHYAY et al., 2001). A úlcera péptica é uma enfermidade freqüente na Europa e acomete aproximadamente 5-10 % da população (PRADOS; MIQUEL, 2004).

Em países de origem oriental, as úlceras gástricas são mais freqüentes; enquanto que em países do Ocidente, existe uma maior prevalência das úlceras duodenais (YUAN et al., 2006).

Estudos epidemiológicos demonstram que os homens são mais susceptíveis a desenvolverem úlcera que as mulheres, e este fato pode está relacionado com a diferença dos mecanismos de proteção entre os sexos, ou ainda, com o fato dos homens serem mais expostos a agentes ulcerativos (LIO et al., 2001).



A infecção por *Helicobacter pylori* é usualmente maior que 80% em países em desenvolvimento; entretanto, apenas 15% das pessoas infectadas por *H. pylori* desenvolve úlcera péptica (MAJUMDAR et al., 2007). Dessa forma, a erradicação de *H. pylori* reduz a recorrência da úlcera de 67 a 6% em pacientes com úlceras duodenais e de 59 a 4% em pacientes com úlceras gástricas (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

Os sintomas mais freqüentes dessa enfermidade são: sensação de mal estar, dores freqüentes na região central e superior do abdome, podendo ocorrer com menor freqüência náuseas e vômitos (PRADOS; MIQUEL, 2004; RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007). Independente desses sintomas, as pessoas acometidas pelas úlceras pépticas podem apresentar complicações como perfuração, hemorragia e estenose no trato gastrintestinal (PRADOS; MIQUEL, 2004).

Nas lesões induzidas pelo etanol (EtOH), há liberação de mediadores inflamatórios, vasocronstricção, aumento da permeabilidade vascular com consequente migração leucocitária e participação de espécies reativas de oxigênio (TEYSSEN; SINGER, 2003). O etanol, uma vez presente na mucosa gástrica, aumenta o ânion superóxido e a produção de radical hidroxila, resultando na peroxidação lipídica; além desta ação, tal agente lesivo promove estresse oxidativo, culminando para a morte celular (REPETTO; LLESUY, 2002). O acetaldeído, metabólito produzido a partir da ação da álcool desidrogenase, se liga covalentemente ao DNA e atua como um carcinógeno (SIEGMUND et al., 2003), contribuindo com a ação deletéria do etanol.

Sob condição de estresse, a mucosa gástrica se encontra agredida primeiramente pelo aumento da acidez e essa agressão se torna prolongada através da infiltração neutrofílica (HAMAGUCHI et al., 2001). Neste processo, há o estímulo do sistema nervoso simpático e parassimpático, culminando na constricção arteriolar e isquemia, resultando na geração de radicais livres; alterações no fluxo sanguíneo promovendo a perda da citoproteção (BANDYOPADHYAY et al., 2001).

As úlceras induzidas por estresse e AINEs envolvem a redução dos níveis de PGs, que está relacionada com o aumento da expressão de moléculas de adesão no endotélio, favorecendo a migração neutrofílica para o local da injúria, promovendo o processo de inflamação (DING et al., 1998; HAMAGUCHI et al., 2001).

Os AINEs , ao inibirem a enzima COX promove inibição da síntese de PGs, favorecendo a produção de leucotrienos; resultando no aumento do tônus vascular e da acidez gástrica (WALLACE, 2001). Os AINEs administrados oralmente, induzem injúria tóxica na mucosa gástrica, resultando na redução da barreira de muco (KURINETS; LICHTENBERGER, 1998; BRZOZOWSKI, 2003) permitindo que ocorra a retrodifusão dos íons  $H^+$  em direção à superfície da mucosa gástrica (RAINSFORD, 2001; WALLACE, 2001).

Nos casos de desordens do trato gastrointestinal associadas ao uso dos antiinflamatórios não esteroidais (AINEs), estes são responsáveis por causar erosões na mucosa em aproximadamente 35 a 60% dos usuários, sendo que em 10 a 25% dos indivíduos afetados apresentam úlcera péptica (SHMASSMANN, 1998).

*H. pylori* é um bacilo gram negativo com 3-5  $\mu m$  de comprimento por 0,5  $\mu m$  de diâmetro (HILL, 1997), que possui habilidade em colonizar a mucosa gástrica (MAJUMDAR et al., 2007), sendo, portanto, um dos agentes causadores de úlcera ou câncer gástrico (CALAM; BARON, 2001).

Uma vez presente na mucosa gástrica, *H. pylori* promove a hidrólise da uréia em amônia, através da ação da urease, favorecendo um pH neutro, o que contribui para sua sobrevivência (BERESWILL; KIST, 2002; RADOSZ-HOMONIEWSKA et al., 2005). O gene *vacA* é responsável pela produção da citoxina vacuolizante, que induz a formação de canais aniônicos nas células epiteliais, promovendo a saída de uréia (NAITO; YOSHIKAWA, 2002).

A citotóxica *cagA* induz a expressão de interleucina-8 nas células epiteliais, o que resulta na migração neutrofílica para o local da infecção e produção de radicais livres pelos neutrófilos, e conseqüentemente danos celulares (NAITO; YOSHIKAWA, 2002).

Além dessas enzimas, *H. pylori* sintetiza lipases e proteases responsáveis pela degradação dos componentes do muco, facilitando a migração da bactéria em direção ao epitélio gástrico (LADEIRA et al., 2003). Todos esses fatores de virulência promovem resistência do *H. pylori* no lúmen gástrico e facilitam sua colonização no trato gastrointestinal.

O fumo é um hábito prevalente na população mundial e está associado com o desenvolvimento da ulceração gastrointestinal (MAITY et al., 2003). Os danos gástricos induzidos pelo fumo (nicotina) estão relacionados com o aumento da secreção ácida, do pepsinogênio, através do estímulo vagal e aumento da liberação

de histamina; ainda, esse agente agressor é responsável pela diminuição da secreção de muco e bicarbonato, da síntese de  $PGE_2$  (MAITY et al., 2003), diminuição dos fatores de crescimento, aumento da resposta inflamatória (SHIN et al., 2002; MAITY et al., 2003), com conseqüente aumento de EROs (MAITY et al., 2003).

#### 1.4 TERAPÊUTICA DA ÚLCERA PÉPTICA

Na tentativa de proteger a mucosa gástrica de alterações ácido-péptica, prevenir a recidiva de úlcera e promover cicatrização, o controle da secreção ácida péptica tem representado um alvo desejável. Neste sentido, várias classes de medicamentos, como antiácidos, antagonistas do receptor  $H_2$ , inibidores da bomba de prótons e agentes citoprotetores têm sido desenvolvidos (AIHARA et al., 2003).

Inicialmente, acreditava-se que as úlceras gastroduodenais estavam relacionadas às alterações ácido pépticas, desta forma, foram desenvolvidos os antiácidos, com a finalidade de neutralizar a acidez; dentre eles, pode-se citar o bicarbonato de sódio, carbonato de cálcio (AIHARA et al., 2003); hidróxido de magnésio e de alumínio (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005). Entretanto, o tempo de ação dos antiácidos é curto (AIHARA et al., 2003; MÖSSNER; CACA, 2005) e essa classe é pouco utilizada na terapêutica atual, devido a existência de fármacos mais eficazes (AIHARA, et al., 2003; HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005) e da presença de seus efeitos colaterais, a exemplo da flatulência, náuseas e distensão abdominal, promovidos pelo uso de carbonato de cálcio; constipação, devido o uso de hidróxido de alumínio e diarreia, promovida pelo hidróxido de magnésio (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005).

Os anticolinérgicos a exemplo da pirenzepina e telenzepina, compostos anticolinérgicos, surgiram na perspectiva de reduzir a produção basal de ácido em cerca de 40-50% dos indivíduos, mas devido a sua eficácia relativamente baixa, uma vez que interagem com receptores muscarínicos do tipo  $M_1$  e apresentam acentuados efeitos colaterais anticolinérgicos (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005), a exemplo da taquicardia (AIHARA, et al., 2003), secura na boca, cefaléia,

confusão mental, desta forma, o uso dessa classe tornou-se obsoleto (HOOPERWERF; PARSRICHA, 2005).

Na seqüência dos estudos, surgem os antagonistas do receptor  $H_2$ , a exemplo da cimetidina, ranitidina, fanotidina (WOLFE; SACHS, 2000; CHENTER; RODRIGUES-JÚNIOR, 2002; RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007) que atuam bloqueando o receptor  $H_2$ , impedindo a ligação da histamina no seu receptor, e conseqüentemente, a secreção ácida (CHENTER; RODRIGUES-JÚNIOR, 2002). A incidência global dos efeitos adversos é baixa e os efeitos dos antagonistas do receptor  $H_2$  são de pouca intensidade. Esses incluem diarreia, cefaléia, tontura, fadiga, dor muscular, prisão de ventre, e ainda, pode ocorrer ginecomastia em homens e galactorrêia em mulheres (HOOPERWERF; PARSRICHA, 2005).

Alguns medicamentos dessa classe diminuem a atividade da álcool desidrogenase (ADH), resultando no aumento dos níveis de álcool no sangue podendo acentuar os riscos de intoxicações com o etanol (LIEBER, 1997). O uso dos bloqueadores do receptor  $H_2$  promove a cicatrização das úlceras pépticas em 70-80% dos pacientes (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

A descoberta da  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase como o caminho final da secreção ácida, possibilitou o desenvolvimento de novos fármacos que inibissem a acidez gástrica (AIHARA et al., 2003), que correspondem ao inibidores de bomba, considerados mais potentes na terapêutica antiulcerogênica, por inibirem a etapa final da secreção ácida (MÖSSNER; CACA, 2005). O omeprazol foi o primeiro inibidor de bomba descoberto, e a partir do mesmo foram desenvolvidos o lansoprazol, pantoprazol, e rabeprazol, através da modificação estrutural química do omeprazol (WOLFE; SACHS, 2000; CHENTER; RODRIGUES-JÚNIOR, 2002; AIHARA et al., 2003; RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

Os inibidores de bomba são pró-fármacos, necessitando de ativação em ambiente ácido (AIHARA, et al., 2003; HOOPERWERF; PARSRICHA, 2005). Esses agentes penetram na célula parietal a partir do sangue (HOOPERWERF; PARSRICHA, 2005), e se acumulam nos canalículos secretores (AIHARA, et al., 2003; HOOPERWERF; PARSRICHA, 2005) e devido à sua fraca natureza básica, acumulam-se nos canalículos secretores ácidos da célula parietal, onde os mesmos são ativados por um processo catalisado de prótons que resulta na formação de uma sulfenamida tiofílica ou ácido sulfênico. Esta forma ativada reage por meio da ligação covalente com o grupo sulfidril de cisteína no domínio extracelular da  $H^+$ ,  $K^+$ -

ATPase, promovendo a inibição da bomba de próton (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005). O uso prolongado desses medicamentos pode resultar em hipergastrinemia (AIHARA, et al., 2003).

Os inibidores da bomba de prótons causam hipertrofia acompanhada pela hiperplasia da célula parietal, sendo conseqüências da hipergastrinemia, que é causada devido o aumento do número de células G (PARFITT; DRIMAN, 2007). Os inibidores de bomba são mais eficazes, uma vez que cerca de 80-90% das úlceras duodenais dos pacientes são cicatrizadas (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005).

Nos casos em que a doença ulcerativa péptica está associada à infecção por *H. pylori*, a terapêutica utilizada constitui uma combinação de inibidor de bomba de prótons (omeprazol) ou antagonista do receptor  $H_2$  (ranitidina), associado à dois antibióticos, claritomicina e amoxicilina ou claritomicina e metronidazol, ou ainda, o inibidor de bomba associado aos dois antibióticos e em conjunto com sais de bismuto (CHENTER; RODRIGUES-JÚNIOR, 2002; MAJUNDAR et al., 2007). O objetivo do tratamento é erradicar a bactéria e conseqüentemente, evitar a reincidência da úlcera (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005; MAJUNDAR et al., 2007).

O quelato de bismuto (subcitrato de bismuto coloidal, dicitrato de bismuto de tripotássio) possui efeitos tóxicos sob o *H. pylori* e também pode impedir sua aderência à mucosa ou inibir enzimas proteolíticas; além de revestir as ulcerações, adsorver a pepsina, aumentar a síntese local de prostaglandinas e estimular a secreção de bicarbonato. O subcitrato de bismuto possui efeitos indesejáveis como náusea e vômito, bem como escurecimento de fezes e da língua (RANG et al., 2007).

Além do controle da acidez, através de fármacos com atividade anti-secretória, existem outros agentes que atuam como citoprotetores (RANG et al., 2007). Neste sentido, o misoprostol (15-deoxi-16-hidroxi-16-metil-PGE<sub>1</sub>), um análogo sintético da PGE<sub>1</sub>, atua de forma semelhante à PGE<sub>2</sub>, exercendo seus efeitos protetores através do estímulo da secreção de muco, bicarbonato e supressão da secreção ácida (ALTMAN, 2003). Entretanto, este agente apresenta efeitos colaterais como diarreia (ALTMAN, 2003) sendo contra-indicado durante a gravidez devido ao aumento da contração uterina, que pode resultar no processo de abortamento (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005).

O sucralfato, um octassulfato de sacarose ao qual foi adicionado hidróxido de alumínio, sofre polimerização em pH ácido, produzindo um gel viscoso que adere firmemente às células epiteliais e regiões ulceradas (WATANABE et al., 2004; HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005). O sucralfato pode estar relacionado com o aumento da síntese de PG (ALTMAN, 2003; WATANABE et al., 2004; HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005), muco e bicarbonato (WATANABE et al., 2004). O complexo formado pelo sucralfato e o muco forma uma barreira local, capturando, fisicamente *H. pylori* (WATANABE et al., 2004). O mesmo apresenta como efeitos colaterais a prisão de ventre e a inibição da absorção de outros fármacos, resultando na alteração da biodisponibilidade dos mesmos, a exemplo da cimetidina, digoxina, cetoconazol dentre outros (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005).

A carbenoxolona, outro agente com atividade citoprotetora, está relacionada com a possível habilidade da mesma em alterar a composição e quantidade de mucina (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005), além de aumentar a produção, secreção e viscosidade do muco (ALTMAN, 2003). Entretanto, este fármaco possui efeitos colaterais como hipertensão arterial, retenção de líquidos e hipocalcemia, o que tem limitado sua utilização clínica (ALTMAN, 2003) e hoje é utilizado como ferramenta farmacológica.

Atualmente, o tratamento da úlcera péptica é realizado através do uso dos antagonistas do receptor  $H_2$ , dos inibidores de bomba, e do sucralfato (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007). Entretanto, não existe no mercado farmacêutico produto que produza cicatrização total das úlceras gastroduodenais (ALPER, 1993). Dessa forma, a pesquisa com plantas medicinais se faz necessária, uma vez que as mesmas apresentam um grande potencial terapêutico, em vista que muitos fármacos são derivados, direta ou indiretamente, de substâncias obtidas de plantas (DAVID et al., 2004).

## 1.5 PLANTAS COMO FONTE DE NOVAS ALTERNATIVAS NA TERAPÊUTICA

Das 252 drogas consideradas básicas e essenciais pela Organização Mundial de Saúde (OMS), 11 % são exclusivamente de origem vegetal e um

significante número de drogas é obtido de precursores naturais. Alguns exemplos podem ser mencionados, como a digoxina, obtida da *Digitalis* spp.; atropina, obtida da *Atropa belladonna* e morfina, obtida da *Papaver somniferum* (YUE-ZHONG, 1998).

Os países desenvolvidos são os maiores investidores na pesquisa de substâncias bioativas, a exemplo dos Estados Unidos, Japão e dos países europeus. Paradoxalmente, a porcentagem de floresta tropical, a maior fonte de biodiversidade, é mínima em países industrializados e a maior parte da mesma se encontra nos países em desenvolvimento. Estes não se encontram entre os países que mais pesquisam e trabalham com substâncias bioativas (DAVID et al., 2004).

A OMS definiu o termo planta medicinal como “aquela que administrada ao homem ou aos animais, por qualquer via ou sob qualquer forma, exerce alguma espécie de ação farmacológica” (DAVID et al., 2004). De acordo com esta definição e levando-se em consideração a finalidade da utilização e a forma de uso das plantas medicinais, estas podem ser destinadas :

- 1) à obtenção de substâncias puras, através do processo de isolamento de fitoconstituintes ou de processos semi-sintético ou de síntese total dos mesmos;
- 2) a produção de medicamentos fitoterápicos;
- 3) à utilização na medicina caseira (RATES, 2001; DAVID et al., 2004)

Diversas plantas possuem atividades biológicas, a exemplo da *Mentha piperita*, ação carminativa; *Chamomila recutita*, ação contra gastrite e úlcera; *Carica papaya*, planta com enzimas digestivas (DAVID et al., 2004); *Ginkgo biloba*, usada para o tratamento do sistema nervoso central e desordens cardiovasculares; *Panax ginseng*, usada como tônico; *Allium sativum*, para a redução dos níveis de colesterol e distúrbios cardiovasculares, (CALIXTO, 2000); *Marrubium vulgare*, utilizada para problemas gastroentéricos, respiratórios e renais; *Aleurites moluccana*, utilizada para o tratamento de úlceras, asma, desinteria, diarreia, febres e processos dolorosos (CECHINEL-FILHO, 1999).

Dentre os fármacos sintetizados a partir de constituintes obtidos de fontes vegetais pode-se citar a aspirina (*Salix alba*); a podofilotoxina, isolada de *Podophyllum peltatum*, que ainda possui dois derivados semi-sintéticos: o etoposide, empregado no tratamento de câncer do testículo e certos tipos de câncer de pulmão, e o teniposide, utilizado no tratamento de leucemia linfoblástica aguda e neuroblastoma e por fim, o psolarem, obtido a partir da espécie vegetal *Psotelea*

*corylifolia*, que é utilizado no tratamento do vitiligo (KINGHORN; BALADRIN, 1993; KINGHLORN, 1996).

#### 1.5.1 Plantas no tratamento da úlcera gástrica

Diversos estudos têm evidenciado a existência de plantas com atividade antiulcerogênica, que atuam por diferentes mecanismos. Como exemplos, pode-se citar a *Bidens pilosa*, a qual apresenta atividade anti-secretória (ALVAREZ, et al., 1999); *Kaempferia parviflora*, relacionada com a capacidade da mesma em preservar a secreção de muco (RUJJANAWATE et al., 2005); *Cissus quadrangularis*, que possui ação antioxidante além de suprimir citocinas pró-inflamatórias (JAINU; DEVI, 2006); bem como *Baccharis illinita* (BAGGIO et al., 2003), *Syngonanthus arthrotrichus* (BATISTA et al., 2004); *Pradosia huberi* (KUSHIMA et al., 2005); *Qualea grandiflora* (HIRUMA-LIMA et al., 2006a); *Syngonanthus bisulcatus* (COELHO et al., 2006) com atividade antiulcerogênica.

