



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**CAMPUS DE SOBRAL**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

**ÂNGELA MAGALHÃES VIEIRA**

**EFICÁCIA DO EXTRATO AQUOSO DE *Maytenus rigida* Mart.  
(CELASTRACEAE) NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM  
CAMUNDONGOS: ANÁLISE DO ENVOLVIMENTO DE ÓXIDO NÍTRICO,  
PROSTAGLANDINAS, RECEPTORES OPIOIDES E  $\alpha$ -2-ADRENÉRGICOS.**

**SOBRAL**

**2013**

ÂNGELA MAGALHÃES VIEIRA

EFICÁCIA DO EXTRATO AQUOSO DE *Maytenus rigida* Mart. (CELASTRACEAE)  
NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS:  
ANÁLISE DO ENVOLVIMENTO DE ÓXIDO NÍTRICO, PROSTAGLANDINAS,  
RECEPTORES OPIOIDES E  $\alpha$ -2-ADRENÉRGICOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará - *Campus* de Sobral, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mirna Marques Bezerra

Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Alfredo Rodrigues e Silva

SOBRAL

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Federal do Ceará

Biblioteca do Curso de Medicina de Sobral

---

V713e Vieira, Ângela Magalhães.

Eficácia do extrato aquoso de *Maytenus rigida* Mart. ( Celastraceae) na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos: análise do envolvimento de óxido nítrico, prostaglandinas, receptores opioides e  $\alpha$ -2-adrenérgicos. / Ângela Magalhães Vieira. – 2013.

79 f. : il. color., enc. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Curso de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Sobral, 2013.

Área de Concentração: Macromoléculas.

Orientação: Prof. Dr<sup>a</sup>. Mirna Marques Bezerra.

Coorientação: Prf. Dr. Antonio Alfredo Rodrigues e Silva.

1. Celastraceae 2. Gastrite 3.. I. Título.

ÂNGELA MAGALHÃES VIEIRA

EFICÁCIA DO EXTRATO AQUOSO DE *Maytenus rigida* Mart. (CELASTRACEAE)  
NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS:  
ANÁLISE DO ENVOLVIMENTO DE ÓXIDO NÍTRICO, PROSTAGLANDINAS,  
RECEPTORES OPIOIDES E  $\alpha$ -2-ADRENÉRGICOS.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará - *Campus* de Sobral, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovada em 28/02/2013.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Mirna Marques Bezerra Brayner (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* Sobral

---

Prof. Dr. Antonio Alfredo Rodrigues e Silva (Co-orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* Sobral

---

Prof. Dr. Vicente de Paulo Teixeira Pinto

Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* Sobral

Aos meus pais Marcolino e Elizabete.

Ao Prof. Alfredo Rodrigues.

Aos meus filhos Ítalo e Pedro.

Ao meu esposo Paulo César.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, o verdadeiro mestre, que têm providenciado a resolução de todos os problemas da minha vida e iluminado meu caminho, fazendo com que nele, apareçam pessoas amigas dispostas a ajudar de todas as maneiras possíveis a minha caminhada.

A minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Mirna Marques Bezerra, por ter acreditado no meu trabalho, dando oportunidade para que ele pudesse ser realizado. Pelo carinho, amizade e compreensão principalmente nas vezes em que fui ausente na realização das minhas atividades laborais do Biotério.

Ao Prof. Alfredo, um grande amigo disfarçado de co-orientador. Pela paciência e dedicação dispensada durante todas as fases de execução deste trabalho, fazendo com que eu tenha certeza que este trabalho é mais dele do que meu. Pelo seu exemplo de que um ambiente de trabalho alegre e descontraído gera bons frutos. E por ter transformado nossos experimentos em uma atividade estimulante, estando sempre presente e com muito bom-humor.

Ao meu chefe Gerardo Cristino por ter permitido a realização deste trabalho de forma simultânea com as minhas atividades como técnica do biotério.

Aos meus pais que muitas vezes abriram mão de conforto para custear os estudos dos filhos. Que a realização deste trabalho seja uma forma de retribuir o esforço. Em especial ao Seu Marcolino, grande consumidor de “Bom-Nome”.