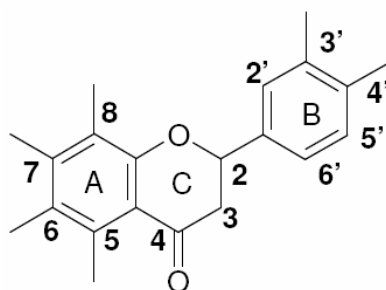
#### 1.5.2 Fitoconstituintes

As plantas medicinais produzem metabólitos primários ou macromoléculas (lipídeos, polissacarídeos, ácidos nucléicos, lignanas e proteínas), essenciais a todos seres vivos; e metabólitos secundários ou micromoléculas (terpenóides, alcalóides, xantanóides, antraquinóides, lignóides, cumarinóides, carotenóides, taninos, antocianinas, betalainas e flavonóides) (BRAZ-FILHO, 1994; LINO VON POSER; MENTZ, 2004), que apresentam estrutura complexa, baixo peso molecular, marcantes atividades biológicas e ao contrário dos metabólitos primários, são encontrados em concentrações relativamente baixas em determinados grupos de plantas (LINO VON POSER; MENTZ, 2004) e protegem as plantas de ataques de insetos, herbívoros e patógenos (ZHAO et al., 2005); atraem insetos, moços e pássaros, responsáveis pela polinização de muitas plantas (LINO VON POSER; MENTZ, 2004). Por possuírem diversas atividades biológicas, os metabólitos



secundários têm sido fonte de pesquisa nas áreas da química, farmacologia e na produção de alimentos (ZHAO et al., 2005).

Os flavonóides constituem uma importante classe, uma vez que possuem ações farmacológicas diversificadas. Os mesmos são compostos polifenólicos sintetizados a partir do ácido chiquímico com acilpolimalonato (DI CARLO et al., 1999; SANTOS, 2004) representando um dos grupos de fitoconstituintes mais importantes e diversificados entre os produtos de origem vegetal (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004). Embora essa classe de fitoconstituente apresente uma grande diversidade estrutural, a mesma possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, distribuídos em três anéis fenólicos ou pirano, distribuídos em A, B e C (FORMICA; REGELSON, 1999; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004) (Figura 13).



**Figura 13.** Núcleo fundamental dos flavonóides (Fonte: ZUANAZZI; MONTANHA, 2004).

Os flavonóides diferem entre si de acordo com a presença de diversos substituintes e com o grau de saturação nos anéis (DI CARLO et al., 1999). Desta forma, os mesmos podem ser classificados em flavonas, flavonol, flavonona, isoflavona, flavonolol (DI CARLO et al., 1999; HAVSTEEN, 2002).

Atualmente são conhecidos cerca de 9000 tipos de flavonóides. Eles podem estar conjugados com açúcares, denominada heterosídeo; ou sem o açúcar, forma denominada aglicona ou genina (MARTENS; MITHÖFER, 2005). Nas plantas, os flavonóides possuem diversas funções, tais como: proteção dos vegetais contra os raios ultra-violeta e visíveis (DI CARLO et al., 1999; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004); proteção contra insetos e microrganismos (DI CARLO et al., 1999; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004; MARTENS; MITHÖFER, 2005) ; atração de animais com finalidade de polinização; antioxidante (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004); controle da ação hormonal (DI CARLO et al., 1999; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004) e funcionam como pigmentos, de cor amarela, azul e vermelha, de flores (DI CARLO et al., 1999; MARTENS; MITHÖFER, 2005).

Diversas plantas medicinais, ricas em flavonóides, têm sido empregadas na medicina popular para o tratamento de enfermidades (DI CARLO et al., 1999). Tais fitoconstituintes possuem diversas ações comprovadas como a atividade protetora da integridade vascular (DI CARLO et al., 1999; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004); ação anti-hepatotóxico (SAIJA, et al., 1995; DI CARLO et al., 1999); atividade antiulcerogênica (DI CARLO et al., 1999); andiarréica (DI CARLO et al., 1999); anti-espasmódica (DI CARLO et al., 1999); antiinflamatória (DI CARLO et al., 1999; TRUEBA, 2003; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004); antioxidante (SAIJA, et al., 1995; HÄSSIG et al., 1999; HAVSTGEN, 2002; KAHRAMAN et al., 2003; TRUEBA, 2003; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004); antialérgica (DI CARLO et al., 1999; TRUEBA, 2003); antimicrobiana (TRUEBA, 2003; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004) e antiviral (SAIJA et al., 1995).

Os flavonóides constituem uma importante classe de metabólitos secundários de interesse na pesquisa de novos compostos com atividade antiulcerogênica e a ação antioxidante (HAVSTEEN, 2002), uma vez que os radicais livres estão envolvidos na patogênese da úlcera gástrica.

Existem vários caminhos pelos quais os flavonóides atuam eliminando os radicais livres: 1) varredores destes radicais (DI CARLO et al., 1999; HAVSTGEN, 2002; TRUEBA, 2003); através da inibição das enzimas oxidases, como a ciclooxigenase, lipoxigenase (DI CARLO et al., 1999; SILVA et al., 2002; TRUEBA, 2003) e mieloperoxidase (KAHRAMAN et al., 2003; TRUEBA, 2003). O estímulo das enzimas antioxidantes, como CAT e SOD constituem outro mecanismo de ação dos flavonóides envolvido na sua atividade antioxidante (KAHRAMAN et al., 2003; TRUEBA, 2003).

Os efeitos antiinflamatórios dos flavonóides estão associados com algum tipo de alteração no metabolismo final do araquidonato. Neste caso, tais fitoconstituintes possuem a propriedade de inibir tanto a via da ciclooxigenase como a via da 5-lipoxigenase (DI CARLO et al., 1999; SILVA et al., 2002; ZUANAZZI; MONTANHA, 2004). A quercetina e a mirecetina em altas concentrações bloqueiam a ciclooxigenase e 5-lipoxigenase, enquanto que em baixas concentrações, estes constituintes bloqueiam inicialmente a 5-lipoxigenase (DI CARLO et al., 1999). Entretanto, é de fundamental interesse que um bom antiinflamatório não apresente efeitos ulcerogênicos, muito embora, no caso dos flavonóides, tem sido relatado que

os mesmos são anti-ulcerogênicos, como no caso da quercetina (DI CARLO et al., 1999).

A atividade antiulcerogênica dos flavonóides está relacionada com o aumento da produção de glicoproteínas e da viscosidade do gel mucoso (narigina e da quercetina); como agente varredor de radicais livres, inibição da produção de leucotrienos; inibição do fator ativador de plaquetas (PAF), um agente ulcerogênico, exercidos pela quercetina, naragina, rutina e canferol (DI CARLO et al., 1999). Além destas atividades, a quercetina é responsável pela inibição da bomba de próton e do crescimento do *H. pylori* (DI CARLO et al., 1999). Desta forma, os flavonóides possuem um potencial terapêutico ideal para o tratamento das doenças gastrointestinais associadas à infecção pelo *H. pylori*, à gastrite e a úlcera péptica (DI CARLO et al., 1999).

Na pesquisa envolvendo plantas com atividade antiulcerogênica, devem-se considerar como relevantes as seguintes questões:

- 1- A úlcera péptica é uma doença que apresenta uma incidência considerável na população mundial;
- 2- A úlcera péptica é uma doença crônica e quase sempre apresenta recidiva, requerendo, dessa forma, uma intervenção terapêutica e/ou cirúrgica, portanto acarreta em transtornos financeiros para o indivíduo e também para o sistema de saúde;
- 3- Não existe no mercado farmacêutico nenhum produto com 100 % de eficácia, sem contar que apresentam alto custo, ocorrência de efeitos colaterais;
- 4- As plantas são fontes de constituintes terapêuticos potencialmente ativos, o que constitui uma grande estratégia para a descoberta de novos fármacos;
- 5- A matéria-prima utilizada na produção dos produtos farmacêuticos é exportada, o que representa dependência para a indústria farmacêutica nacional.

#### 1.6 ESPÉCIE SELECIONADA : *Herissantia crisper* (L.) Brizicky

A espécie vegetal *Herissantia crisper* (L.) Brizicky (Figura 14) pertencente à família Malvaceae, não possui indicação popular, sendo assim a sua seleção para o estudo foi baseada no critério quimiotaxonômico, ou seja, devido à presença de

flavonóides na família e por essa classe de metabólitos apresentarem diversos efeitos biológicos.



**Figura 14.** Partes aéreas de *Herissantia crispera* L. (Brizicky). Foto: Josean Fechine Tavares em março de 2005, Pedra da Boca, município de Araruna/PB .

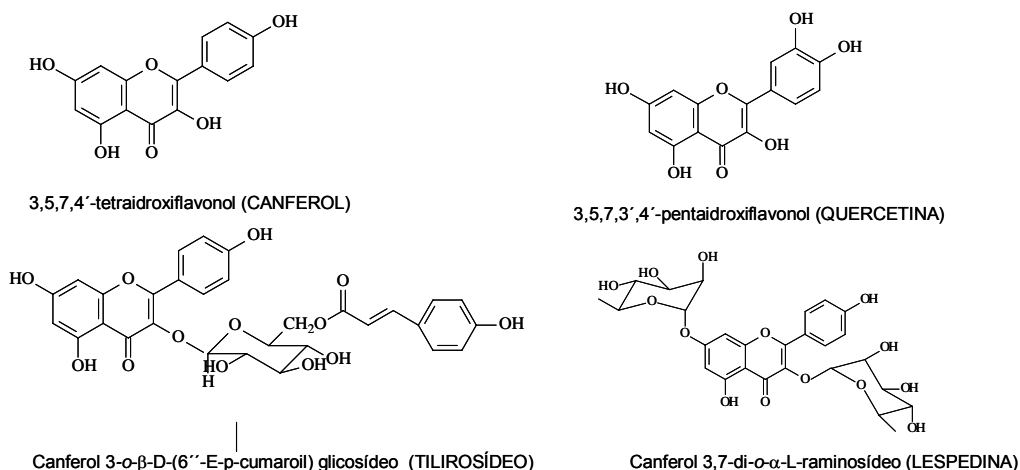
A família Malvaceae é constituída de 85 gêneros e mais de 1500 espécies com centro de dispersão nas regiões tropicais, porém se encontra distribuída em todo o mundo (JOLY, 2002).

Em geral, as espécies da família Malvaceae são plantas que se apresentam como ervas, arbustos e árvores, com folhas inteira ou profundamente lobadas ou partidas; flores grandes e vistosas, hermafroditas e com o desenvolvimento de cálice externo (JOLY, 2002).

*Herissantia* é um gênero neotropical, possui hábito subarbusivo e arbustivo, difuso e escandente, fruto pendular e inflado, com mericarpos reniformes e escariosos (FRYXELL, 1973).

O gênero *Herissantia* possui diversos tipos de fitoconstituintes, como ácido graxo, triterpenos, esteróides, ácido fenólico, flavonóides na forma de aglicona ou glicosilados (SILVA et al., 2005).

O estudo fitoquímico de *H. crispera* resultou no isolamento de sete constituintes químicos, sendo: três esteróides ( $\beta$ -sitosterol, sitosterol 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosídeo e estigmasterol 3-O- $\beta$ -D-glicopiranosídeo) e quatro flavonóides: 3,5,7,4'-tetraidroxiflavonol (canferol); 3,5,7,3',4'-pentaidroxilflavonol (quercetina); canferol 3-O-beta-D-glicopiranosídeo (tilirosídeo) e o canferol 3,7-di-O-alfa-L-raminopiranosídeo (lespedina) (COSTA, 2006) (Figura 15).



**Figura 15.** Flavonóides isolados da *H. crispera* (FONTE: COSTA, 2006).

Estudos farmacológicos apresentados por Sala et al., (2003) relatam a atividade antioxidante do tiliosídeo, o qual atua em mecanismo de varredura de radicais peróxidos, produzindo lesões nas células. E ainda possui uma significativa atividade antiinflamatória comprovada em testes realizados *in vitro* e *in vivo*, o que veio confirmar tal atividade verificada pelo estudo dos extratos de algumas espécies vegetais que também contêm o tiliosídeo (SALA et al., 2003).

De acordo com Dimas et al., 2000, o tiliosídeo mostrou atividade citotóxica em duas linhagens de células leucêmicas. Para Matsuda et al., 2002 esse composto apresenta atividade hepatoprotetora através da produção do fator  $\alpha$  de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), diminuindo a sensibilidade dos hepatócitos frente a este fator e ainda mostrou-se eficaz na proteção do fígado contra a lesão induzida pelo lipossacarídeo D-galactosamina.

O tiliosídeo promoveu efeito vasorelaxante em anéis de artéria mesentérica superior isolada de rato pré-contraídas com fenilefrina, sendo um resultado de relevância, pois artérias de resistência, a exemplo da artéria mesentérica superior, estão envolvidas no controle da pressão arterial e na patofisiologia da hipertensão, sendo assim, o tiliosídeo por ter promovido um efeito vasorelaxante, pode atuar como um potente anti-hipertensivo (SILVA et al., 2005). Costa e colaboradores (2007) verificaram o efeito relaxante do tiliosídeo em músculo liso de íleo de cobaia, sendo esta ação mediada, possivelmente, pelo bloqueio do influxo de cálcio.

Já o canferol 3,7-O-alfa-L-diramnosídeo (lespedina) atua como agente hipoglicemiante e com ação no tecido alvo da insulina, mostrando um efeito insulino-mimético em ratos diabéticos (JORGE, 2003; SALA et al., 2003).

Outras espécies vegetais pertencentes à família Malvaceae, a exemplo de *Hibiscus esculentus* e *Malva neglecta*, são citadas na literatura por apresentarem atividade antiulcerogênica contra lesões induzidas por etanol em ratos (GÜRBUZ et al., 2003; GÜRBUZ et al., 2005).

Diante da necessidade de pesquisar novos produtos como alternativas terapêuticas para o tratamento da úlcera gástrica e mediante as atividades biológicas comprovadas por componentes químicos pertencentes a *H. crispera*, além da atividade antiulcerogênica comprovada em outras espécies vegetais pertencentes à família Malvaceae, a espécie vegetal *H. crispera* foi selecionada para estudo frente a atividade antiulcerogênica.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Esse trabalho teve com objetivo principal contribuir com o entendimento da fisiopatologia da úlcera gástrica através da investigação da atividade antiulcerogênica do extrato metanólico bruto (EMeOH) e da fase n-butanólica (F. n-ButOH) obtidos das partes aéreas da espécie vegetal *Herissantia crispa* (L.) Brizicky, na perspectiva de encontrar uma nova alternativa terapêutica.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar triagem farmacológica comportamental com EMeOH obtido das partes aéreas da espécie vegetal *H. crispa* em animais;
- Determinar a dose letal 50% (DL<sub>50</sub>) do EMeOH;
- Avaliar a atividade antiulcerogênica do EMeOH e da F. n-ButOH nos modelos clássicos de indução aguda de úlcera gástrica, em animais;
- Definir a dose do EMeOH e da F. n-ButOH que produz melhor efeito farmacológico nos modelos de indução aguda de úlcera gástrica;
- Avaliar os parâmetros bioquímicos da secreção gástrica mediante tratamento com o EMeOH e com a F. n-ButOH;
- Investigar os prováveis mecanismos de ação envolvidos com a atividade antiulcerogênica.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 LOCAL DA PESQUISA

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ensaio Toxicológicos (LABETOX), localizado no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) Prof. Delby Fernandes Medeiros da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) e no Laboratórios de Produtos Naturais do Instituto de Biologia da Universidade de Campinas (UNICAMP) no período de Março de 2006 a Dezembro de 2007.

#### 3.2 FINANCIAMENTO

Este trabalho foi financiado pela Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ) e CAPES.

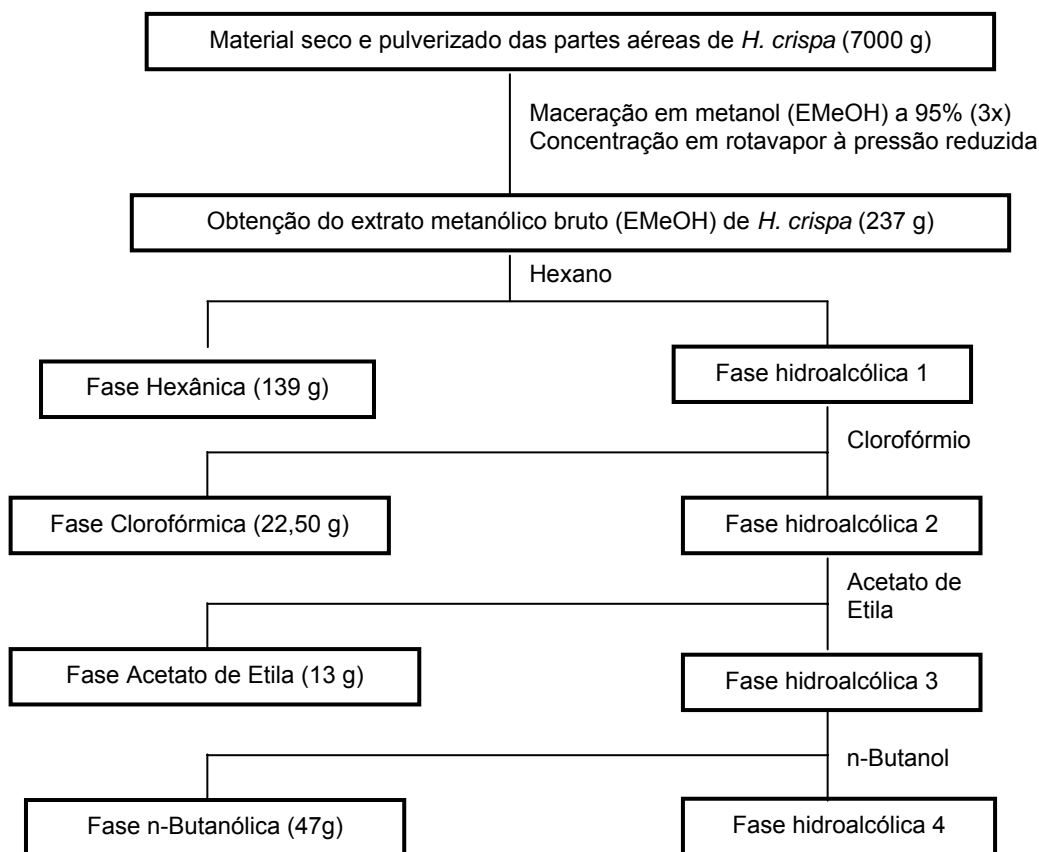
#### 3.3 ESPÉCIE VEGETAL

O material botânico utilizado para os experimentos de investigação da atividade antiulcerogênica em animais foram as partes aéreas da *Herissantia crispera* (L.) Brizicky, coletada na Pedra da Boca, Araruna-PB - Paraíba.

A espécie vegetal foi identificada botanicamente pela Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria de Fátima Agra e o exemplar da mesma encontra-se depositada no Herbarium Lauro Pires Xavier (JPB) da Universidade Federal da Paraíba, com o nº 6237.

O EMeOH e a F. n-ButOH obtidos das partes aéreas da *H. crispera*, conforme a marcha fitoquímica (Figura 16), foram fornecidas pela Profa. Dra. Maria de Fátima Vanderlei de Souza.





**Figura 16.** Marcha fitoquímica para a obtenção do EMeOH e a F. n-ButOH.

### 3.4 ANIMAIS

Para a realização do presente trabalho, todos os protocolos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal – CEPALTF/UFPB com o registro n. 0112/06.

Todos os animais foram provenientes do Biotério Prof. Dr. Thomas George do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica – LTF e do Centro de Biotério da UNICAMP (CEMIB). Os animais foram aclimatados às condições do biotério local sob temperatura  $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , ciclo claro-escuro de 12h, alimentados com ração Purina tipo *pellets* e água à vontade.

Os animais utilizados nos experimentos foram camundongos Swiss (*Mus musculus*) albinos machos (27-35 g) e ratos Wistar (*Ratus norvegicus*) albinos machos (180-280 g).

Para a realização dos experimentos, os animais foram submetidos a um jejum (12-36h) que variou de acordo com o preconizado nas metodologias empregadas. Todos os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. Os animais (n = 5-10) foram distribuídos em grupos controle negativo (solução salina 0,9%), controle positivo (droga de referência no tratamento) e amostra vegetal (EMeOH e F. n-ButOH).

### 3.5 DROGAS UTILIZADAS

Para a realização dos protocolos experimentais, foram utilizadas as seguintes drogas:

- Cloreto de Sódio P.A (QUIMEX-MERCK, Brasil);
- Cimetidina 100mg/kg (SIGMA Chemical Co, U.S.A.);
- Lansoprazol 30 mg/kg (ACHÉ, Brasil);
- Etanol absoluto 4mL/kg (MERCK, Germany);
- Piroxicam 20 mg/kg (HEXAL, Brasil);
- Carbenoxolona (SIGMA Chemical Co, U.S.A.)
- Fenolftaleína (RIEDEL-DE HAËN, Germany);
- Alcian Blue (SIGMA Chemical Co, U.S.A.)
- N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginina-metil-ester 70 mg/kg (SIGMA Chemical, U. S.A.);
- N-etilmaleimida 10mg/kg (SIGMA Chemical, U. S.A.);
- Cremofor.

O EMOH e a F. n-ButOH obtidos de *H. crispera* foram solubilizados em solução salina 0,9% com cremofor a 0,2 % e todas as substâncias foram preparadas imediatamente antes de cada experimento. As substâncias utilizadas como controle positivo, o N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginina-metil-ester e o N-etilmaleimida foram solubizados em solução salina em 0,9%.

### 3.6 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES TOXICOLÓGICA E FARMACOLÓGICA DE *Herissantia crispa* (L.) Brizicky

Para investigar se as amostras vegetais estudadas no presente trabalho possuem atividade antiulcerogênica, foram realizados modelos experimentais de indução aguda de úlcera gástrica em animais pelos seguintes agentes lesivos: etanol, estresse (por imobilização e frio), antiinflamatório não-esteroidal (piroxicam) e contensão do suco gástrico (através do modelo de ligadura de piloro). Para corroborar aos resultados obtidos nesses estudos, foi realizada a avaliação dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico (pH, concentração de íons H<sup>+</sup> e volume gástrico) através do modelo de ligadura de piloro. Os mecanismos de ação investigados no efeito antiulcerogênico das amostras vegetais foram avaliados a partir da quantidade de muco gástrico, da participação dos compostos sulfidrilas, de óxido nítrico e de prostaglandina na citoproteção. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e o estômago aberto ao longo da grande curvatura.

As lesões ulcerativas foram quantificadas macroscopicamente através da utilização de uma lupa OLYMPUS Optical TL3 – SZ40 e expressas como índice de lesão ulcerativa (ILU), conforme o número e a severidade de lesões (SZELENYI; THIEMER, 1978):

Nível 1: pontos hemorrágicos e ulcerações até 1mm;

Nível 2: ulcerações com 2mm;

Nível 3: ulcerações profundas a partir de 3mm.

$$\text{ILU} = \sum (\text{lesões nível } 1 \times 1) + (\text{lesões nível } 2 \times 2) + (\text{lesões nível } 3 \times 3)$$



**Figura 17.** Estômago de rato ulcerado com etanol (Foto: MOTA, 2008).

### 3.6.1 Triagem farmacológica comportamental e determinação da dose letal 50% (DL<sub>50</sub>)

Os experimentos foram realizados de acordo com o protocolo experimental descrito por Almeida e colaboradores (1999). Foram utilizados camundongos machos (n=10) distribuídos de acordo com a via de administração do EMeOH de *H. crista*. Pela via intraperitoneal (i.p.), foram administradas as doses 2000, 1000, 500, 250 e 125 mg/kg e pela via oral (v.o.), as doses administradas foram 5000, 2500, 1250, 625 e 312,5 mg/kg.

Parâmetros comportamentais descritos no protocolo experimental (anexo A) foram observados durante as 4 primeiras horas nos intervalos de 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 3 horas e 4 horas. A ocorrência de alguma alteração comportamental nos animais, em decorrência do tratamento com o EMeOH de *H. crista*, permitiria inferir uma relação com a atividade no sistema nervoso central e, conseqüentemente, sinais de toxicidade.

Os animais foram observados por cada 24 horas até que se completasse um período de 72 horas com a finalidade de verificar se haveria alguma morte e, conseqüentemente, determinar a DL<sub>50</sub> do EMeOH de *H. crista* nas duas de administração empregadas.

### 3.6.2 Investigação da atividade antiulcerogênica

Os modelos experimentais de indução aguda de úlcera gástrica (etanol, estresse, antiinflamatório não-esteroidal e por contensão do suco gástrico) utilizados no presente trabalho mimetizam a úlcera no homem, neste sentido, tais modelos permitem o estudo adequado da atividade antiulcerogênica.

### 3.6.2.1 Indução de úlcera gástrica pelo etanol

Este experimento foi baseado no modelo de Morimoto e colaboradores (1991) com modificações. Os ratos foram submetidos a um jejum de 24 horas, e pré-tratados por via oral com solução salina 0,9% 10 mL/kg (controle negativo), lansoprazol 30 mg/kg (controle positivo), EMeOH (250, 500 e 750 mg/kg) e F. n-ButOH (125, 250, 500 mg/kg) de *H. crista*. Após 1 hora, foi administrado oralmente 4 mL/kg de etanol absoluto (agente lesivo) aos animais. Decorrido 1 hora dessa administração, os animais foram submetidos ao sacrifício por deslocamento cervical. Os estômagos foram retirados, abertos ao longo da grande curvatura e as ulcerações foram quantificadas, de forma que o ILU fosse determinado, para cada animal.

### 3.6.2.2 Indução de úlcera gástrica por estresse (imobilização e frio)

Para a realização desse experimento, foi seguido o modelo de Levine (1971), com algumas modificações. Os camundongos foram submetidos a um jejum de 24 horas, posteriormente, pré-tratados pela via oral com solução salina 0,9% (controle negativo), lansoprazol 30 mg/kg (controle positivo), EMeOH (250, 500 e 750 mg/kg) e F. n-ButOH (125, 250, 500 mg/kg) de *H. crista*. Trinta minutos após a administração dos diferentes tratamentos, os animais foram imobilizados pelas patas dianteiras e traseiras, colocados em contensores de PVC (9 cm de comprimento x 3,5 cm de diâmetro) e submetidos a uma temperatura de  $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$  por um período de 3 horas para indução das úlceras gástricas. Ao final deste período, os animais foram sacrificados, os estômagos foram retirados, abertos e as lesões ulcerativas foram quantificadas, e em seguida foi determinado o ILU para cada animal.

### 3.6.2.3 Indução de úlcera gástrica pelo antiinflamatório não-esteroidal (piroxicam)

O experimento foi realizado de acordo com o modelo descrito por Puscas e colaboradores (1997) com modificações. Após o jejum de 24 h, os camundongos foram pré-tratados por via oral com solução salina 0,9 % 10 mL/kg (controle negativo), cimetidina 100 mg/kg (controle positivo), EMeOH (250, 500 e 750 mg/kg) e F. n-ButOH (125, 250 e 500 mg/kg) de *H. crista*. Após 30 minutos, os animais receberam piroxicam 30 mg/kg (agente lesivo) por via subcutânea (s.c.) e 4 horas após essa administração, os animais foram sacrificados, os estômagos foram retirados, abertos ao longo da grande curvatura e as ulcerações foram quantificadas e determinado o ILU.

### 3.6.3 Indução da úlcera gástrica por contensão e avaliação dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico através do modelo de ligadura do piloro

Esse experimento foi realizado de acordo com o modelo de ligadura de piloro descrito por Shay e colaboradores (1945), modificado. Após jejum de 36 horas, os ratos foram anestesiados com cloridrato de quetamina 5 % (relaxante muscular) e cloridrato de xilazina 2 % (anestésico) e submetidos a uma incisão longitudinal abaixo da apófise xifóide para amarração do piloro. Em seguida, as substâncias foram administradas intraduodenalmente conforme o pré-tratamento: com solução salina 0,9% (controle negativo), lansoprazol 30 mg/kg (controle positivo), EMeOH (500 mg/kg) e F. n-ButOH (125 mg/kg) de *H. crista*. Após quatro horas do tratamento, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, as incisões foram abertas e os estômagos retirados cuidadosamente. O conteúdo estomacal foi coletado para que fossem determinados os parâmetros bioquímicos do suco gástrico: volume, pH e concentração de íons hidrogênio ( $H^+$ ); e foi determinado o ILU.

O conteúdo do estômago foi pesado e, em seguida, calculado o volume do suco gástrico expresso em g/4h. O pH foi verificado com o auxílio de um pHmetro digital PG 2000 (GEHAKA, Brasil) após centrifugação do conteúdo estomacal a 3000 rpm por 10 minutos e expresso em unidades. Em seguida, foram retirados 10mL do sobrenadante onde este volume foi distribuídos em alíquotas de 5mL em 2 erlenmeyer para que fosse prosseguida a titulação do suco gástrico e determinada a concentração de  $H^+$  expressa em mEq/mL/4h. A titulação foi realizada utilizando-se

hidróxido de sódio (NaOH) 0,01N e fenolftaleína, uma solução indicadora, com auxílio de uma bureta digital Solarus® (HIRSHMANN LABORGERATE, U.S.A.).

#### 3.6.4 Avaliação dos mecanismos de ação envolvidos na atividade antiulcerogênica .

##### 3.6.4.1 Determinação de muco aderido à mucosa gástrica

Para a realização desse experimento, foi seguido o modelo de Rafatullah e colaboradores (1990), com modificações. Após jejum de 24 horas, ratos foram distribuídos em grupos e tratados pela via oral com solução salina 0,9% (controle negativo), carbenoxolona 200 mg/kg (controle positivo), EMeOH (500 mg/kg) e F. n-ButOH (125 mg/kg) de *H. crista*. E em seguida os animais foram submetidos à ligadura do piloro conforme o método de Shay e colaboradores (1945). Após 4 horas da administração, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, os estômagos retirados e abertos no sentido da grande curvatura. A porção glandular do estômago foi separada, pesada e imersa em 10 mL de solução de alcian blue (corante) por duas horas. O excesso de alcian blue foi removido lavando-se o estômago com 7 mL de solução sacarose 0,25 mol/L em duas etapas sucessivas, sendo a primeira por 15 min e a segunda por 45 min. O corante, complexado ao muco aderido à parede estomacal, foi extraído com 10 mL de cloreto de magnésio 0,5 mol/L, agitando-se intermitentemente por um minuto, a cada 30 min, durante 2 horas. Uma alíquota de 4 mL foi retirada da mistura na qual foram adicionados mais 4 mL de éter etílico. Essa preparação foi agitada por 2 min até que fosse obtida uma emulsão que foi centrifugada por 10 min a 3600 rpm, cujo sobrenadante foi descartado. As absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (modelo Multisca, marca Labsystems) a 598 nm. A determinação da concentração de muco foi realizada a partir de uma curva padrão do alcian blue utilizando várias concentrações do mesmo. Os resultados foram expressos em mg de alcian blue/g de tecido.

##### 3.6.4.2 Participação do óxido nítrico (NO) na citoproteção

Esse método foi baseado no modelo modificado de Sikiric e colaboradores (1997), com modificações. Ratos Wistar machos foram colocados em jejum por 24 horas e distribuídos em oito grupos. Conforme o pré-tratamento, 4 grupos receberam solução salina 0,9% e os outros 4 grupos receberam N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME) 70 mg/kg (i.p.), um agente bloqueador da enzima sintase de óxido nítrico. Após 30 minutos dessa administração, cada quatro grupos foram tratados por via oral com solução salina 0,9% (controle negativo), carbenoxolona 100 mg/kg (controle positivo), EMeOH (500 mg/kg) e F. n-ButOH (125 mg/kg) de *H. crista*. Após 1 hora do tratamento, os ratos receberam 4 mL/kg de etanol (agente lesivo) por via oral. Decorridos mais 60 min, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura. As lesões foram quantificadas de forma que o ILU fosse determinado.

#### 3.6.4.3 Participação dos grupamentos sulfidrilas (SH) na citoproteção

Esse modelo experimental foi realizado de acordo com o modelo modificado de Matsuda e colaboradores (1999). Ratos Wistar machos foram colocados em jejum por 24 horas e distribuídos em oito grupos. Conforme o pré-tratamento, 4 grupos receberam solução salina 0,9% e os outros 4 grupos receberam N-etilmaleimida (NEM) 10 mg/kg (i.p.), um bloqueador dos grupamentos sulfidrilas. Após 30 minutos dessa administração, cada quatro grupos foram tratados por via oral com salina 0,9% (controle negativo), carbenoxolona 100 mg/kg (controle positivo), EMeOH (500 mg/kg) e F. n-ButOH (125 mg/kg) de *H. crista*. Após 1 hora do tratamento, os ratos receberam 4 mL/kg de etanol (agente lesivo) por via oral. Decorridos 60 min, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical, os estômagos retirados e abertos ao longo da grande curvatura. As lesões foram quantificadas de forma que o ILU fosse determinado.

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA



Os dados obtidos nos diferentes modelos foram submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett (para comparação dos grupos tratados com o grupo controle negativo) e teste de Tukey-Kramer (para comparação entre os grupos tratados e escolha da melhor dose do EMeOH e F. n-ButOH). O nível de significância mínimo considerado foi 0,05 ( $p < 0,05$ ). O ILU para cada grupo foi expresso como média  $\pm$  desvio padrão (d.p.). O programa estatístico utilizado foi o GraphPad Prism versão 4 de Abril de 2003.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES TOXICOLÓGICA E FARMACOLÓGICA de *Herissantia crispa* (L.) Brizicky

#### 4.1.1 Triagem farmacológica comportamental e determinação da dose letal 50% (DL<sub>50</sub>)

Considerando os parâmetros citados por Almeida e colaboradores (1999), os animais tratados com o EMeOH nas doses crescentes até 2000 mg/kg (i.p.) e de 5000 mg/kg (v.o.) não apresentaram alterações de comportamento no sistema nervoso central e autônomo nos animais quando comparados com seus respectivos grupos controle negativo (solução salina 0,9%), durante o tempo de observação preconizado. Dessa forma, a amostra vegetal estudada não apresentou toxicidade, uma vez que os parâmetros avaliados não foram alterados.

Observou-se que o EMeOH obtido das partes aéreas de *H. crispa*, nas condições avaliadas, não causou sinais tóxicos e mortes nos animais durante as 72h após a administração, impossibilitando determinação da DL<sub>50</sub>.

#### 4.1.2 Investigação da atividade antiulcerogênica

Com base no resultado anterior em que não foi possível determinar a DL<sub>50</sub> passou-se a avaliar o EMeOH de acordo com o que preconiza Souza Brito (1994), em pesquisa da atividade farmacológica para extrato bruto de plantas que não apresentem DL<sub>50</sub>, deve-se utilizar a dose máxima de 1000 mg/kg. Neste contexto, o EMeOH por não ter apresentado DL<sub>50</sub>, as doses selecionadas para a realização do presente trabalho foram estabelecidas de acordo com a capacidade das mesmas de inibirem as lesões ulcerativas. Por conseguinte, as doses selecionadas para o

EMeOH foram 250, 500 e 750 mg/kg e da F. n-ButOH foram de 125, 250 e 500 mg/kg.

#### 4.1.2.1 Indução de úlcera gástrica pelo etanol

Os resultados obtidos para a espécie *H. crista* no modelo de indução de úlcera por etanol (v.o.) em ratos demonstraram que o lansoprazol (30mg/kg) e o EMeOH nas doses 250, 500 e 750 mg/kg inibiram significativamente as lesões ulcerativas em 81, 42, 48 e 60%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle negativo (solução salina 0,9%). Estes resultados se encontram demonstrados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Efeitos da administração oral do lansoprazol e EMeOH obtido das partes aéreas de *H. crista* nas lesões gástricas induzidas por etanol em ratos

Tratamento	n	Dose (mg/kg)	ILU (média ± d.p.)	Inibição (%)
Solução salina 0,9%	5	-	202 ± 29	-
Lansoprazol	5	30	38 ± 15 **	81
EMeOH	5	250	117 ± 14 **	42
	5	500	106 ± 36 **	48
	5	750	82 ± 33 **	60

ANOVA:  $F_{(4,25)} = 96$  para EMeOH;  $p < 0,05$ . Seguido do teste de Dunnett: \*\*  $p < 0,01$  comparado com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

Os resultados obtidos através desse modelo, para avaliar o lansoprazol (30 mg/kg) e a fase n-ButOH nas doses 125, 250 e 500 mg/kg demonstraram que ocorreu uma inibição significativa das lesões ulcerativas em 43, 51, 74 e 85%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle negativo (solução salina 0,9%). Estes resultados se encontram resumidos na Tabela 2.

**Tabela 2.** Efeitos da administração oral do lansoprazol e F. n-ButOH obtida das partes aéreas de *H. crispa* nas lesões gástricas induzidas por etanol em ratos

Tratamento	n	Dose (mg/kg)	ILU (média ± d.p.)	Inibição (%)
Solução salina 0,9%	6	-	182 ± 28	-
Lansoprazol	6	30	104 ± 3,9 **	43
n-ButOH	6	125	89 ± 13 **	51
	6	250	48 ± 12 **	74
	6	500	27 ± 6,4 **	85

ANOVA:  $F_{(4,20)} = 25$  para n-ButOH;  $p < 0,05$ . Seguido do teste de Dunnett: \*\*  $p < 0,01$  comparado com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

Portanto, o EMeOH e a F. n-ButOH apresentam atividade antiulcerogênica significativa frente às lesões gástricas pelo etanol. De acordo com os resultados obtidos nesse modelo, foi realizada uma comparação entre as diferentes doses dos grupos tratados com EMeOH e F. n-ButOH, utilizando o teste de Tukey-Kramer, que permitiu iniciar a melhor dose de 500 mg/kg para EMeOH e de 125 mg/kg para F. n-ButOH.

#### 4.1.2.2 Indução de úlcera gástrica pelo estresse

No modelo de indução aguda de úlcera gástrica, tendo como agente lesivo o estresse por imobilização e frio utilizado em camundongos, os resultados da administração oral da cimetidina (100 mg/kg) e o do EMeOH nas doses 250, 500 e 750 mg/kg inibiram de forma significativa as lesões ulcerativas em 77, 82, 91 e 75%, respectivamente, quando comparados com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%). Os dados se encontram expressos na Tabela 3.