Aos Alunos de Iniciação Científica Lívia Rios e Samuel Mateus e a mestrandia Jordânia Marques pela dedicação na execução dos experimentos.

Ao professor Elnatan Bezerra de Sousa, da Universidade Estadual Vale do Acaraú, pela pronta atenção sempre que necessitado, identificação da espécie, confecção e registro da excicata.

Ao técnico de histologia e amigo Adalberto Júnior, pela confecção das lâminas histológicas, sempre atendendo aos meus pedidos com carinho e atenção.

Aos grandes amigos que fiz dentro e fora da Universidade Gade, Diná, Gerlane e Nikinha, pelos finais de semana dedicados a oferecer um pouco de carinho e

lazer a Pedrinho, nos momentos que eu precisava escrever. A Keila, Quelciane, tia Valda e tio Francisco pelo carinho, amizade, paciência e agradável acolhida.

À Gade, em especial, por ter sido minha mãe, irmã, amiga, tudo, tomou conta dos meus filhos como se fossem seus, até pelos puxões de orelha e risadas.

Ao Seu Robério, um exemplo de profissional, pelo carinho, atenção e boa vontade, pessoa que eu pude contar sem nem ter que pedir, pois muitas vezes antecipou-se em fazer o que eu precisava.

À amiga e secretária da pós-graduação Edilda que ajudou de ambas as formas sempre que foi solicitada, de forma carinhosa e dedicada.

Aos amigos Ricardo, Moemia e Danielle Val que ajudaram na realização de atividades no decorrer das disciplinas.

Ao irmão Araújo, Seu Pimenta, Kate, Annyta e Francisco Gomes por ter realizados no meu lugar atividades ligadas ao biotério.

Aos integrantes do LAFS, Camila, Débora, Jonas, Jonatas, Edeline, Gisele e Ivo pela ajuda nos momentos que foram solicitados.

Aos meus amigos e colegas de trabalho: Carlos (chefe de patrimônio), Aline, Esmael, Ivan, Regina, Auxiliadora, Seu Antônio, Alcione, Fernando, Vagner, Mary, Cris, Sandro, Acácio, Seu Oreste, Monique, Rúlio, Nadja, Fernando, Adriano, Tiago, Neto, Rafaela, Joana, Nonato e Seu Almino. Pelo carinho, atenção e pronta disponibilidade em atender a tudo que eu precisei.

A minha irmã Andreia pelo seu companheirismo e carinho ajudando sempre de todas as formas, inclusive na coleta do material. Quanto à coleta agradeço ainda a colaboração da minha amiga Pacífica, do meu esposo Paulo César, do meu cunhado Adriano Glauber, do meu irmão Junior e do amigo Vadinho.

Em especial ao meu filho Ítalo, pela compreensão e companheirismo, seja nas horas em que o almoço não estava pronto ou até mesmo quando acordou de madrugada para ajudar com Pedrinho me proporcionando algumas horas de sono.

“O saber deve ser como um rio, cujas águas doces, grossas, copiosas, transbordem do indivíduo, e se espraíem, estancando a sede dos outros. Sem um fim social, o saber será a maior das futilidades”. (Gilberto Freire)

## RESUMO

*Maytenus rigida* Mart., (Celastraceae) popularmente conhecida como “bom-homem”, “bom-nome”, “cabelo de negro”, “casca-grossa”, “chapéu de couro” ou “pau-de-colher” é uma espécie nativa do nordeste brasileiro, utilizada na medicina popular no tratamento das doenças inflamatórias, desordens gastrointestinais como diarreia, disenteria e úlceras, problemas renais, hipertensão, impotência sexual e reumatismo. O objetivo deste trabalho foi evidenciar o(s) possível(is) mecanismo(s) de ação subjacentes ao efeito gastroprotetor do extrato aquoso (EA) de *Maytenus rigida* em camundongos suíços, no modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto. Camundongos em jejum receberam EA (100, 200 ou 400 mg/Kg, p.o.) 1 h antes da administração oral de etanol absoluto (0,2ml/animal). Grupos tratados com salina e ranitidina foram utilizados como controles. Os estômagos foram analisados macro e microscopicamente. Adicionalmente, foram utilizadas diferentes ferramentas farmacológicas (naloxona, morfina, misoprostol, indometacina, L-NAME, L-arginina, clonidina ou ioimbina) em diferentes ensaios, para tentar esclarecer o(s) possível(is) mecanismo(s) de ação do EA. O efeito gastroprotetor macro e microscópico do EA foi comparado ao exercido pela ranitidina no modelo etanol-induzido ( $p < 0,05$ ); a utilização de ferramentas farmacológicas revelou que o efeito protetor do EA envolve a ativação de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, receptores opioides, óxido nítrico, mas não depende de prostaglandinas. O EA possui efeito gastroprotetor, corroborando com seu uso tradicional. Seu efeito é multifatorial, envolvendo a participação de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, liberação de óxido nítrico, e ativação de receptores opioides.

**Palavras-chave:** *Maytenus rigida*. Celastraceae. Gastrite. Receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos. Receptores opioides. Óxido nítrico.

## ABSTRACT

*Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae) popularly known as “bom-hOMEM”, “bom-nOME”, “Cabelo de Negro”, “Casca-grossa”, Chapéu de couro” or “pau-de-colher” is a native species in the northeast region of Brazil, used in folk medicine in the treatment of inflammatory diseases, gastrointestinal disorders such diarrhea, dysentery and ulcers, kidney problems, hypertension, impotence and rheumatism. The aim of this work was to demonstrate the possible mechanism (s) of action underlying the gastroprotective effect of aqueous extract (AE) of *Maytenus rigida* in Swiss mice, in the gastric injury model induced by absolute ethanol. Fasted mice received AE (100, 200 or 400 mg/Kg, p.o.) 1h prior to oral administration of absolute ethanol (0,2 mL/animal). Groups treated with saline and ranitidine were used as controls. The stomachs were macroscopically and microscopically examined. Additionally, different pharmacological tools (naloxone, morphine, misoprostol, indomethacin, L-NAME, L-arginine, clonidine or yohimbine) were used in different tests, trying to clarify the possible mechanism (s) of action of AE. The macro and microscopic gastroprotective effect of AE was compared to that showed by ranitidine, on ethanol-induced model ( $p < 0.05$ ); the use of pharmacological tools revealed that the protective effect of AE involves the activation of  $\alpha$ -2-adrenergic receptors, opioid receptor and nitric oxide, but do not depends on prostaglandins. The EA has a gastroprotective effects, supporting its traditional use. Its effect is multifactorial, involving the participation of  $\alpha$ -2-adrenergic receptors, nitric oxide release and activation of opioids receptors.