**Tabela 3.** Efeito da administração oral da cimetidina e do EMeOH obtido de *H. crispa* nas lesões gástricas induzidas por estresse (imobilização e frio) em camundongos

Tratamento	N	Dose (mg/kg)	ILU (média ± d.p.)	Inibição (%)
Solução salina 0,9%	5	-	158 ± 24	-
Cimetidina	5	100	36 ± 6,0 **	77
EMeOH	5	250	28 ± 5,1 **	82
	5	500	14 ± 2,0 **	91
	5	750	39 ± 15 **	75

ANOVA:  $F_{(4,20)} = 97$  para EMeOH;  $p < 0,05$ . Seguido do teste de Dunnett: \*\*  $p < 0,01$  comparado com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

Ao ser utilizado esse mesmo modelo para avaliar a atividade antiulcerogênica da cimetidina (100 mg/kg) e da fase n-ButOH nas doses 125, 250 e 500 mg/kg foi demonstrado que ocorreu inibição das lesões ulcerativas em 78, 77, 77 e 87%, respectivamente, quando comparados com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%). Estes resultados se encontram expressos na tabela 4.

**Tabela 4.** Efeitos da administração oral da cimetidina e da F. n-ButOH obtida de *H. crispa* nas lesões gástricas induzidas por estresse (imobilização e frio) em camundongos

Tratamento	n	Dose (mg/kg)	ILU (média ± d.p.)	Inibição (%)
Solução salina 0,9%	6	-	62 ± 9,0	-
Cimetidina	6	100	14 ± 4,2 **	78
n-ButOH	6	125	15 ± 2,3 **	77
	6	250	15 ± 3,9 **	77
	6	500	8,2 ± 2,9 **	87

ANOVA:  $F_{(4,25)} = 117$  para n-ButOH;  $p < 0,05$ . Seguido do teste de Dunnett: \*\*  $p < 0,01$  comparado com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

Com isso, o EMeOH e a F. n-ButOH obtidos das partes aéreas de *H. crispa* apresentaram significativa atividade antiulcerogênica frente às lesões ulcerativas promovidas pelo modelo de estresse (por imobilização e frio).

#### 4.1.2.3 Indução de úlcera gástrica pelo antiinflamatório não esteroidal (piroxicam)

Os resultados obtidos para a espécie *H. crispa* no modelo de antiinflamatório não-esteroidal (piroxicam 20mg/kg) em camundongos demonstraram que a cimetidina (100mg/kg) e o EMeOH nas doses 250, 500 e 750 mg/kg inibiram significativamente as lesões ulcerativas em 69, 54, 70 e 75%, respectivamente, quando comparadas com o grupo controle negativo (salina 0,9%). Esses resultados se encontram na tabela 5.

**Tabela 5.** Efeitos da administração oral da cimetidina e do EMeOH obtido das partes aéreas de *H. crispa* nas lesões gástricas induzidas por antiinflamatório não esteroidal (piroxicam) em camundongos

Tratamento	n	Dose (mg/kg)	ILU (média ± d.p.)	Inibição (%)
Solução salina 0,9%	5	-	63 ± 23	-
Cimetidina	5	100	19 ± 2,6 **	69
EMeOH	5	250	29 ± 9,9 **	54
	5	500	19 ± 2,8 **	70
	5	750	16 ± 3,3 **	75

ANOVA:  $F_{(4,20)} = 14$  para EMeOH;  $p < 0,05$ . Seguido do teste de Dunnett: \*\*  $p < 0,01$  comparado com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

Os resultados obtidos através desse mesmo modelo para avaliar a cimetidina (100 mg/kg) e a fase n-ButOH nas doses 125, 250 e 500 mg/kg demonstraram que as lesões ulcerativas foram inibidas significativamente em 82, 80, 94 e 84%, respectivamente, quando comparados com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%). Estes resultados se encontram resumidos na tabela 6.

**Tabela 6.** Efeitos da administração oral da cimetidina e da F. n-ButOH obtida das partes aéreas de *H. crispa* nas lesões gástricas induzidas por antiinflamatório não esteroideal (piroxicam) em camundongos

Tratamento	n	Dose (mg/kg)	ILU (média ± d.p.)	Inibição (%)
Solução salina 0,9%	6	-	31 ± 7,0	-
Cimetidina	6	100	6,0 ± 2,0 **	82
n-ButOH	6	125	6,2 ± 2,0 **	80
	6	250	2,0 ± 0,8 **	94
	6	500	5,0 ± 1,0 **	84

ANOVA:  $F_{(4,25)} = 73$  para n-ButOH;  $p < 0,05$ . Seguido do teste de Dunnett: \*\*  $p < 0,01$  comparado com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

Diante dos resultados apresentados para o EMeOH e a F. n-ButOH obtidos de *H. crispa*, no modelo de indução aguda de úlcera gástrica pela administração sub-cutânea de piroxicam, pode-se observar que as amostras vegetais apresentaram significativa atividade antiulcerogênica.

#### 4.1.2.4 Indução de úlcera gástrica por contensão da secreção gástrica no modelo de ligadura de piloro

Os resultados obtidos para as amostras vegetais em estudo frente a contensão da secreção gástrica utilizando o modelo de ligadura de piloro demonstraram que a cimetidina (100 mg/kg), o EMeOH (500 mg/kg) e a F. n-ButOH (125 mg/kg), inibiram 54, 59 e 48 % das lesões ulcerativas, respectivamente, quando comparados com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%) as úlceras induzidas por contensão da secreção gástrica. Esses dados se encontram na tabela 7.

**Tabela 7.** Efeitos da administração intraduodenal da cimetidina, EMeOH e F. n-ButOH nas lesões gástricas induzidas por contensão da secreção gástrica através da ligadura de piloro em ratos.

Tratamento	n	Dose (mg/kg)	ILU (média ± d.p.)	Inibição (%)
Solução salina 0,9%	5	-	12, ± 4,0	-
Cimetidina	5	100	5,6 ± 2,9 **	54
EMeOH	6	500	5,0 ± 0,9 **	59
F. n-ButOH	6	125	6,3 ± 3,3 *	48

ANOVA:  $F_{(3,18)} = 6,5$ ;  $p < 0,05$ . Seguido do teste de Dunnett: \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$  comparado com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

De acordo com os resultados obtidos, as amostras vegetais apresentaram uma significativa atividade antiulcerogênica nas condições avaliadas.

#### 4.2.2 Avaliação dos parâmetros bioquímicos do suco gástrico através do modelo de ligadura do piloro

No modelo de ligadura de piloro, foram avaliados parâmetros bioquímicos do suco gástrico: pH, a concentração de íons  $H^+$  e o volume, após a administração intraduodenal da solução salina a 0,9%, cimetidina 100 mg/kg e EMeOH (500 mg/kg) e F. n-ButOH (125 mg/kg) em ratos. Os resultados estão apresentados na tabela 8.



**Tabela 8.** Efeito da administração intraduodenal de cimetidina, EMeOH e F. n-ButOH obtidos das partes de *H. crispera* sobre os parâmetros bioquímicos do suco gástrico após a ligadura de piloro em ratos

Tratamento	n	Dose (mg/kg)	pH (unidades)	[H <sup>+</sup> ] (mEq/mL/4h)	Volume do suco gástrico (g/4h)
Solução salina 0,9%	5	-	2,6 ± 0,16	13 ± 0,7	0,98 ± 0,23
Cimetidina	5	100	4,7 ± 0,97 **	9,2 ± 2,3 **	0,60 ± 0,26 *
EMeOH	5	500	2,9 ± 0,22	14,7 ± 1,2	0,63 ± 0,24 *
F. n-ButOH	6	125	3,3 ± 0,40	13,8 ± 1,3	0,53 ± 0,14 **

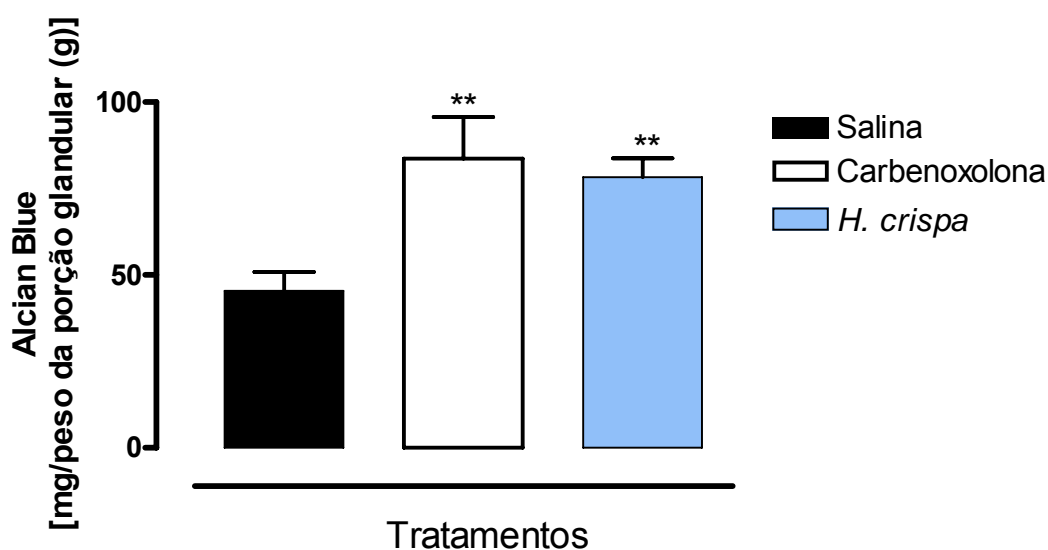
ANOVA:  $F_{(3,17)} = 15$  para pH;  $F_{(3,17)} = 14$  para concentração de íons H<sup>+</sup>;  $F_{(3,17)} = 5$  para volume gástrico;  $p < 0,05$ . Seguido do teste de Dunnett: \*\*  $p < 0,01$  comparado com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

O EMeOH e a F. n-ButOH obtidos das partes aéreas de *H. crispera* não alteraram o pH e a concentração de íons, entretanto, tais amostras vegetais reduziram, de forma significativa, o volume gástrico quando comparado com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%). No grupo dos animais que recebeu a cimetidina, houve alterações em todos os parâmetros bioquímicos avaliados.

#### 4.3.1 Avaliação dos mecanismos de ação envolvidos na atividade antiulcerogênica de *Herissantia crispera* (L.) Brizicky

##### 4.3.1.1 Determinação do muco aderido à mucosa gástrica

Os resultados demonstraram que a carbenoxolona (200 mg/kg) e a F. n-ButOH (125 mg/kg), administradas oralmente, aumentaram a produção de muco de forma significativa, quando comparados com o grupo controle negativo (solução salina 0,9%). Esses resultados se encontram expressos no gráfico 1.



**Gráfico 1.** Efeito da administração oral da carbenoxolona e F. n-ButOH obtida de *H. crispa* na produção de muco. ANOVA:  $F_{(2,25)} = 14,4$  ( $p < 0,05$ ), seguido do teste de Dunnett.

#### 4.3.1.2 Participação do óxido nítrico (NO) na citoproteção

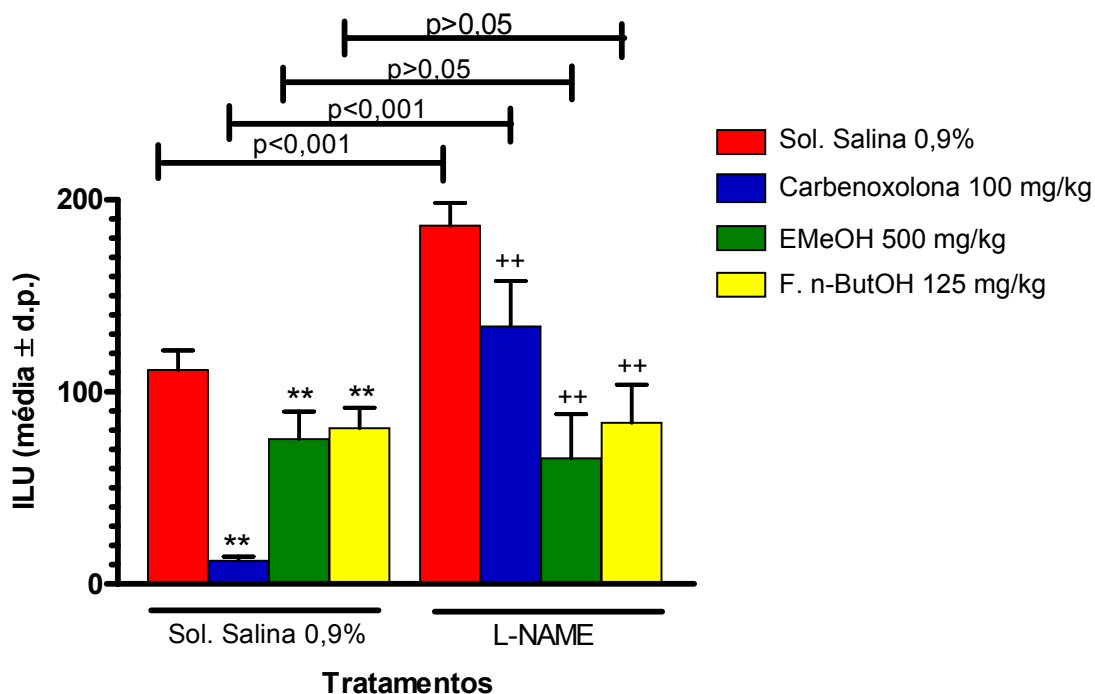
Com base nos resultados obtidos para as amostras vegetais no modelo que avaliou a participação do NO na proteção da mucosa gástrica produzida pelo EMeOH e F. n-ButOH, foi possível observar que os grupos tratados previamente com solução salina 0,9% e posteriormente tratados com carbenoxolona, EMeOH e F. n-ButOH apresentaram uma inibição das lesões ulcerativas, induzidas pelo etanol, em 89, 32 e 27%, respectivamente, quando comparadas ao grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

Nos grupos de animais que foram tratados inicialmente com L-NAME, observou-se que não houve aumento das lesões ulcerativas induzidas por etanol, neste sentido, a carbenoxolona, o EMeOH e a F. n-ButOH inibiram

o ILU em 28, 65 e 55%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle negativo.

Desta forma, ao realizar o teste de Tukey-Kramer, observou-se que os grupos tratados com as amostras vegetais não apresentaram diferenças

significativas, ou seja, a via do NO não está envolvida na ação citoprotetora promovida pela *H. crista*. Os resultados estão expressos no gráfico 2.



**Gráfico 2.** Efeito da administração oral de carbenoxolona, EMeOH e F. n-ButOH obtidos das partes aéreas de *H. crista* em úlceras gástricas induzidas por etanol em ratos pré-tratados com L-NAME. ANOVA:  $F_{(3,19)} = 96$  ( $p < 0,05$ ), seguido do teste de Dunnett \*\*  $p < 0,01$  comparando-se ao grupo solução salina 0,9% + solução salina 0,9%; \*\*  $p < 0,01$  comparando-se ao grupo L-NAME + solução salina 0,9 %; teste de Tukey-Kramer, comparando os grupos que receberam o mesmo tratamento  $p < 0,001$ .

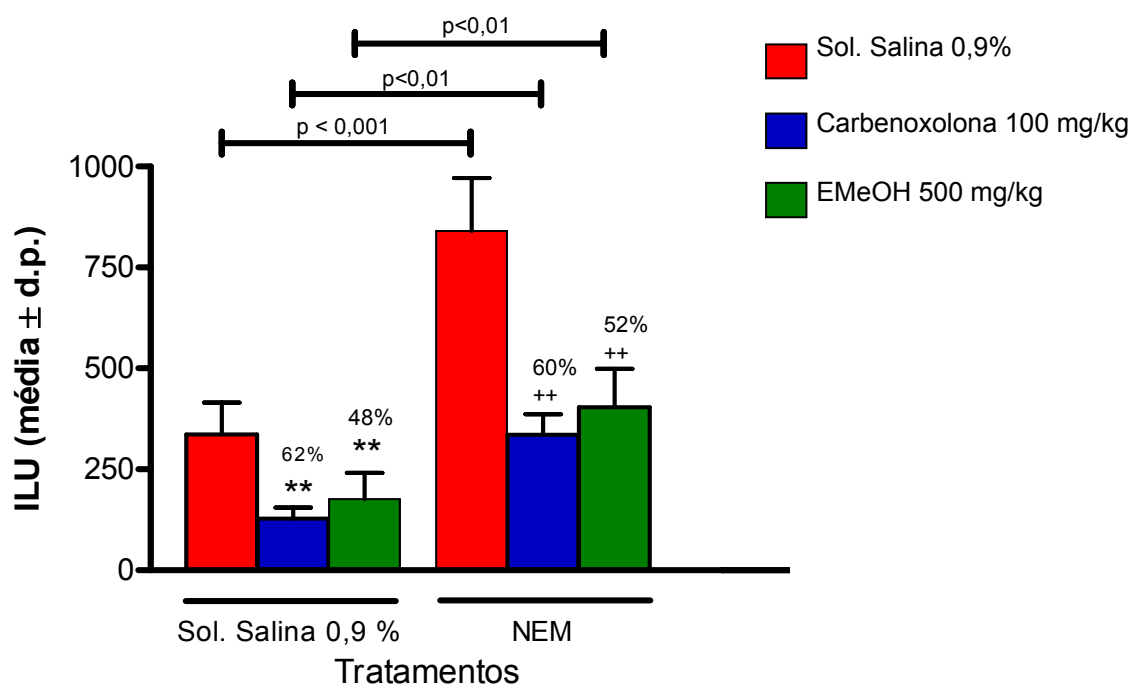
#### 4.3.1.2 Participação dos compostos sulfidrílicos (SHs) na citoproteção

Ao avaliar os dados obtidos para as amostras vegetais no modelo que investiga a participação dos grupamentos sulfidrilas na proteção induzida pelo EMeOH, pode-se observar que nos grupos dos animais tratados previamente com solução salina 0,9% e posteriormente tratados com carbenoxolona e EMeOH

ocorreu uma inibição significativa das lesões ulcerativas induzidas pelo etanol em 62 e 48 %, respectivamente, quando comparadas ao grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

Nos grupos de animais que foram pré-tratados com NEM e tratados com carbenoxolona e EMeOH, observou-se que não houve aumento das lesões ulcerativas induzidas por etanol, neste sentido, a carbenoxolona e o EMeOH inibiram o ILU em 60 e 52%, respectivamente, quando comparados ao grupo controle negativo (solução salina 0,9%).

Desta forma, ao realizar o teste de Tukey-Kramer, observou-se que os grupos tratados com as amostras vegetais apresentaram diferenças significativas, ou seja, o grupo de animais pré-tratado com NEM e tratado com EMeOH apresentou aumento no índice de lesão ulcerativa quando comparado com o grupo que recebeu inicialmente solução salina 0,9% e posteriormente foi tratado com EMeOH. Desta forma, os resultados demonstram que a via dos grupamentos sulfidrílicos está envolvida na ação citoprotetora promovida pela *H. crista*.