**Keywords:** *Maytenus rigida*. Celastraceae. Damage gastric.  $\alpha$ -2-adrenergic receptors. Opioids receptors. Nitric oxide.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Regiões anatômicas do estômago humano.....	19
Figura 2 –	Anatomia funcional da mucosa gástrica humana.....	20
Figura 3 –	Camadas teciduais do estômago humano.....	21
Figura 4 –	Anatomia funcional nervosa da mucosa gástrica. ACh – acetilcolina, GRP – peptídeo liberador de gastrina, VIP – peptídeo intestinal vasoativo, PAACP - peptídeo ativador de adenilato-ciclase da pituitária, CGRP – peptídeo relacionado ao gene da calcitonina.....	22
Figura 5 –	Regulação da secreção ácida gástrica. ACh: Acetilcolina; ECL: Células enterocromafins símiles; G: Célula G; D: Célula D; PGE2: prostaglandina E subtipo 2; M3: receptor muscarínico subtipo 3; H2: receptor histaminérgico subtipo 2; CCK2: receptor colecistocinina/gastrina subtipo 2.....	24
Figura 6 –	Representação esquemática dos efeitos do etanol (agudo ou crônico) no estômago. A administração aguda leva ao dano na mucosa, administração crônica causa proliferação celular adicional em modelos animais.....	42
Figura 7 –	Ilustração da árvore de <i>Maytenus rigida</i> (A). Observam-se as colorações cinza do caule e verde-escuro das folhas (B).....	51
Figura 8 –	Efeito do EA na gastropatia induzida por etanol .....	57
Figura 9 –	Fotomicrografias da mucosa gástrica (100x) de camundongos submetidos à indução de úlceras por etanol absoluto .....	58
Figura 10 –	Participação do óxido nítrico na gastroproteção do EA em modelo de gastropatia induzida por etanol.....	60
Figura 11 –	Ausência do envolvimento de prostaglandinas na gastroproteção do EA em modelo de gastroproteção exercida pelo EA em modelo de gastropatia induzida por etanol.....	61
Figura 12 –	Participação dos receptores opioides na gastroproteção exercida pelo EA em modelo de gastropatia induzida por etanol.....	62
Figura 13 –	Participação de receptores $\alpha$ -2-adrenérgicos na gastroproteção exercida pelo EA em modelo de gastropatia induzida por etanol.....	63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	ácido araquidônico
AC	adenilato ciclase
ACh	Acetilcolina
AINES	anti-inflamatórios não esteroidais
AMPc	monofosfato cíclico de adenosina
CCK <sub>2</sub>	receptor de colecistocinina tipo 2
CGRP	peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
COX	Ciclooxigenase
COX-1	ciclooxigenase-1
COX-2	ciclooxigenase-2
DTNB	ácido 5',5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico), conhecido por reagente de Elmann
EA	extrato aquoso de <i>Maytenus rígida</i>
EC	células enterocromafins
ECL	enterocromafin símile
EEOH	extrato etanólico
EGF	fator de crescimento epidérmico
EGF-R	receptor do fator de crescimento epidérmico
EHA	Extrato hidroalcoólico
EP <sub>1</sub> , EP <sub>2</sub> , EP <sub>3</sub> e EP <sub>4</sub>	receptores de prostaglandinas
GC	guanilato ciclase
GMPc	monofosfato cíclico de guanosina
GRP	peptídeo liberador de gastrina
GTP	guanosina trifosfato
H&E	hematoxilina e eosina
H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase	bomba de hidrogênio/potássio
HCl	ácido clorídrico
HDC	histidina descarboxilase
HGF	fator de crescimento do hepatócito
IL-1 $\beta$	interleucina 1 beta
IL-4, IL-6, IL-8, IL-10	interleucinas 4, 6, 8 e 10, respectivamente
IP <sub>3</sub>	trifosfato de inositol

L-Arg	L-arginina
L-NAME	<i>N</i> <sub>ω</sub> -Nitro-L-arginina metil éster (inibidor da NOS)
L-NMMA	<i>N</i> <sup>G</sup> -monometil-L-arginina (inibidor da NOS)
M <sub>2</sub> , M <sub>3</sub> e M <sub>4</sub>	receptores muscarínicos tipos 2, 3 e 4 respectivamente
NANC	neurônios não adrenérgicos não colinérgicos
NO	óxido nítrico
NOS	óxido nítrico sintase
NOSc	óxido nítrico sintase constitutiva
NOSe	óxido nítrico sintase endotelial
NOSi	óxido nítrico sintase induzível
NOSn	óxido nítrico sintase neuronal
PAACP	peptídeo ativador da adenilato ciclase da pituitária
PAF	fator de ativação plaquetária
PGE <sub>2</sub>	prostaglandina E <sub>2</sub>
PGG <sub>2</sub>	prostaglandina G <sub>2</sub>
PGI <sub>2</sub>	Prostaciclina
PGs	Prostaglandinas
PKC	proteína-quinase C
PLA <sub>2</sub>	fosfolipase A <sub>2</sub>
PLC	fosfolipase C
PNA	peptídeo natriurético atrial
RDC	reunião das diretorias colegiadas
SNC	sistema nervoso central
TGF-α	fator de crescimento transformante alfa
TGI	trato gastrointestinal
TNF-α	fator de necrose tumoral alfa
TXA <sub>2</sub>	tromboxano A <sub>2</sub>
VEGF	fator de crescimento do endotélio vascular
VIP	peptídeo intestinal vasoativo

## SUMÁRIO

1 -	INTRODUÇÃO.....	17
2 -	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 -	Anatomia e fisiologia do estômago.....	19
2.1.1 -	<i>Controle neural da secreção gástrica.....</i>	21
2.1.2 -	<i>Secreção ácida gástrica.....</i>	23
2.2 -	Agressão e proteção da mucosa gástrica.....	24
2.2.1 -	<i>Fatores de agressão.....</i>	25
2.2.2 -	<i>Fatores de proteção.....</i>	26
2.3 -	Úlcera gástrica.....	29
2.3.1-	<i>Cicatrização das úlceras gástricas.....</i>	29
2.3.2 -	<i>Tratamento das úlceras gástricas.....</i>	30
2.4 -	Importantes sistemas e vias de regulação endógena da mucosa gástrica.....	31
2.4.1-	<i>Receptores opioides.....</i>	31
2.4.2-	<i>Prostaglandinas.....</i>	32
2.4.3-	<i>Óxido nítrico.....</i>	34
2.4.4-	<i>Receptores <math>\alpha</math>2-adrenérgicos.....</i>	37
2.4.4.1-	<i>Ioimbina.....</i>	39
2.4.4.2-	<i>Clonidina.....</i>	39
2.5 -	Lesão gástrica induzida por etanol.....	40
2.6 -	Plantas medicinais.....	43
2.6.1 -	<i>Breve histórico sobre o uso de plantas medicinais.....</i>	43
2.6.2 -	<i>Uso de plantas medicinais na atualidade.....</i>	44
2.6.3 -	<i>Aspectos legais no uso de produtos derivados de plantas medicinais.....</i>	46
2.6.4 -	<i>Plantas com atividade gastroprotetora.....</i>	47
2.6.4.1-	<i>A família Celastraceae.....</i>	48
2.6.4.2-	<i>Maytenus rigida.....</i>	49
3 -	OBJETIVOS.....	52
4 -	MATERIAIS E MÉTODOS.....	53
4.1 -	Animais.....	53
4.2 -	Material vegetal e preparação do extrato.....	53
4.3 -	Drogas e reagentes.....	53

4.4 -	Úlcera gástrica induzida por etanol.....	54
4.5 -	Análise histopatológica.....	54
4.6 -	Buscando o mecanismo de ação.....	55
4.6.1 -	<i>Papel do óxido nítrico na gastroproteção do EA.....</i>	55
4.6.2 -	<i>Papel das prostaglandinas na gastroproteção do EA.....</i>	55
4.6.3 -	<i>Envolvimento dos receptores opioides na gastroproteção do EA.....</i>	55
4.6.4 -	<i>Envolvimento dos receptores <math>\alpha</math>2-adrenérgicos na gastroproteção do EA</i>	55
4.7 -	Análises estatísticas.....	56
5 -	<b>RESULTADOS.....</b>	57
5.1 -	Efeito protetor do EA na gastropatia induzida por etanol.....	57
5.2 -	Estudo histopatológico.....	58
5.3 -	Papel do óxido nítrico na gastroproteção do EA.....	60
5.4 -	Papel das prostaglandinas na gastroproteção do EA.....	61
5.5 -	Envolvimento dos receptores opioides na gastroproteção do EA.....	62
5.6 -	Envolvimento dos receptores $\alpha$ 2-adrenérgicos na gastroproteção do EA.....	63
6 -	<b>DISCUSSÃO.....</b>	64
7 -	<b>CONCLUSÕES.....</b>	68
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	69

## **1 INTRODUÇÃO**

O uso de plantas como medicamentos para o tratamento das enfermidades que acometem a espécie humana remonta à idade antiga (CALIXTO, 2001). Atualmente, a fitoterapia tem ressurgido como uma alternativa terapêutica acessível aos povos do mundo, e no caso do Brasil é adequada para as necessidades locais de centenas de municípios no atendimento primário à saúde (ELDIN; DUNFORD, 2001). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), devido ao baixo poder aquisitivo ou a falta de acesso a medicamentos modernos, cerca de 60 a 80% da população dos países em desenvolvimento dependem essencialmente das plantas para os cuidados primários com a saúde (AKERELE, 1993).

A importância dos produtos naturais vai além do uso tradicional e da produção de fitoterápicos. Vários medicamentos sintéticos utilizados na terapêutica moderna, que atuam especificamente sobre receptores, enzimas e canais iônicos foram desenvolvidos a partir de plantas superiores, toxinas animais e de microrganismos. Estima-se que 40% dos medicamentos disponíveis na terapêutica atual foram desenvolvidos de fontes naturais: 25% de plantas, 13% de microrganismos e 3% de animais (CALIXTO, 2001).