**Gráfico 3.** Efeito da administração oral de carbenoxolona e EMeOH obtido das partes aéreas de *H. crista* em úlceras gástricas induzidas por etanol em ratos pré-tratados com NEM. ANOVA:  $F_{(2,12)} = 16$  ( $p < 0,05$ ), seguido do teste de Dunnett \*\*  $p < 0,01$  comparando-se ao grupo solução salina 0,9% + solução salina 0,9%; ++  $p < 0,01$  comparando-se ao grupo NEM + solução salina 0,9%; teste de Tukey-Kramer, comparando os grupos que receberam o mesmo tratamento  $p < 0,001$ .

## 5 DISCUSSÃO

As plantas medicinais têm sido utilizadas como diferentes tipos de preparações, na forma de remédios caseiros ou medicamentos fitoterápicos, para tratar diversos tipos de doenças, apresentando um importante papel nos cuidados com a saúde. O uso de plantas tem grande aceitação pela população de diversos países, o que facilita a adesão ao tratamento de doenças (CALIXTO, 2000).

Embora as espécies vegetais possuam diversas atividades benéficas para o ser humano, as mesmas não são isentas de toxicidade, efeitos colaterais, mutagênicos e alérgicos; e além disso, as plantas, quando utilizadas concomitantemente com alimentos, medicamentos ou outras espécies vegetais, podem causar interações indesejáveis (TAYLOR et al., 2001).

O mercado mundial de fitoterápicos movimenta cerca de 22 bilhões de dólares por ano e vem conquistando cada vez mais adeptos nos países desenvolvidos. No ano de 2000, os Estados Unidos faturaram 6,6 bilhões de dólares e na Europa o lucro foi de 8,5 bilhões de dólares (PINTO et al., 2002).

No Brasil, a balança comercial é deficitária neste setor, uma vez que o país exporta cerca de 7 milhões de dólares de extratos vegetais, e por outro lado, importa uma quantidade considerável de hormônios esteroidais, produtos cosméticos de fonte natural, sendo este fato um verdadeiro contra-senso para uma nação detentora de uma das maiores biodiversidade do planeta (PINTO et al., 2002).

No mercado mundial, cerca de 80% da população fazem uso de plantas para curar suas enfermidades e, no Brasil, 60% dos medicamentos são consumidos por 23% da população, sendo a maioria dos brasileiros usuários de plantas medicinais (ELISABETSKY, 1991; CECHIEL FILHO; YUNES, 1998).

Diante destas considerações, a pesquisa de plantas se tornou uma estratégia para a descoberta de fármacos mais eficazes e com menos efeitos colaterais no tratamento de diversas enfermidades, que apresentam agravo à saúde, dentre elas, a úlcera péptica (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007). Esta doença, atualmente, tem afetado um considerável número de pessoas, se tornando uma afecção de grande relevância no século XXI (O'MALLEY, 2003).

As ulcerações pépticas têm sido causadas a partir da ação deletéria de diversos agentes agressores endógenos ou exógenos, associados ou não à

diminuição dos agentes protetores (HOLZER, 2000b). Dentre os fatores agressores envolvidos, encontram-se proteínas digestivas, HCl, EROs, AINEs e AIEs, a infecção por *H. pylori*, estresse e o fumo (MAITY et al., 2003; YUAN et al., 2006). Os fatores protetores são diversos, tais como a barreira de muco e bicarbonato, as células epiteliais, fluxo sanguíneo, proliferação celular e os moduladores desses fatores, como as prostaglandinas, óxido nítrico e fatores de crescimento (HOLZER, 2001); além desses fatores, pode-se contar com o sistema antioxidante (KWIECEN et al., 2002).

A princípio, o entendimento da úlcera péptica era focado apenas na anormalidade da secreção ácida péptica, sendo a supressão da acidez como uma estratégia no tratamento de tal enfermidade (YUAN et al., 2006). Com o passar do tempo, não bastava apenas neutralizar a secreção ácida péptica utilizando os antiácidos, era preciso aliviar a dor, prevenir as recorrências e complicações e diante disso (CHEHTER; RODRIGUES, 2002), sugeriram os anticolinérgicos (pirenzepina), os antagonistas do receptor H<sub>2</sub> (cimetidina, ranitidina) e os inibidores de bomba (lansoprazol, omeprazol, rabeprazol) (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005).

Entretanto, essa conduta não tem sido suficiente, se fazendo necessária a erradicação do *H. pylori* ou a suspensão do uso dos AINEs, no caso das úlceras infecciosas e das lesões ulcerativas provocadas pelo uso prolongado de AINEs, respectivamente (CHEHTER; RODRIGUES, 2002). Reforçar os fatores protetores da mucosa gástrica se tornou também uma grande estratégia na melhoria da qualidade de vida dos indivíduos com úlcera, a exemplo dos citoprotetores como: análogos de prostaglandina (misoprostol) e sucralfato (HOOGERWERF; PARSRICHA, 2005)..

Neste sentido, a pesquisa com plantas medicinais é relevante, uma vez que tem a finalidade de buscar alternativas terapêuticas através da validação de espécies vegetais ou obtenção de fitoconstituintes que possuam propriedades antiulcerogênicas.

Os compostos obtidos de plantas e que apresentam atividade antiulcerogênica possuem uma diversidade de constituintes, que agem por diferentes mecanismos de ação. Dentre as classes de substâncias, têm-se taninos, triterpenos, cumarinas, flavonóides, entre outros (REPETTO; LLESUY, 2002).

Os flavonóides são compostos polifenólicos, os quais conferem colorações amarela, vermelha e lilás às plantas e apresentam diversas ações biológicas como a atividade antiviral, antitumoral, ação protetora sobre os capilares, aumentando a

resistência dos mesmos, além da ação hormonal em mulheres, na prevenção da fragilidade óssea (ZUANAZZI; MONTANHA, 2004). Esses fitoconstituintes possuem a capacidade de inibir enzimas, como a xantina oxidase, a qual catalisa a oxidação da hipoxantina a ácido úrico. Nesse processo, a re-oxidação da xantina oxidase gera radicais livres como o ânion peróxido e superóxido, neste sentido, ao inibir tal enzima, os flavonóides previnem a produção de radicais livres (HARBONE; WILLIAMS, 2000).

As espécies vegetais são fonte de antioxidantes naturais que protegem a célula do estresse oxidativo, desenvolvendo um importante papel na prevenção de doenças resultantes da peroxidação lipídica (REPETTO; LLESUY, 2002). Essas propriedades são atribuídas, principalmente, à presença dos flavonóides, taninos (HÄSSIG et al., 1999; REPETTO; LLESUY, 2002) e cumarinas (REPETTO; LLESUY, 2002).

A atividade antioxidante dos flavonóides está relacionada com a ação varredora de EROs (HARBONE; WILLIAMS, 2000; HEIJNEN et al., 2001) como o ânion superóxido, radical hidroxil, radical peroxil (HARBONE; WILLIAMS, 2000) e peroxinitrito (HEIJNEN et al., 2001) e inibição da peroxidação lipídica (HÄSSIG et al., 1999). Estudos relatam que a quercetina atua como varredor de radical livre, e esta ação deve-se à presença de grupos de hidroxilas (-OH) em sua molécula, entretanto, quando estes grupos são metilados, a ação antioxidante é diminuída (HEIJNEN et al., 2001).

A pesquisa com espécies vegetais pode ser realizada com base em estudo randomizado, em que o mesmo se faz através da escolha arbitrária de uma determinada planta; critério quimiotaxonômico ou filogenético, em que a escolha da espécie vegetal a ser estudada é realizada de acordo com a categoria química de substâncias no gênero ou na família; e critério etnofarmacológico, no qual a seleção de plantas se faz com base no uso terapêutico de um determinado grupo étnico (SOUZA BRITO, 1996).

Levando-se em consideração os diferentes tipos de critérios, a escolha da *H. crispa* (Malvaceae) para a realização do presente trabalho, foi baseada no critério quimiotaxonômico, uma vez que a mesma é pertencente a uma família rica em flavonóides.

O primeiro modelo experimental para investigar a atividade farmacológica de *H. crispa* foi a triagem comportamental e determinação da DL<sub>50</sub>, com a finalidade



de obter doses com margem de segurança para o estudo da atividade antiulcerogênica. No modelo de triagem comportamental, foram avaliados parâmetros comportamentais que caracterizam a toxicidade de uma determinada amostra vegetal sob o sistema nervoso central e periférico (ALMEIDA et al., 1999).

A Triagem Comportamental permite avaliar se uma determinada droga modifica a atividade cerebral, através do registro de alguns sinais ou alterações de condutas apresentados pelos animais (ALMEIDA; OLIVEIRA, 2006). Assim, esse modelo e a determinação da DL<sub>50</sub> permite avaliar se determinadas drogas ou extratos vegetais apresentam toxicidade, possibilitando o estudo farmacológico de plantas com uma determinada margem de segurança (ALMEIDA et al., 1999).

Na triagem comportamental realizada com o EMeOH obtido da espécie vegetal *H. crisper* não foram observados efeitos nos parâmetros avaliados, o que demonstra que não houve intoxicação nas doses avaliadas até 5000 e 2000 mg/kg, administradas pela via oral e intraperitoneal, respectivamente. Portanto, a amostra vegetal nas doses e condições avaliadas é de baixa toxicidade.

Com base nos resultados obtidos, a *H. crisper* passou a ser investigada quanto à atividade antiulcerogênica. Segundo Souza Brito (1994), a dose utilizada para extratos brutos em triagens farmacológicas não devem ultrapassar 1000 mg/kg. Dessa forma, as doses utilizadas foram de 250, 500 e 750 mg/kg para o EMeOH e de 125, 250 e 500 mg/kg para a F. n-ButOH, definidas a partir da atividade antiulcerogênica.

A úlcera péptica é um transtorno que ocorre no trato gastrointestinal caracterizado por apresentar alterações na secreção ácida-péptica seguida de danos na mucosa. Tal enfermidade ocorre principalmente no estômago e no duodeno, e pode acometer, com menos frequência o esôfago (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

São diversas as complicações produzidas pelas ulcerações pépticas, tais como: hemorragia e perfuração, sendo esta última presente em 2 a 10 % das ulcerações. Geralmente, as perfurações acontecem em 60% no duodeno, seguido de 20% no antro e 20% na pequena curvatura do estômago (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007). Além destas complicações, a obstrução do piloro (estenose pilórica) pode ocorrer em pacientes com recorrência de úlceras duodenais ou localizadas no canal pilórico, que devido à persistência da inflamação, espasmos, edemas e fibrose, gera a obstrução do piloro (RAMAKRISHNAN; SALINAS, 2007).

Nos indivíduos com úlceras gástricas, o número de células G se encontra mais baixo quando comparado com àqueles que tem úlcera duodenal. Eventualmente, isto ocorre, quando existe atrofia do antro, ocasionada pelas lesões ulcerativas, que causa destruição suficiente das células G, neste sentido, as células parietais não secretam ácido na quantidade suficiente, resultando em hipocloridria ou acloridria, facilitando a migração bacteriana, o que pode levar ao desenvolvimento de ulcerações no corpo do estômago (EL-ZIMAITY, 2007).

Diante da importância da doença ulcerosa péptica e das limitações apresentadas na terapêutica, estudos que visam a busca de novas drogas com atividade antiulcerogênica têm sido realizados. O tratamento de gastrites ou das úlceras gástricas com plantas medicinais pela população de diversos países é uma prática comum (SCHMEDA-HIRSCHMANN; YESILADA, 2005).

A validação da ação antiulcerogênica de extratos obtidos de plantas tem sido comprovada por diversos grupos de pesquisas, e as doses utilizadas variam de 25 a 1000 mg/kg (SCHMEDA-HIRSCHMANN; YESILADA, 2005), testadas em lesões ulcerativas induzidas por diversos modelos experimentais em animais que mimetizam a úlcera no homem, a exemplo de etanol em ratos, estresse (por imobilização e frio) e antiinflamatório não-esteroidal (indometacina, piroxicam) em camundongos dentre outros (SCHMEDA-HIRSCHMANN; YESILADA, 2005; FALCÃO et al., 2008).

O primeiro modelo animal utilizado para avaliar a atividade antiulcerogênica nesse estudo foi o de etanol em ratos. Esse modelo serve como base de avaliação na triagem de diferentes compostos na pesquisa em úlcera gástrica (SZELENYI; BRUNE, 1988). As lesões gástricas induzidas pelo etanol estão relacionadas com a ação direta deste agente lesivo na mucosa gástrica, e a acidez possui pequena participação neste processo (MORIMOTO et al., 1991); sendo assim, as lesões são caracterizadas por serem severas, resultando em necrose da mucosa, hemorragia na submucosa e subsequente formação de edema (CHO; OLGLE, 1992; KAY et al., 2000).

O etanol concentrado em contato com a mucosa gástrica causa ruptura da membrana celular, com consequente necrose e liberação dos constituintes citoplasmáticos (OATES; HAKKINEN, 1988). Dentro de poucos segundos, o etanol além de danificar as células da mucosa gástrica, causa perturbação dos mastócitos, resultando na liberação de mediadores vasoativos, histamina e leucotrieno C<sub>4</sub>

(LTC<sub>4</sub>), dentro da mucosa superficial (OATES; HAKKINEN, 1988; KAY et al., 2000). Este processo resulta na vasoconstrição e dilatação arteriolar, tendo como quadro final hiperemia, hemorragia e edema no tecido gástrico (OATES; HAKKINEN, 1988; KAY et al., 2000), desta forma, os danos às células endoteliais precedem às lesões ulcerativas ocasionadas pelo etanol (SZABO et al., 1985).

Kvietys et al. (1990) investigou a participação dos neutrófilos na patogênese induzida pelo etanol. Este agente lesivo, ao danificar o epitélio gástrico e o endotélio, induz a liberação de mediadores inflamatórios, onde estes estimulam a migração neutrofilica, com conseqüente liberação de proteases, resultando na injúria gástrica.

As espécies reativas de oxigênio estão envolvidas na patogênese do dano gástrico induzido pelo etanol (SZELENYI; BRUNE, 1988), e este induz o aumento de ânion superóxido e radical hidroxil, sendo este último radical responsável pela produção da peroxidação lipídica, interagindo com a membrana da célula, gerando dienos conjugados e hidroperóxidos lipídicos (REPETTO; LLESUY, 2002). O estresse oxidativo também está envolvido no desenvolvimento das lesões ulcerativas induzidas pelo etanol, onde pode-se verificar a presença da despolarização mitocondrial, a qual precede a morte celular (REPETTO; LLESUY, 2002). Dessa forma, a formação de radicais livres extracelulares e intracelulares é um processo envolvido na injúria da mucosa gástrica induzida pelo etanol (REPETTO; LLESUY, 2002).

O etanol, numa concentração maior que 20%, causa injúria na membrana da mucosa gástrica, desse modo, a proliferação do epitélio é um mecanismo de defesa contra o uso crônico do álcool, entretanto, se persistente, esse processo se torna descontrolado (hiperproliferação) e pode se tornar alvo de erros na replicação durante a síntese de DNA (SALASPURO, 2003).

Além dos efeitos deletérios ocasionados pelo etanol, é possível considerar, que o metabólito desse agente lesivo, o acetaldeído, também é responsável por causar injúria na mucosa gástrica, por apresentarem efeitos mutagênicos e carcinogênicos em culturas de células e em modelos animais (VÄKEVÄINEN et al., 2000), desta forma, o acetaldeído induz aberrações cromossômicas, interfere no reparo do DNA e forma adutos de DNA estáveis (SALASPURO, 2003).

A atividade antiulcerogênica do EMeOH e da F. n-ButOH obtidos da espécie vegetal *H. crispera* foi comprovada neste modelo, uma vez que ambas as amostras vegetais reduziram de forma significativa as lesões ulcerativas induzidas

pelo etanol em ratos, e essa atividade não se mostrou dose-dependente. Entretanto, o modelo de etanol em ratos é inespecífico, e dessa forma, a ação antiulcerogênica do EMeOH e a F. n-ButOH pode está relacionada com aumento do fluxo sanguíneo, estimulação da produção de muco e bicarbonato ou atividade antioxidante; através do aumento dos níveis de NO e/ou de PG, e da redução da peroxidação lipídica. Sendo assim, o modelo estudado serve como triagem na avaliação da atividade antiulcerogênica de produtos naturais ou sintéticos.

Diante dos resultados obtidos no modelo de etanol em ratos, passou-se a investigar se as amostras vegetais em estudo apresentam resultados semelhantes frente às lesões ulcerativas agudas induzidas pelo estresse e AINE, modelos que avaliam a ação das amostras vegetais sobre reflexos vago vagais e sobre a redução de fatores citoprotetores.

No estresse (por imobilização e frio) as lesões ulcerativas se caracterizam por serem pontuais (CHO; OGLE, 1992), podendo chegar até 1-8 mm de comprimento (DAS; BANERJEE, 1993). O estresse agudo em animais pode ser induzido por diversos agentes lesivos, a exemplo de imobilização, baixas temperaturas, ruídos, nado forçado, radiação, cirurgias abdominais e craniais, exposição ao éter e ao choque (TACHÉ et al., 2001). A exposição de animais ao estresse por imobilização e frio, numa temperatura de 4°C, induz lesões hemorrágicas em 80% desses animais (DAS; BANERJEE, 1993), sendo, portanto, o modelo de indução aguda de úlceras por estresse mais eficaz (GLAVIN; SZABO, 1992).

O estresse ativa o eixo hipotalâmico-pituitário-adrenocortical (DAS; BANERJEE, 1993; PRUETT, 2003; FILARETOVA, 2006), levando ao aumento dos níveis de hormônios adrenais, como glicocorticóide (PRUETT, 2003; FILARETOVA, 2006), epinefrina e noraepinefrina (PRUETT, 2003). Somado a este fato, o estresse estimula o sistema nervoso autônomo simpático (BANDYOPADHYAY et al., 2001; PRUETT, 2003) e parassimpático (DAS; BANERJEE, 1993; BANDYOPADHYAY et al., 2001; FILARETOVA, 2006). O sistema nervoso parassimpático, através do nervo vago, aumenta a motilidade gástrica, resultando na contração muscular e constrição arteriolar, sendo estes dois últimos efeitos também resultantes da estimulação simpática (BANDYOPADHYAY et al., 2001).

A constrição arteriolar, gerada no estresse, causa isquemia, resultando na geração de espécies reativas de oxigênio como o ânion superóxido e o péroxido de

hidrogênio e conseqüente depleção de prostaglandinas, um agente citoprotetor da mucosa gástrica (DAS; BANERJEE, 1993; BANDYOPADHYAY et al., 2001). Neste sentido, haverá diminuição da produção de muco e bicarbonato e aumento da secreção ácida, o que caracteriza a perda da citoproteção (DAS; BANERJEE, 1993; BANDYOPADHYAY et al., 2001). A inibição da produção de prostaglandinas resulta também no aumento da expressão de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , o que favorece migração leucocitária, aumentando, inicialmente, a quantidade de neutrófilos no local de injúria e conseqüente geração de espécies reativas de oxigênio (HAMAGUCHI et al., 2001; BRZOZOWSKI et al., 2005).

O radical hidroxil é responsável pelo aumento da peroxidação lipídica e depleção de antioxidantes celulares (BANDYOPADHYAY et al., 2001). Os distúrbios vasculares em conjunto com a inativação dos antioxidantes culminam para a perda da citoproteção, que na presença do aumento da histamina e da acidez resultam na ulceração gástrica (BANDYOPADHYAY et al., 2001).

O aumento dos níveis de histamina tem sido observado durante o estresse por imobilização e frio, e deve ser responsável pela inflamação no estômago, sendo este processo uma conseqüência da degranulação de mastócitos (DAS; BANERJEE, 1993).

O EMeOH e a F. n-ButOH reduziram o índice de lesões ulcerativas induzidas no modelo de estresse, apresentando o efeito antiulcerogênico associado a uma atividade anti-secretória ou citoprotetora. Desta forma, drogas que restabelecem o fluxo sanguíneo, contribuindo para o aumento da defesa da mucosa gástrica bem como àquelas que modulam ou inibem a secreção ácida são eficazes no tratamento de úlceras induzidas pelo estresse (WOLFE; SANCHS, 2000).

A etapa seguinte do presente trabalho visou avaliar o efeito da ação do EMeOH e da F. n-ButOH obtidos da espécie vegetal *H. crista* em úlceras induzidas por antiinflamatório não-esteroidal (piroxicam).

Os antiinflamatórios não-esteroidais (AINEs), a exemplo do piroxicam, do ácido acetil salicílico, diclofenaco, indometacina, dentre outros, causam lesões gástricas através da ação irritativa na mucosa e através da inibição da enzima cicloxigenase. A ação local dos AINEs deve-se à habilidade desses se associarem quimicamente com os fosfolípidios presentes na superfície da camada de gel mucoso, dando origem a um complexo mais estável (LICHTENBERGER et al., 1995; KURINETS; LICHTENBERGER, 1998; ANAND et al., 1999). Desta forma, o

complexo AINE-fosfolípido se dissocia do muco, permitindo que haja a retrodifusão dos íons  $H^+$  em direção às células da mucosa resultando em lesões do epitélio gástrico (KWRINETS; LICHTENBERGER, 1998; LICHTENBERGER, 2001).

A  $PGE_2$ , o prostanóide mais abundante no trato gastrointestinal, é responsável pela manutenção da integridade da mucosa gástrica (BRZOZOWSKI et al., 2005; STENSON, 2007), através da regulação do muco-bicarbonato, do fluxo sanguíneo e da proliferação celular, que ao ser suprimida, as defesas da mucosa gástrica se tornam deficientes (BRZOZOWSKI et al., 2005).

A supressão da síntese de prostaglandinas, através da inibição não seletiva da enzima COX pelos antiinflamatórios não-esteroidais, é um componente chave para o aumento da susceptibilidade da mucosa gástrica frente aos agentes agressores (DING et al., 1998; WALLACE; MA, 2001; RAINSFORD, 2001). Este processo resulta na diminuição do fluxo sanguíneo (DING et al., 1998; RAINSFORD, 2001; BRZOZOWSKI, 2003) e isquemia, culminando na geração de radicais livres (RAINSFORD, 2001), na redução de muco e bicarbonato (RAINSFORD, 2001), no aumento do tônus vascular (WALLACE, 2001; BRZOZOWSKI, 2003) e da acidez gástrica (MORIMOTO et al., 1991; WALLACE, 2001).

A inibição da síntese de  $PGE_2$  causa o aumento da expressão da citocina pró-inflamatória TNF- $\alpha$  (DING et al., 1998; OKADA et al., 1998; WALLACE; MA, 2001; HAMAGUCHI et al., 2001; BRZOZOWSKI et al., 2005) nos macrófagos (DING et al., 1998; WALLACE; MA, 2001) e nas células da mucosa gástrica (OKADA et al., 1998), além do aumento da IL-1 $\beta$  (HAMAGUCHI et al., 2001; BRZOZOWSKI et al., 2005), resultando na expressão de moléculas de adesão (ICAM-1) no endotélio e conseqüente migração neutrofílica (DING et al., 1998; WALLACE; MA, 2001; BRZOZOWSKI, 2003). Somado a este fato, os leucotrienos  $B_4$  ( $LTB_4$ ) produzidos pelos neutrófilos, agem como potentes quimiotaxinas (OKADA et al., 1998) que estarão em níveis aumentados devido a diminuição de prostaglandina, uma vez que esse eicosanóide reduz a produção de  $LTB_4$  (WALLACE; MA, 2001).

No modelo avaliado, a ação local na mucosa gástrica foi desconsiderada, uma vez que o piroxicam foi administrado por via subcutânea, evidenciando que os danos causados a mucosa foram devido à inibição da enzima cicloxigenase. O EMeOH e a F. n-ButOH avaliados nesse modelo apresentaram atividade antiulcerogênica, sugerindo, de algum modo, efeito na manutenção da integridade

gástrica, através do aumento de muco e bicarbonato ou inibição da acidez gástrica, o que constitui atividade citoprotetora.

Diante dos resultados obtidos é possível concluir que o EMeOH e a F. n-ButOH obtidos de *H. crispera* inibiram as lesões ulcerativas induzidas por diferentes agentes lesivos (etanol, estresse e antiinflamatório não-esteroidal), o que caracteriza a atividade antiulcerogênica dos mesmos. Os resultados promissores das amostras vegetais nos levou a investigar um outro modelo que viesse corroborar aos resultados anteriores. Através do modelo de ligadura do piloro foram avaliados o ILU e os parâmetros bioquímicos (pH, concentração de íons e volume gástrico) do EMeOH e da F. n-ButOH.

A ligadura de piloro promove a hipersecreção gástrica, entretanto, acredita-se que o aumento desta secreção deve-se aos reflexos vago-vagais promovidos pelo estímulo dos mecanoreceptores presentes na mucosa antral, durante à amarradura do piloro (BAGGIO et al., 2003).

Rastogi et al., (1998) verificaram que logo após a ligadura de piloro, há o aumento de pepsina; da atividade mieloperoxidase, indicando a participação de neutrófilos com conseqüente aumento de radicais livres que leva ao processo de peroxidação lipídica e danos celulares. A ligadura de piloro leva ao acúmulo de suco gástrico no estômago, e drogas que possuam ação anti-secretória são efetivas em diversos modelos experimentais de indução de úlcera (HIRUMA-LIMA et al., 2006b).

Na determinação do ILU, no modelo de ligadura de piloro, foi possível observar que a cimetidina 100 mg/kg, o EMeOH, na dose de 500 mg/kg, e a F. n-ButOH, na dose de 125 mg/kg inibiram de forma significativa as lesões induzidas pela ligadura de piloro em ratos, quando comparados com o grupo controle. Na avaliação dos efeitos das amostras vegetais sob os parâmetros bioquímicos, o EMeOH e a F. n-ButOH não alteraram o pH e a concentração de íons, entretanto tais amostras reduziram o volume gástrico. Estes dados indicam que houve absorção sistêmica do EMeOH e da F. n-ButOH e por conseguinte, redução das lesões ulcerativas, e isso poderá está relacionado com ação antioxidante e uma possível atividade anti-secretória das amostras obtidas de *H. crispera*.

Na perspectiva de compreender os mecanismos envolvidos na ação antiulcerogênica do EMeOH e da F. n-ButOH, foram realizados alguns modelos experimentais, como a participação do muco, óxido nítrico e grupamentos sulfidrilas na citoproteção promovida pelas amostras vegetais estudadas no presente trabalho.

O muco é um gel viscoso composto de água, mucinas, lipídios, ácidos nucléicos e imunoglobulinas; e encontra-se aderido às células epiteliais (FLEMSTRÖM; ISENBERG, 2001). O mesmo age como uma barreira efetiva contra a ação digestiva do ácido, impedindo sua retrodifusão (HOLZER, 2000b) e da pepsina (CHO; OGLE, 1992; TANI et al., 2002); atua contra a ação de agentes agressores, a exemplo do álcool e das drogas que agridem a mucosa; além de agir contra os microrganismos; age como lubrificante do alimento ingerido (TANI et al., 2002); e ao mesmo tempo, restringe o acesso das macromoléculas, incluindo toxinas bacterianas ao epitélio gástrico (HOLZER, 2000b).

Acredita-se que a camada de gel do muco aderente ao epitélio gástrico, em vez do muco livre na secreção gástrica, desenvolve um papel importante na proteção contra a autodigestão da mucosa gástrica (CHO;OGLE, 1992). Tem sido estabelecido que as mucinas presentes no muco possuem a ação de “varrer” os radicais livres, como o radical hidroxil, constituindo dessa forma, outra ação protetora do muco (SZELENYI; BRUNE, 1988).

A produção do muco é regulada por diversos fatores, como o peptídeo liberador do gene relacionado a calcitonina (CGRP), óxido nítrico (NO) e prostaglandinas (PG) .O HCl ou capsaicina ativa as fibras nervosas aferentes extrínsecas, que liberam o CGRP, aumentando os níveis de NO e este ativa a COX com conseqüente liberação de PG, que por sua vez estimula a produção de muco (HOLZER, 2001). Uma vez inibida a prostaglandina, ocorre redução da produção de muco e a mucosa gástrica se torna vulnerável aos agentes agressores endógenos ou exógenos (HAWKIS; HANKS, 2000).

Os resultados do modelo experimental que determinou a quantidade de muco gástrico após o tratamento com a F. n-ButOH de *H. crispa* indicaram que a mesma é capaz de aumentar de modo significativo a produção de muco, o que sugere a participação desse mecanismo de ação na citoproteção promovida pela espécie vegetal em estudo.

Após a avaliação da participação do muco no mecanismo de ação do efeito citoprotetor de *H. crispa*, a próxima etapa do presente trabalho foi de avaliar qual a via envolvida na produção do muco, sendo assim, o modelo estudado foi a participação do óxido nítrico na citoproteção promovida pela espécie vegetal em estudo.



O óxido nítrico (NO) é sintetizado a partir da ação da sintase de óxido nítrico (NOS), que converte o aminoácido L-arginina e oxigênio em L-citrulina e NO (WRIGHT; WARD, 2000). O NO é uma molécula que apresenta múltiplos efeitos biológicos, e por possuir um elétron desemparelhado, torna-se um radical livre, e que ao reagir com outras moléculas gera espécies reativas de nitrogênio, como a nitroxila ( $\text{NO}^\cdot$ ), dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ), peroxinitrito ( $\text{ONOO}^\cdot$ ) dentre outras espécies reativas (WRIGHT; WARD, 2000).

O NO regula a microcirculação e mantém a integridade da mucosa gástrica em colaboração com a ação da prostaglandina e neurônios sensoriais (KATO et al., 1998), além de inibir diretamente a secreção ácida, atuando na célula parietal (BERG et al., 2005), e de forma indireta, diminuindo a liberação de histamina pelas células ECL (KATO et al., 1998); além de agir como um antioxidante (KRÖNCKE et al., 1997).

A exposição do tecido ao etanol gera o estresse oxidativo, o qual pode colaborar para a diminuição de NO, sendo este um agente varredor de radicais livres (REPETTO; LLESUY, 2002). O NO é uma molécula lipofílica, o que favorece sua ação na inibição da propagação da peroxidação lipídica, sendo este, outro mecanismo pelo qual essa molécula age como antioxidante (WRIGHT; WARD, 2000).

Para estudar a via do óxido nítrico, foi utilizado o L-name ( $\text{N}^G$ -nitro-L-arginina-metil-éster), um agente que interage com a L-arginina, inibindo a ação da sintase de óxido nítrico (MONCADA et al., 1997; KATO et al., 1998; DUSSE, et al., 2003). Nas lesões induzidas pelo etanol, há a participação de radicais hidroxila, e estes são inibidos pela presença do NO, entretanto, o tratamento com L-name potencializa os danos induzidos pelo radical hidroxila (BULUT et al., 1999). O NO atenua as úlceras gástricas induzidas pelo etanol através de sua ação antioxidante e da inibição da secreção ácida (BULUT et al., 1999).

O EMeOH (500 mg/kg) e a F. n-ButOH (125 mg/kg) mantiveram a proteção da mucosa gástrica das lesões ulcerativas. Com isso pode-se sugerir que as amostras vegetais nas doses utilizadas não dependem da ação do NO promover a citoproteção e possivelmente a produção de muco pela F. n-ButOH obtida de *H. crispata* possivelmente seja regulada pelas prostaglandinas.

Outro parâmetro avaliado na citoproteção promovida por essas amostras vegetais foi a participação dos grupamentos sulfidrilas na citoproteção.

A presença de radicais livres (RLs) tem sido correlacionada com um grande número de doenças, entretanto, os RLs não são os agentes etiológicos, mas participam diretamente dos mecanismos fisiopatológicos. As espécies radicalares são envolvidas nos mecanismos de reações inflamatórias ou atuam como segundos mensageiros para a manutenção de diversas funções celulares, dentre elas a defesa do sistema imune contra agentes infecciosos (ROVER-JÚNIOR, 2001).

O equilíbrio entre a formação e a eliminação dos RLs deve ser regulado de forma que as reações e os processos metabólicos dependentes das mesmas possam ocorrer em nível adequado para a manutenção da fisiologia celular. O desequilíbrio deste processo gera um estado pró-oxidante que favorece a ocorrência de lesões oxidativas em macromoléculas e em estruturas celulares, podendo resultar na morte celular. Esse tipo de lesão oxidativa é definida como estresse oxidativo (ROVER-JÚNIOR, 2001).

Neste contexto, os processos de defesa do organismo contra os agentes oxidativos são divididos em dois grupos: enzimáticos e não enzimáticos (ROVER-JÚNIOR, 2001). Sob condições de estresse oxidativo, as EROs são reduzidas pela glutatona não protéica (GSH) com concomitante formação da glutatona oxidada (GSSG); e de forma enzimática, a GSH atua como um co-fator na redução mediada pela glutatona peroxidase (GPx), resultando na formação de GSSG, sendo esta, a primeira linha de defesa do sistema antioxidante enzimático; e por conseguinte, a glutatona redutase (GSH-Rd) restaura os níveis de GSH (CNUBBEN et al., 2001).

Antioxidantes como a GSH, o maior representante dos grupamentos sulfidrila, exercem ações protetoras contra os danos causados pelo etanol no tecido gástrico. O tratamento com etanol diminui os níveis de GSH; induz estresse oxidativo e danos no DNA, além de aumentar a atividade da xantina oxidase na mucosa gástrica (REPETTO; LLESUY, 2002).

Portanto, sabe-se que compostos que contêm grupamentos sulfidrila são conhecidos por prevenirem o desenvolvimento dos danos na mucosa gástrica provocados pelo etanol (SZELENYI; BRUNE, 1988). Uma forma de investigar a participação dos grupamentos sulfidrila é a utilização da ferramenta farmacológica N-etilmaleimida (NEM), um agente bloqueador desses grupamentos, que potencializa as lesões ulcerativas induzidas pelo etanol (SZABO et al., 1985; CHO; OGLE, 1992).

Os resultados obtidos neste modelo experimental avaliou a participação dos grupamentos sulfidrilas no mecanismo de ação do efeito protetor de *H. crispera*. Neste modelo, os animais pré-tratados com NEM apresentaram o índice de lesão ulcerativa exacerbado; uma vez que esse bloqueador dos grupamentos sulfidrilas agrava as lesões ulcerativas produzidas pelo etanol. O EMeOH da espécie vegetal em estudo não inibiu as lesões ulcerativas, indicando que a gastroproteção promovida pela *H. crispera* depende da via dos grupamentos sulfidrilas.

Diante dos resultados obtidos no presente trabalho, é possível concluir que a ação gastroprotetora do EMeOH depende dos compostos sulfidrilas e independe da via do óxido nítrico. A F. n-ButOH produziu ação gastroprotetora, que está relacionada com o aumento de muco e independe da via do óxido nítrico.

## 6. CONCLUSÃO

- Os resultados obtidos nos permite concluir que o EMeOH obtido das partes de *H. crispata* não causou sinais de toxicidade nas doses e condições avaliadas, por não alterar os parâmetros comportamentais dos animais e não causar morte dos mesmos;

- O EMeOH e a F. n-ButOH nas doses avaliadas apresentaram atividade antiulcerogênica frente aos agentes indutores de úlcera gástrica em animais: etanol, estresse; antiinflamatório não-esteroidal;

- As amostras vegetais apresentaram ação gastroprotetora frente às lesões ulcerativas induzidas por contensão da secreção no modelo de ligadura de piloro; através da absorção sistêmica;

- O EMeOH e F. n-ButOH não apresentaram alterações no pH e na concentração de íons  $H^+$ , entretanto promoveram redução do volume gástrico, sugerindo que as amostras vegetais foram absorvidas sistemicamente, contudo se faz necessária a investigação de modelos que avaliam a ação do EMeOH e F. n-ButOH sob os hormônios gastrina e somatostatina;

- A proteção da mucosa gástrica promovida pela F. n-ButOH está relacionada com o aumento da produção produção de muco;

- A proteção da mucosa gástrica promovida pelo EMeOH e pela F. n-ButOH independe da via do óxido nítrico;

- A proteção exercida pelo EMeOH é dependente dos compostos sulfidrilas;

Dessa forma pode-se sugerir que a ação antiulcerogênica das amostras vegetais está relacionada ao mecanismo de citoproteção, com alguns indícios de mecanismos anti-secretórios e antioxidantes, se fazendo necessária a realização de modelos complementares.

## 7. PERSPECTIVAS

Diante dos resultados obtidos na investigação da atividade antiulcerogênica do EMeOH e F. n-ButOH da espécie vegetal *H. crista*, propõe-se as seguintes perspectivas com a finalidade de complementar o presente estudo:

- Investigar a participação da via das PGs na ação gastroprotetora da F. n-ButOH;
- Determinar os níveis sanguíneos de somatostatina e gastrina, como forma de avaliar os mecanismos anti-secretórios;
- Avaliar os parâmetros bioquímicos dos suco gástrico quando realizada a via oral de administração;
- Investigar os fatores envolvidos no processo de cicatrização de lesões ulcerativas em modelos crônicos de úlcera gástrica;
- Avaliar mecanismos de ação antioxidante das amostras vegetais.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-SALAM, O. M. E.; CZIMMER, J.; DEBRECENI, A.; SZOLCSÁNYI, J.; MÓZSIK, G. Gastric mucosal integrity: gastric blood flow and microcirculation. An overview. **Journal of Physiology – Paris**, v. 95, p. 105-127, 2001.

AIHARA T, NAKAMURA E, AMAGASE K, TOMITA K, FUJISHITA T, FURUTANI K, OKABE S. Pharmacological control of gastric acid secretion for the treatment of acid-related peptic disease: past, present, and future. **Pharmacology & Therapeutics**, v.98, p.109-27, 2003.

AIHARA, T.; NAKAMURA, Y.; TAKETO, M.M.; MATSUI, OKABE, S. Cholinergically stimulated gastric acid secretion is mediated by M<sub>3</sub> and M<sub>5</sub> but not M<sub>1</sub> muscarinic acetylcholine receptors in mice. **American Journal Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.288, p.G1199-G1207, 2005.

AKERELE, O. Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. **HerbalGram**, v. 28, p.1053-1071, 1993.