Nos últimos tempos o avanço tecnológico facilitou o acesso a informações, as mais diversas possíveis, culminando em uma convergência de disciplinas biológicas fundamentadas por novas técnicas de análise e processamento de dados que surgem a cada dia (SILVA, 2000). Esta convergência de conhecimentos, aliada ao desenvolvimento tecnológico, gerando produtos benéficos para a ciência, é o que se entende por biotecnologia.

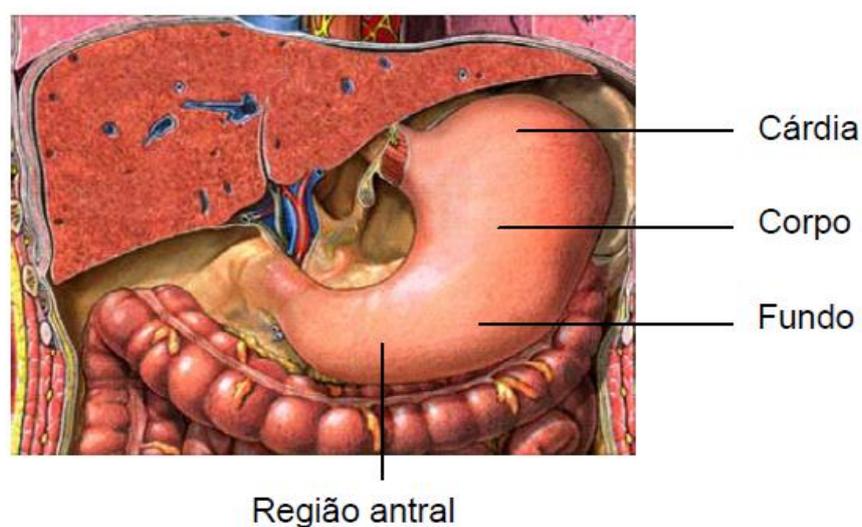
Dentro desse contexto, a pesquisa químico-farmacológica de plantas medicinais emprega técnicas biotecnológicas sofisticadas utilizando processos variados de extração, purificação e quantificação de moléculas, no sentido de criar novas drogas para um mercado consumidor cada vez mais exigente. A junção do conhecimento popular do uso tradicional de plantas como medicamentos e procedimentos experimentais modernos incrementam resultados, reforçam certezas farmacológicas ou as contestam, propondo novas abordagens, com resultados muitas vezes inéditos e inovadores.

Pesquisas atuais têm testado a aplicação terapêutica e toxicidade de diversos produtos derivados de plantas. A utilização de uma flora variada tem sido validada, ainda que em ensaios pré-clínicos, no tratamento de doenças do trato gastrintestinal (BACCHI, 1986; REPETTO; LLESUY, 2002; ABDULLA *et al.*, 2010; AL-ATTAR, 2011). *Maytenus rigida* Mart., uma espécie da família Celastraceae, vem demonstrando diversificadas atividades biológicas. Sua raiz, casca e folhas são largamente utilizadas na medicina popular para tratar inflamação e dor (GONZALEZ *et al.*, 2001; MOTA; ALBUQUERQUE, 2002; FENNER *et al.*, 2006; REYES *et al.*, 2006; SOSA *et al.*, 2007). Apesar da atividade antiulcerogênica gástrica do extrato etanólico (EEOH) obtido da entrecasca do caule ter sido comprovada (SANTOS *et al.*, 2007), nenhuma atividade farmacológica do extrato obtido das folhas foi pesquisada até o momento. Além disso, o mecanismo de ação molecular permanece inconclusivo. Este estudo contribuirá avaliar a atividade gastroprotera do extrato aquoso (EA) obtido a partir das folhas de *M. rigida* e caracterização dos possíveis mecanismos de ação.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Anatomia e fisiologia do estômago

O estômago tem entre suas principais funções, armazenar alimentos, digerir proteínas, absorver ferro e proteínas, além de eliminar microrganismos. Este órgão pode ser dividido em quatro áreas anatômicas: cárdia, corpo, fundo e antro e duas áreas funcionais, compostas pelas glândulas oxínticas e pilóricas (**Figura 1**) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999).