ALLEN, A.; FLEMSTRÖM, G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. **American Journal Physiology - Cell Physiology**, v. 288, p. 1-19, 2005.

ALMEIDA, R. N.; OLIVEIRA, T. M. L. Triagem Farmacológica Comportamental. Em: ALMEIDA, R. N. **Psicofarmacologia – Fundamentos Práticos**, Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 2006, p. 131-137.

ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A.C.G.M.; DINIZ, R.S.T.; QUINTANAS-JÚNIOR, L. J.; POLARI, R. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; DUARTE, J. C.; FERREIRA, C.D.; ANTONIOLLI, A.R.; ARAÚJO, C.C. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 80, p. 72-76, 1999.

ALPER, J. Ulcers as na infections disease. **Science**, v. 260, p. 159-160, 1993.

ALTMAN, D. F. Fármacos utilizados nas doenças gastrointestinais. Em: KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica & Clínica**, 8 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p. 923-934.

ALVAREZ, A.; POMAR, F.; SERVILLA, M. A.; MONTERO, M. J. Gastric antisecretory and antiulcer activities of an ethanolic extract of *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, p. 333-340, 1999.

ANAND, B.S.; PHIL, D.; ROMERO, J. J.; SANDUJA, S. K.; LICHTENBERGER, L. M. Phospholipid Association Reduces the gastric mucosal toxicity of aspirin in human subjects. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 94, p.1818-1822, 1999.

BAGGIO, C. H.; FREITAS, C. S.; RIECK, L.; MARQUES, M. C. A. Gastroprotective effects of a crude extract of *Baccharis illinita* DC in rats. **Pharmacological research**, v. 47, p. 93-98, 2003.

BANDYOPADHYAY, D.; BISWAS, K.; BHATTACHARYYA, M.; REITER, R. J.; BANERJEE, R. K. Gastric toxicity and mucosal ulceration induced by oxygen-derived reactive species: protection by melatonin. **Current Molecular Medicine**, v. 1, p. 501-513, 2001.

BAROCELLI, E.; BALLABENI, V. Histamine in the control of gastric acid secretion: a topic review. **Pharmacological Research**, v. 47, p. 299-304, 2003.

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

BARRETO, R. L.; CORREIA, C. R. D.; MUSCARÁ, M. N. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1046-1054, 2005.

BATISTA, L. M.; ALMEIDA, A. B. A.; MAGRI, L. P.; TOMA, W.; CALVO, T. R.; VILEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A. R. M. Gastric antiulcer activity of *Syngonanthus arthrotrichus* Silveira. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 3, p. 328-332, 2004.

BERESWILL, S.; KIST, M. Molecular microbiology and pathogenesis of *Helicobacter* and *Campylobacter* updated: a meeting report of the 11 th conference on *Campylobacter*, *Helicobacter* and related organisms. **Molecular Microbiology**, v. 45, p. 255-262, 2002.

BERG, A.; REDÉN, S.; GRENEGÄRD, M.; ERICSON, A.C.; SJÖSTRAND, S. E. Nitric oxide – an endogenous inhibitor of gastric acid secretion in isolated human gastric glands. **BMC Gastroenterology**, v. 4, p.1-9, 2004.

BERG, A.; REDÉN, S.; GRENEGÄRD, M.; ERICSON, A.C.; SJÖSTRAND, S. E. Nitric oxide inhibits gastric acid secretion by increasing intraparietal cell levels of cGMP in isolated human gastric glands. **American Journal Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 289, p. G1061-G1066, 2005.

BI, L. C.; KAUNITZ, J. D. Gastroduodenal mucosal defense: na integrated protective response. **Current Opinion Gastroenterology**, v. 19, p. 526-532, 2003.

BILLINGTON, C. K.; PENN, R. B. Signaling and regulation of G protein-couplad receptors in airway smooth muscle. **Respir Res**, v.4, n.1, p.1-23, 2003

BOTTING, R. M. Cyclooxygenase: past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927-2004). **Journal of Thermal Biology**, v. 31, p. 208-216, 2006.

BRAZ-FILHO, R. Brazilian phytochemical diversity: bioorganic compounds produced by secondary metabolism as a source of new scientific development, varied industrial applications and to enhance human health and the quality of life. **Pure and Applied Chemistry**, v. 71, n. 9, p. 1663-1672, 1999.

BRAZ-FILHO, R. Química de produtos naturais: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. **Química Nova**, v. 17, n. 5, p. 405-445, 1994.

BRZOZOWSKI, T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and cancer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological trreatment – polish achievements. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.54, p. 99-126, 2003.

BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; KONTUREK, S. J.; BRZOZOWSKA, T.; PAWLIK, T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56, p. 33-55, 2005.

BULUT, R.; ÜNLÜÇERÇİ, Y.; BEKPINAR, S.; KUNTSAL, L. Nitric oxide-mediated regulation of gastric H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase and alcohol dehydrogenase following ethanol-induced injury in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 44, p. 1417-1422, 1999.



CALAM, J.; BARON, J. H. Pathophysiology of duodenal and gastric ulcer and gastric cancer. **The ABC of the upper gastrointestinal tract.**, v. 323, p. 980-982, 2001.

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

CECHINEL-FILHO, V. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p.680-685, 1999.

CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, Y.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, p. 99-105, 1998

CHENTER, L.; RODRIGUES-JÚNIOR, L. Úlcera Péptica. Em: MISZPUTEN, S. J. **Gastroenterologia**. 1ª ed. Editora Manole, Barueri, SP. 2002, p.49-64.

CHO, C. H. Current roles of nitric oxide in gastrointestinal disorders. **Journal of Physiology**, v. 95, p. 253-256, 2001.

CHO, C. H.; OGLE, C. W. The pharmacological differences and similarities between stress- and ethanol- induced gastric mucosal damage. **Life Sciences**, v. 51, p. 1833-1842, 1992.

CNUBBEN, N. H. P.; RIETJENS, I. M. C.M.; WORTELBOER, H.; ZANDEN, J.; BLADEREN, P. J. The interplay of glutathione – related processes in antioxidant defense. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 10, p. 141-152, 2001.

COELHO, R. G.; BATISTA, L. M.; SANTOS, L. C.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; VILEGAS, W. Phytochemical study and antiulcerogenic activity of *Syngonanthus bisulcatus* (Eriocaulaceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p.413-417, 2006.

COSTA, D. A. **Constituintes químicos de *Bakeridesia pickelii* (H. Monteiro) e *Herissantia crispa* L. (Brizicky) (Malvaceae)**. Tese de Doutorado. Laboratório de Tecnologia Farmacêutica / UFPB / João Pessoa, Paraíba. 2006.

CUI, G.; WALDUM, H. L. Physiological and clinical significance of enterochromaffin-like cell activation in the regulation of gastric acid secretion. **World J Gastroenterol**, v. 13, n.4, p. 493-496, 2007.

DAS, D.; BANERJEE, R. K. Effect of stress on the antioxidant enzymes and gastric ulceration. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 125, p. 115-125, 1993.

DAVID, J. P. L.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Produtos fitoterápicos : uma perspectiva de negócio para a indústria, um campo pouco explorado pelos farmacêuticos. **Infarma**, v. 16, n.9-10, p.71-76, 2004.

DI CARLO, G.; MASCOLO, N.; IZZO, A. A. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sciences**, v. 65, n. 4, p.337-353, 1999.

DIMAS, K.; DEMETZOS, C.; MITAKU, S.; MARSELOS, M.; TZAVARAS, T.; KOKKINOPOULOS, D. Citotoxic activity of kaempferol glycosides against human leukaemic cells lines in vitro. **Pharmacology Research**, v. 41, p.85-88, 2000.

DING, M.; KINOSHITA, Y.; KISHI, K.; NAKATA, H.; HASSAN, S.; KAWANAMI, C.; SUGIMOTO, Y.; KATSUYAMA, M.; NEGISHI, M.; NARUMIYA, S.; ICHIKAWA, A.; CHIBA, T. Distribution of prostaglandin E receptors in the rat, gastrointestinal tract. **Prostaglandins**, v. 53, p. 199-216, 1997.

DING, S. Z.; LAM, S.K.; YUEN, S. T.; WONG, B. C. Y.; HUI, W. M.; HO, J.; GUO, X.; CHO, C. H. Prostaglandin, tumor necrosis factor  $\alpha$  and neutrophils: causative relationship in indometacin-induced stomach injuries. **European Journal of Pharmacology**, v. 348, p. 257-263, 1998.

DUSSE, L. M. S. A.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicinal Laboratorial**, v. 99, p. 343-350, 2003.

EBERHART, C. E.; DUBOIS, R. N. Eicosanoids and the gastrointestinal tract. **Gastroenterology**, v. 109, p. 285-301, 1995.

EL-ZIMAITY, H. M. T. Recent advances in the histopathology of gastritis. **Current Diagnostic Pathology**, v. 13, p. 340-348, 2007.

ELISABETSKY, E. Sociopolitical, economical and ethical issues in medicinal plant research. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 32, p. 235-239, 1991.

**eMedicine Images.** Disponível em : <  
<http://www.emedicine.com/med/images/28712871ULCER3.JPG>>, Acesso em:  
Fevereiro 2008.

FALCÃO, H. S.; MARIATH, I. R.; DINIZ, M. F. F. M.; BATISTA, L. M.; BARBOSA-FILHO, J. M. Plants of the American continent with antiulcer activity. **Phytomedicine**, v. 15, p. 132-146, 2008.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Ver Ass Med Brasil**, v. 43, p. 61-68, 1997.

FILARETOVA, L. The hypothalamic-pituitary-adrenocortical system: Hormonal brain-gut interaction and gastroprotection. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 125, p. 86-93, 2006.

FORMICA, J. V.; REGELSON, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. **Fd Chem. Toxic.**, v. 33, p. 1061-1080, 1995.

FORTE, J. G.; YAO, X. The membrane-recruitment-and-recycling hypothesis of gastric HCl secretion. **Cell Biology**, v. 6, p. 45-48, 1996.

FLEMSTRÖM, G.; ISENBERG, J. I. Gastroduodenal mucosal alkaline secretion and mucosal protection. **News Physiological Science**, v. 16, p.23-28, 2001.

FRYXELL, P.A. **Brittonia**, v. 25, n. 2, p. 77-78, 1973.

GATÉ, L.; PAUL, J.; BA, G. N.; TEW, K. D. TAPIERO, H. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 53, p.169-180, 1999.

GENUTH, S. M. O sistema endócrino. Em: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. 5ª ed. Editora Elsevier, 2004, p. 765-790.

GLAVIN, G.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanism of pathogenesis and new therapeutic strategies. **FASEB Journal**, v. 6, p. 825-831, 1992.

GUDIS, K.; SAKAMOTO, C. The role of cyclooxygenase in gastric mucosal protection. **Digestive diseases and sciences**, v. 50, p. S16-S23, 2005.

GÜRBÜZ, I.; ÖZKAN, A. M.; YESILADA, E.; KUTSAL, O. Anti-ulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of Pinarbasi (Kayseri, Turkey). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 313-318, 2005.

GÜRBÜZ, I.; ÜSTÜN, O.; YESILADA, E.; SEZİK, E.; KUTSAL, O. Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 88, p. 93-97, 2003.

HAMAGUCHI, M.; WATANABE, T.; HIGUCHI, K.; TOMINAGA, K.; FUJIWARA, Y.; ARAKAWA, T. Mechanisms and roles of neutrophil infiltration in stress-induced gastric injury in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 46, n. 12, p. 2708-2715, 2001.

HARBONE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, p. 481-504, 2000.

HÄSSIG, A.; LIANG, W. X.; SCHWABI, H.; STAMPFLI, K. Flavonoids and tannins : plant-based antioxidants with vitamin character. **Medical Hypotheses**, v. 52, p. 479-481, 1999.

HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 96, p. 67-202, 2002.

HAWKIS, C.; HANKS, G. W. The gastroduodenal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs: a review of the literature. **J. Pain Symptom Manage**, v. 20, p. 140-151, 2000.

HEIJNEN, C. G. M.; HAENEN, G. R. M. M.; VEKEMANS, J. A. J. M.; BAST, A. Peroxynitrite scavenging of flavonoids: structure activity relationship. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 10, p. 199-206, 2001.

HERSEY, S. J.; SACHS, G. Gastric acid secretion. **Physiology Review**, v. 75, p. 155-189, 1995.

HILL, M. The microbiology of *Helicobacter pylori*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 51, p. 161-1643, 1997.

HIRUMA-LIMA, C.A.; SANTOS, L. C.; KUSHIMA, H.; PELLIZZON, C.H.; SILVEIRA, G.G.; VASCONSELOS, P. C.P.; VILEGAS, W.; SOUZA-BRITO, A.R.M. *Qualea grandiflora*, a Brazilian "Cerrado" medicinal plant presents an important antiulcer activity. **Journal Ethnopharmacology**, v. 104, p. 207-214, 2006 (a).

HIRUMA-LIMA, C. A.; CALVO, T. R.; RODRIGUES, C. M.; ANDRADE, F. D. P.; VILEGAS, W.; BRITO, A.R.M.S. Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneaefolia*: Effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, p. 215-224, 2006b.

HOLZER, P. Local microcirculatory reflexes and afferent signalling in response to gastric acid challenge. **Gut**, v. 47, (Suppl IV), p. iv 46-iv48, 2000 a.

HOLZER, P. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**, v.16, p. 469-478, 2000b.

HOLZER, P. Gastroduodenal mucosal defense: coordination by a network of messengers and mediators. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 17, p. 489-496, 2001.

HOOGERWERF, W. A.; PASCHIDA, P. J. Agentes usados para o controle da acidez gástrica e no tratamento de úlceras pépticas e da doença do refluxo gastroesofágico. Em: Goodman & Gilman. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10 ed. New York:Mc Graw Hill, 2005, p. 757-768.

HOU, W.; SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 22, p.593-598, 2006.

JAINU, M; DEVI, C.S.S. Gastroprotective action of *Cissus quadrangularis* extract against NSAID induced gastric ulcer: Role of proinflammatory cytokines and oxidative damage. **Chemical-Biological Interactions**, v. 161, p. 262-270, 2006.

JOLY, A. B. Família *Malvaceae*. Em: BOTÂNICA – introdução à taxonomia vegetal, 13<sup>a</sup> ed.; Companhia Editora Nacional, 2002, p. 458-461.

JORGE, A. P. **Efeito insulino-mimético do canferol 3,7-O-( $\alpha$ )-L-diraminosídeo na glicemia e na captação da 2-[ $^{14}$ C (U)]-deoxi-D-glicose em músculo sóleo de ratos**. Dissertação de Metrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2003.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. O tubo digestivo. Em: **Histologia Básica**. 9<sup>a</sup> Ed. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 1999. p.244-269.

KAHRAMAN, A.; ERKASAP, N.; KÖKEN, T.; SERTESER, M.; AKTEPE, F.; ERKASAP, S. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. **Toxicology**, v. 183, ,p. 133-142, 2003.

KATO, S.; KITAMURA, M.; KOROLKIEWICZ, R. P.; TAKEUCHI, K. Role of nitric oxide in regulation of gastric acid secretion in rats: effects of NO donors and NO synthase inhibitor. **British Journal of Pharmacology**, v. 123, p. 839-846, 1998.

KAWANO, S.; TSUJI, S. Gastric mucosal protection and cell proliferation. Role of mucosal blood flow: a conceptional review in gastric mucosal injury and protection. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 15, p.D1-D6, 2000.

KAY, H.; GRINDLE, K. M.; MAGNESS, .R. R. Ethanol exposure induces oxidative stress and impairs nitric oxidative availability in the human placental villi: A possible mechanism of toxicity. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 182, p. 682-688, 2000.

KINGHORN, A. D.; BALANDRIN, M. Human medicinal agents from plants. Washington: American Chemical Society, p. 356, 1996.

KINGHORN, A. D.; SEO, E. K. Plants as sources of drugs. In: Fuller, G.; Mckeon, T. A.; Bills, D. D. **Agricultural materials as renewable resources: Nonfood and industrial applications**. Washington: American Chemical Society, p. 179-193, 1993.

KONTUREK, S. J.; BRZOZOWSKI, T.; PIASTUCKI, I.; RADECKI, T.; DUPUY, D.; SZABO, S. Gastric mucosal protection by agents altering gastric mucosal sulfhydryls. **Digestion**, v. 37, p. 65-71, 1987.

KONTUREK, S. J.; KONTUREK, P. C.; BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, J. W.; PAWLIK, W. W. From nerves and hormones to bacteria in the stomach; nobel prize for achievements in gastrology during last century. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56, n. 4, p. 507-530, 2005.

KONTUREK, P. C.; KONTUREK, S. J.; OCHMARÍSKI, W. Neuroendocrinology of gastric H<sup>+</sup> and duodenal HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion: the role of brain – gut axis. **European Journal of Pharmacology**, v. 499, p. 15-27, 2004.

KRÖNCKE, K. D.; FEHSEL, K.; KOLB-BACHOFEN, V. Nitric oxide: Cytotoxicity versus cytoprotection – How, Why, When, and Where ? **Nitric oxide: Biology and chemistry**, v. 1, p. 107-120, 1997.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Tecido de renovação e reparações: Regeneração, Cicatrização e Fibrose. Em: **Robbins & Cotran – Patologia**. 7<sup>a</sup> ed. Elsevier Ltda. Rio de Janeiro, 2005. p. 99.

KURINETS, A.; LICHTENBERGER, L. M. Phosphatidylcholine – Associated aspirin accelerates healing of gastric ulcers in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 43, n. 4, p.786-790, 1998.

KUSHIMA, H.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SANTOS, M. A.; VIANA, E.; COELHO-FERREIRA, M.; SOUZA-BRITO, A. R.M. Gastroprotective activity of *Pradosia huberi* on experimentally induced gastric lesions in rodents: role of endogenous sulphhydryls and nitric oxide. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, p. 61-67, 2005.

KUTCHAI, H.C. Secreções Gastrointestinais. Em: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. 5<sup>a</sup> ed., 2004, p. 601-632 (a).

KUTCHAI, H.C. Regulação gastrointestinal e Motilidade. Em: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. 5<sup>a</sup> ed., 2004, p. 573-600 (b).

KVIETYS, P. R.; TWOHIG, B.; DANZELL, J.; SPECIAN, R. D. Ethanol-induced injury to the rat gastric mucosa. **Gastroenterology**, v. 98, p. 909-920, 1990.

KWIECIEN, S.; BRZOZOESKI, T.; KONTUREK, S. J. Effects of reactive oxygen species action on gastric mucosa in various models of mucosal injury. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.53, p.393-50, 2002.

LADEIRA, M. S. P.; SALVADOR, D. M. F.; RODRIGUES, M. A. M. Biopatologia do *Helicobacter pylori*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, p. 335-342, 2003.

LEVINE, R. J. A method for rapid production of stress ulcers in rats. In: C. J. PFEIFFER. **Peptic Ulcer**. Munksgaard, Copenhagen. 1997, p. 92-97.

LICHTENBERGER, L. M. Where is the evidence that cyclooxygenase inhibition is the primary cause of nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced gastrointestinal injury ? Topical injury revised. **Biochemical Pharmacology**, v. 61, p. 631-637, 2001.

LICHTENBERGER, L. M.; WANG, Z.; ROMERO, J. J.; ULLOA, C.; PEREZ, J. C.; GIRAUD, M.N.; BARRETO, J. C. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) associate with zwitterionic phospholipids: Insight into the mechanism and reversal of NSAID-induced gastrointestinal injury. **Nature Medicine**, v. 1, p. 154-158, 1995.

LIEBER, C. S. Gastric ethanol metabolism and gastritis: Interactions with other drugs, *Helicobacter pylori*, and antibiotic therapy (1957-1997) – a Review. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research**, v. 21, p. 1360-1366, 1997.

LINDSTRÖM, E.; CHEN, D.; NORLÉN, P.; ANDERSSON, K.; HAKANSON, R. Control of gastric acid secretion: the gastrin-ECL-cell-parietal cell axis. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 128, p. 505-514, 2001.

LINO VON POSER, G.; MENTZ, L. A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC. 2004. p. 75-89.

LIO, E. S.; WONG, B. C.; CHO, C.H. Gastritis, gastric ulcer, gastric metaplasia: clinical and experimental studies. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 16, p. 740-746, 2001.

LIU, C.; CRAWFORD, J. M. O trato gastrointestinal. Em: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7ª ed. Elsevier Editora, 2005, p.837-918.

LODISH, H; BERK, A; MATSUDAIRA, P; KAISER, C. A.; KRIEGER, M; SCOTT, M. P.; ZIPURSKY, L; DARNELL, J. Signaling at the Cell Surface : Second Messengers in Signaling Pathways. Em: **Molecular Cell Biology**, 5ª ed., 2003, p. 533-570.

MARTENS, S.; MITHÖFER, A. Flavones and flavone synthases. **Phytochemistry**, v. 66, p. 2399-2407, 2005



MAITY, P.; BISWAS, K.; ROY, S.; BANERJEE, R. K.; BANDYOPADHYAY, U. Smoking and the pathogenesis of gastroduodenal ulcer-recent mechanistic update. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.253, p.329-338, 2003.

MAJUMDAR, D.; BEBB, J.; ATHERTON, J. *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcers. **Medicine**, 35, 204-209, 2007.

**Manuka Honey USA.** Disponível em <<http://www.manukahoneyusa.com/images/esophagitis.jpg>>, Acesso em: Fevereiro de 2008.

MARTÍN, M. J.; JIMÉNEZ, M. D.; MOTILVA, V. New issues about nitric oxide and its effects on the gastrointestinal tract. **Current Pharmaceutical Design**, v. 7, p. 881-908, 2001.

MATSUDA, H.; LI, Y.; YOSHIKAWA, M. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulfhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by mormodin Ic, an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. **Life Sciences**, v. 65, n. 2, p.27-32, 1999.

MATSUDA, H.; NINOMIYA, K.; SHIMODA, H.; YOSHIKAWA, M. Hepatoprotective principles from the flowers of *Tilia argentea* (Linden): Structure requirements of tiliroside and mechanisms of action. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 707-712, 2002.

MONCADA, S.; HIGGS, A.; FURCHGOTT, R. XIV. International Union of Pharmacology Nomenclature in Nitric Oxide Research. **Pharmacological Reviews**, v. 49, p. 137-142, 1997.

MORIMOTO, Y.; SHIMOHARA, K.; OSHIMA, S.; SUKAMOTO, T. Effects of the new antiulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. **JPN Journal Pharmacology**, v. 57, p. 495-505, 1991.

MÖSSNER, J.; CACA, K. Developments in the inhibition of gastric acid secretion. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 35, p. 469-475, 2005.

MURAD, F. Cellular signaling with nitric oxide and cyclic GMP. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, p. 1317-1327, 1999.

NAITO, Y.; YOSHIKAWA, T. Molecular and cellular mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation and oxidative stress. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 33, p. 323-336, 2002.

NISHIO, H.; TERASHIMA, S.; NAKASHIMA, M.; AIHARA, E.; TAKEUCHI, K. Involvement of prostaglandin E receptor EP<sub>3</sub> subtype and prostacyclin IP receptor in decreased acid response in damaged stomach. **Journal of Physiological and Pharmacological**, v. 58, p. 407-421, 2007.

OATES, P. J.; HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v. 94, p. 10-21, 1988.

OKADA, A.; KINOSHITA, Y.; WAKI, S.; FUKUI, H.; MAEKAWA, T.; MATSUSHIMA, Y.; KAWANAMI, C.; KISHI, K.; NAKATA, H.; WANG, H.; HASSAN, S.; CHIBA, T. Rat gastric mucosal cells express ICAM-1 and proinflammatory cytokines during indomethacin-induced mucosal injury. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 131, p. 538-547, 1998.

O'MALLEY, P. Gastric ulcers and GERD: the new "plagues" of the 21st century update for the clinical nurse specialist. **Clinical Nurse Specialist**, v. 17, p. 286-289, 2003.

PARFITT, J. R.; DRIMAN, D. K. Pathological effects of drugs on the gastrointestinal tract: a review. **Human Pathology**, v. 38, p. 527-536, 2007.

PESKAR, B. M. Role of cyclooxygenase isoforms in gastric mucosal defense and ulcer healing. **Inflammopharmacology**, v. 13, p. 15-26, 2005.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, (Supl. 1), p. 45-61, 2002.

POTTER, H. **Overview Of Digestive System**. Disponível em: <[http://faculty.ucc.edu/biology-potter/overview\\_of\\_digestive\\_system.htm](http://faculty.ucc.edu/biology-potter/overview_of_digestive_system.htm)>, Acesso em: Fevereiro de 2008.

PRADOS, C. M. A.; MIQUEL, D. B. Úlcera péptica. **Revista Española de Enfermedades Digestivas**, v. 96, p.81-92, 2004.

PRINZ, C.; ZANNER, R.; GRATZL, M. Physiology of gastric enterochromaffin-like cells. **Annual Review Physiology**, v. 65, p. 371-382, 2003.

PRUETT, S. B. Stress and the immune system. **Pathophysiology**, v. 9, p.133-153, 2003.

PUSCAS, I.; PUSCAS, C.; COLTAU, M.; PASÇA, R.; TORRES, J.; MÁRQUEZ, M.; HERRERO, E.; FILLAT, O.; ORTIZ, J. A. Comparative study of the safety and efficacy of ebrotidine versus ranitidine and placebo in the prevention of piroxicam-induced gastroduodenal lesions. **Arzneimittelforschung**, v. 47, p. 568-572, 1997.

RADOSZ-KOMONIEWSKA, H.; BEK, T.; JÓZWIAK, J.; MARTIROSIAN, G. Pathogenicity of *Helicobacter pylori* infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 11, p. 602-610, 2005.

RAFFATULLAH, S.; TARIQ, M.; AL-YAHYA, M. A.; MOSSA, J. S.; AGEEL, A. M. Evaluation of turmeric (*Curcuma longa*) for gastric and duodenal antiulcer activity in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 29, p 25-34, 1990.

RAMAKRISHNAN; K.; SALINAS, R. C. Peptic Ulcer Disease. **American Family Physician**, v. 76, p. 1005-1012, 2007.

RAINSFORD, K. D. The ever-emerging anti-inflammatories. Have there been any real advances ? **Journal of Physiology – Paris**, v. 95, p.11-19, 2001.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. O trato gastrointestinal. Em: **Farmacologia**, 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, p. 385-396.

RASTOGI, L.; PATNAIK, G. K.; DIKHIT, M. Free radicals and antioxidant status following pylorus ligation inducedgastric mucosal injury in rats. **Pharmacological Research**, v. 38, n. 2, p.125-132, 1998.

RATES, S. M. K. Plants as source drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.

REPETTO, M. G.; LLESUY, S. F. Antioxidant proprieties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 523-534, 2002.

ROBBINS; COTRAN. Estudos de Casos Interativos. Em: **Bases Patológicas das Doenças - CD interativo**. Elsevier Editora Ltda. 7ª ed., 2005.

ROVER-JÚNIOR, HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólito da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, p. 112-119, 2001.

RUJJANAWATE, C.; KANJANAPOTHI, D.; AMORNLERDPISON, D.; POJANAGAROON, S. Anti-gastric ulcer effect of *Kaempferia parviflora*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 120-122, 2005.

SACHS, G.; ZENG, N.; PRINZ, C. Physiology of isolated gastric endocrine cells. **Annual Review Physiology**, v. 59, p. 243-256, 1997.

SAIJA, A.; SCALESE, M.; LANZA, M.; MARZULLO, D.; BONINA, F.; CASTELLI, F. Flavonoids as antioxidant agents: importance of their interaction with biomembranes. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 19, p. 481-486, 1995.

SALA, A.; RECIO, M. C.; SCHINELLA, G. R.; MANEZ, S.; GINER, R. M.; CERDÁ-NICOLÁS, M.; RÍOS, J. L. Assesment of the radical scavenger activity of tiliroside. **European Journal of Pharmacology**, v. 461, p. 53-61, 2003.

SALASPURO, M. P. Alcohol consumption and cancer of the gastrointestinal tract. **Best Practice & Research**, v. 17, p. 679-694, 2003.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. Em: Farmacognosia: da planta ao medicamento. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC. p. 404-434, 2004.

SCHMASSMANN, A. Mechanisms of ulcer healing and effects of nosteroidal anti-inflammatory drugs. **The American Journal of Medicine**, v. 104, p. 43S-51S, 1998.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; YESILADA, E. Traditional medicine and gastroprotective crude drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 61-66, 2005.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 19, p.519-525. 2003.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 21, p.636-643. 2005.

SHAY, H.; KOMAROV, S.A.; FELS, S. S.; MERANZE, D.; GRUENSTEIN, M.; SIPLET, H. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterol*, v. 5, p. 43-61, 1945.

SHIN, V. Y.; LIU, E. S. L.; KOO, M. W. L.; WANG, J. Y.; MATSUI, H.; CHO, C. H. Cigarette smoke extracts delay wound healing in the stomach: involvement of polyamine synthesis. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, p. 114-124, 2002.

SIEGMUND, S.; HAAS, S.; SCHNEIDER, A.; SINGER, M. V. Animal models in gastrointestinal alcohol research - a short appraisal of the different models and their results. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**, v.17, n. 4, p. 519-542, 2003.

SIKIRIC, P.; SEIWERTH, S.; GRABAREVIC, Z.; et al., The influence of a novel pentadecapeptide, BPC 157, on NG-nitro-L-arginine methylester and L-arginine effect on stomach mucosa integrity and blood pressure. **Eur J Pharmacol**, v. 332, p. 23-33, 1997.

SILVA, D. A.; CHAVES, M. C. O.; COSTA, D. A.; MORAIS, M. R. R.; NÓBREGA, F. B. P.; SOUZA, M. F. V. [Flavonoids from \*Herissantia tiubae\*](#). **Pharmaceutical Biology**, v. 43, p. 197-200, 2005.

SILVA, R. R.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J.; LEÃO, M. A. Efeito de flavonóides no metabolismo do ácido araquidônico. **Medicina**, v. 35, p. 127-133, 2002.

SILVERTHORN, D. U. Digestão. Em: **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 2ª ed., Editora Manole, 2003 a, p. 602-637.

SILVERTHORN, D. U. Comunicação, Integração e Homeostase. Em: **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 2ª ed., Editora Manole, 2003 b, p. 154-179.

SMITH, K. F.; SKELTON, H. Arachidonic acid-derived bioactive lipids: their role and the role for their inhibitors in dermatology. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 6, p. 241-256, 2002.

SOUZA BRITO, A. R. M. **Manual de Ensaio Toxicológicos *in vivo***. Campinas – SP: Editora UNICAMP, 1994. p. 122.

SOUZA BRITO, A. R. M. How to study the pharmacology of medicinal plants in underdeveloped countries. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 54, p. 131-138, 1996.

STENSON, W. F. Prostaglandins and epithelial response to injury. **Current Opinion Gastroenterology**, v. 23, p. 107-110, 2007.

SUGIMOTO, Y.; NARUMIYA, S. Prostaglandin E receptors. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 6, p. 11613-11617, 2007.

SZABO, S.; TRIER, J. S.; FRANKEL, P. W. Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. **Science**, v. 214, p.200-202, 1981.

SZABO, S.; TRIER, J. S.; BROWN, A.; SCHNOOR, J. Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. **Gastroenterology**, v. 88, p. 228-236, 1985.

SZABO, S.; VINCZE, A. Growth factors in ulcer healing: Lessons from recent studies. **Journal of Physiology - Paris**, v. 94, p. 77-81, 2000.

SZELENYI, I.; THIEMER, K. Distention ulcer as a model for testing of drugs for ulcerogenic side effects. **Arch. Toxicol.**, v. 41, p. 99-105, 1978.

SZELENYI, I.; BRUNE, K. Possible role of oxygen free radicals in ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 33, p. 865-871, 1988.

TACHÉ, Y.; MARTINEZ, V.; MILLION, M.; WANG, L. Stress and the gastrointestinal tract III. Stress-related alterations of gut motor function: role of brain corticotrophin-releasing factor receptors. **Am J Physiol Gastroint Liver Physiol**, v. 280, p. G173-G177, 2001.

TAKEUCHI, K.; AIHARA, E.; SASAKI, Y.; NOMURA, Y.; ISE, F. Involvement of cyclooxygenase-1, prostaglandin E<sub>2</sub> and EP<sub>1</sub> receptors in acid-induced HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion in stomach. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 57, n. 4, p. 661-676, 2006.

TAKEUCHI, K.; YAJI, K.; KATO, S.; UKAWA, H. Roles of prostaglandin E-receptor subtypes in gastric and duodenal bicarbonate secretion in rats. **Gastroenterology**, v. 113, p. 1553-1559, 1997.

TANI, S.; SUZUKI, T.; KANO, S.; TANAKA, T.; SUNAGA, K.; MORISHIGE, R.; TSUDA, T. Mechanisms of gastric mucus secretion from cultured rat gastric epithelial cells induced by carbachol, cholecystokinin octapeptide, secretin, and prostaglandin E<sub>2</sub>. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 25, p.14-18, 2002.

TARNAWSKI, A. S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 50, p. S-24-S33, 2005.

TAYLOR, J.L.S.; RABE, T.; MCGAW, L. J.; JÄGER, A. K.; VAN STADEN, J. Towards the scientific validation of traditional medicinal plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 23-37, 2001.

TEYSSEN, S.; SINGER, M. V. Alcohol-related diseases of the oesophagus and stomach. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 4, p. 557-573, 2003.

TRUEBA, G. P. Los flavonóides: antioxidantes o prooxidantes. **Revista Cubana Investigaciones Biomédicas**, v.22, n.1, p.48-57, 2003.

URUSHIDANI, T.; FORTE, J. G. Signal transduction and activation of acid secretion in the parietal cell. **The Journal of Membrane Biology**, v. 159, p. 99-111, 1997.

VÄKEVÄINEN, S.; TILLONEN, J.; SALASPURO, M.; JOUSIMIES-SOMER, H.; NUUTINEN, H.; FÄRKKILÄ, M. Hypochlorhydria induced by a proton pump inhibitor leads to intragastric microbial production of acetaldehyde from ethanol. **Alimentary Pharmacological Therapeutics**, v. 14, p. 1511-1518, 2000.

VEIGA-JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura ? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

WALLACE, J. L. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. **Best Practice & Research**, v. 15, n.5, p. 691-703, 2001.

WALLACE, J. L.; GRANGER, D. N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. **Faseb Journal**, v. 10, p. 731-740, 1996.

WALLACE, J. L.; MA, L. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. **Experimental Biology Medicine**, v.226, p. 1003-1015, 2001.

WALLACE, J. L.; McKNIGHT, W.; REUTER, B. K.; VERGNOLLE, N. NSAID-Induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. **Gastroenterology**, v. 119, , p. 706-714, 2000.

WALLACE, J. L.; MILLER, M. J. S. Nitric oxide in Mucosal Dense: A little goes a long way. **Gastroenterology**, v. 119, p. 512-520, 2000.

WATANABE, K.; MURAKAMI, K.; SATO, R.; KASHIMURA, K.; MIURA, M.; OOTSU, S.; MIYAJIMA, H.; NASU, M.; OKIMOTO, T.; KODAMA, M.; FUJIOKA, T. Effect of sucralfate on antibiotic therapy for *Helicobacter pylori* infection in mice. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 12,p.4582-4588, 2004.

WOLFE; M. M.; SANCHS, G. Acid suppression: optimizing therapy for gastroduodenal ulcer healing, gastriesophageal reflux disease, and stress-related erosive syndrome. **Gastroenterology**, v. 116, p. S9-S31, 2000.

WRIGHT, K.L.; WARD, S. G. Interactions between phosphatidylinositol 3-kinase and nitric oxide: explaining the paradox. **Molecular Cell Biology Research Communications**, v. 4, p. 137-143, 2000.

ZHAO, J.; DAVIS, L. C.; VERPOORTE, R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v. 23, p. 283–333, 2005.

ZUANAZZI, J. A.S.;MONTANHA, J. A. Flavonóides. Em: Farmacognosia: da planta ao medicamento. SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 5<sup>a</sup> ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC. p. 577-614, 2004.

YAO, X.; FORTE, J. G. Cell biology of acid secretion by the parietal cell. **Annual Review Physiology**, v. 65, p. 103-131, 2003.

YUAN, Y.; PADOL, I. T.; HUNT, R. H. Peptic ulcer disease today. **Gastroenterology & Hepatology**, v. 3, p. 80-89, 2006.



YUE-ZHONG, S. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **Journal of Natural Products**, v. 61, p. 1053-1071, 1998.

**ANEXO**

## Protocolo experimental para triagem comportamental

Planta Utilizada:					
Doses:					
Data:					
Via de Administração:					
Animais:					
Responsável Técnico:					
Grupos:					
	Quantificação dos efeitos (0) sem efeito, (-) efeito diminuído, (+) efeito presente, (++) efeito intenso				
Atividade Farmacológica	Até 30'	1h	2h	3h	4h
<b>1 – SNC</b>					
<b>a- Estimulante</b>					
Hiperatividade					
Irritabilidade					
Agressividade					
Tremores					
Convulsões					
Piloereção					
Movimento intenso das vibrissas					
Outras					
<b>B – Depressora</b>					
Hipnose					
Ptose					
Sedação					
Anestesia					
Ataxia					
Reflexo do endireitamento					
Catatonía					
Analgesia					
Resposta ao toque diminuído					
Perda do reflexo corneal					
Perda do reflexo auricular					
<b>c- Outros comportamentos</b>					
Ambulação					
Bocejo excessivo					
Grooming					
Rearing					
Escalar					
Vocalizar					
Sacudir a cabeça					
Contorções abdominais					
Abdução das patas do trem posterior					
Pedalar					
Estereotipia					
<b>2 – SN AUTÔNOMO</b>					
Diarréia					
Constipação					
Defecação aumentada					
Respiração forçada					
Lacrimejamento					
Micção					
Salivação					
Cianose					
Tono muscular					
Força para agarrar					
<b>3 – MORTE</b>					

Fonte: ALMEIDA et al., 1999.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)