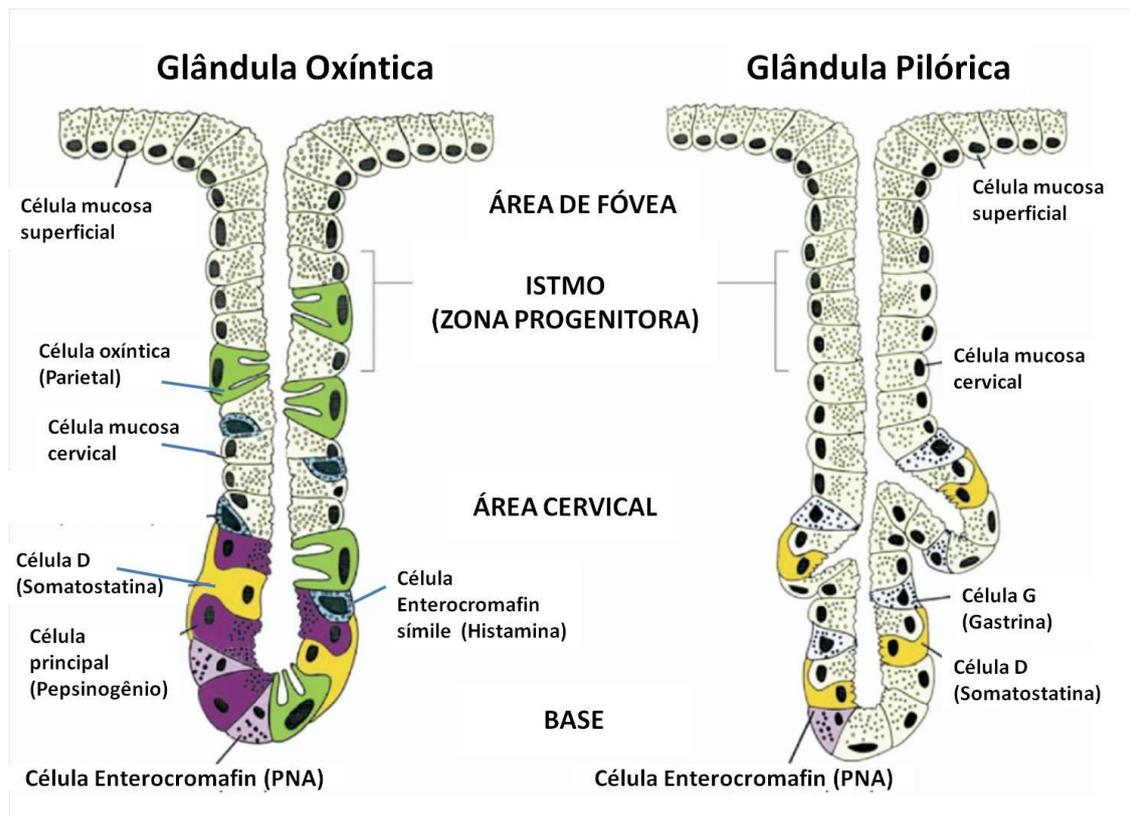


**Figura 1** Regiões anatômicas do estômago humano.

Fonte: POTTER, 2008

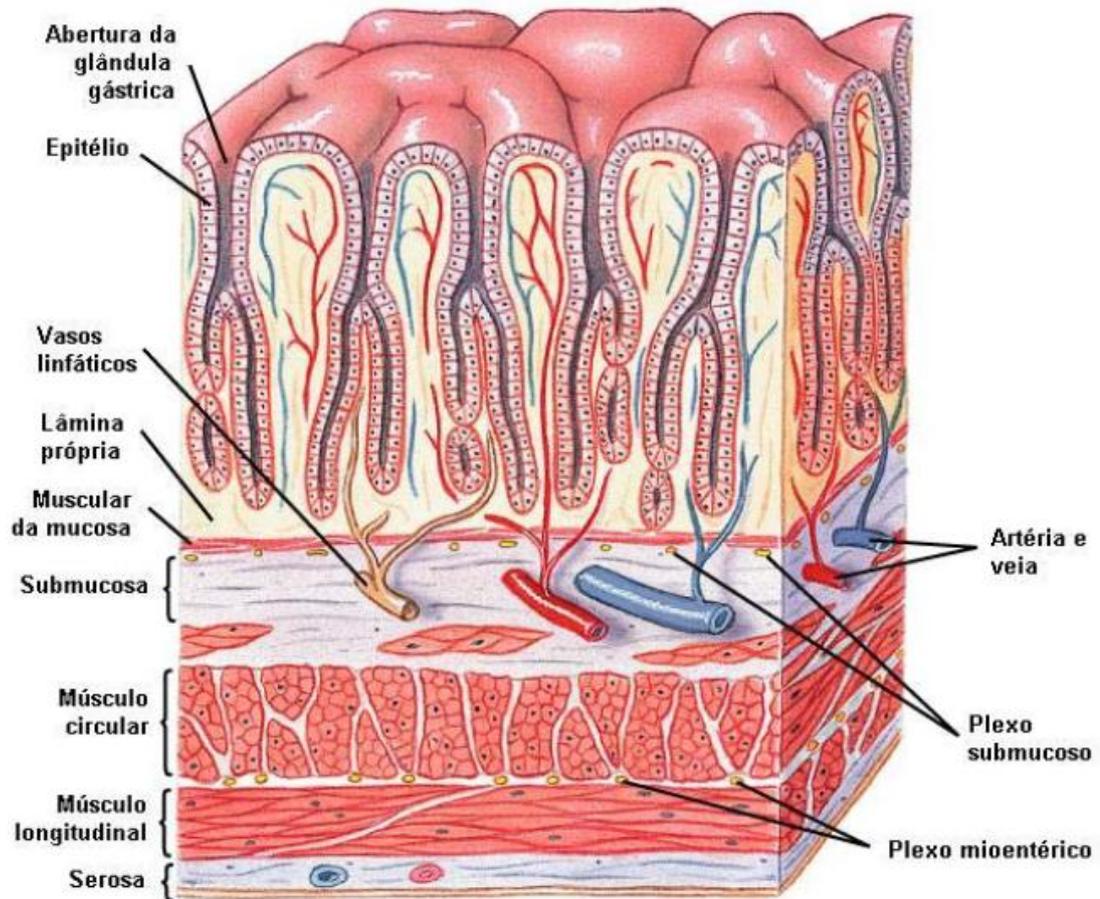
A área glandular oxíntica é composta por células parietais (ou oxínticas) e localiza-se nas regiões de fundo e corpo do estômago (80% do órgão). A área glandular pilórica, localizada na região antral, ocupa os outros 20% do órgão sendo composta principalmente por células G, produtoras de gastrina. Essas áreas glandulares são compostas de unidades tubulares verticais, que consiste em uma fenda na região apical, as foveólas, um istmo (zona progenitora) e uma base. Em se tratando de composição celular as glândulas gástricas apresentam ainda células neuroendócrinas, contendo agentes sinalizadores hormonais e parácrinos que participam do controle da secreção, dentre as principais estão: as células enterocromafins (EC), secretoras do peptídeo natriurético atrial (PNA), serotonina e adrenomedulina; células enterocromafins-símiles – ECL (*enterochromaffin-like*) contêm histamina; células células D que produzem somatostatina e amilina; e células G que contêm grelina e obestatina. Na base de cada

unidade glandular predominam as células principais, secretoras de pepsinogênio em ratos e humanos (**Figura 2**) (SAMUELSON; HINKLE, 2003; SCHUBERT; PEURA 2008).



**Figura 2. Anatomia funcional da mucosa gástrica humana.**  
 Fonte: SCHUBERT; PEURA (2008).

Histologicamente o estômago é composto pelas camadas teciduais: mucosa, submucosa, muscular externa (circular e longitudinal) e serosa (**Figura 3**). A superfície externa do estômago (mucosa) é revestida por células epiteliais prismáticas, as quais formam as fossetas gástricas, originando pequenas glândulas na porção terminal. A camada submucosa é constituída de tecido conjuntivo frouxo com colágeno, fibrilas de elastina, vasos sanguíneos e linfáticos. A camada mais externa, serosa ou adventícia, é constituída principalmente de tecido conjuntivo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1999; KUTCHAI, 2004a; SILVERTHON, 2003; LIU; CRAWFORD, 2005).



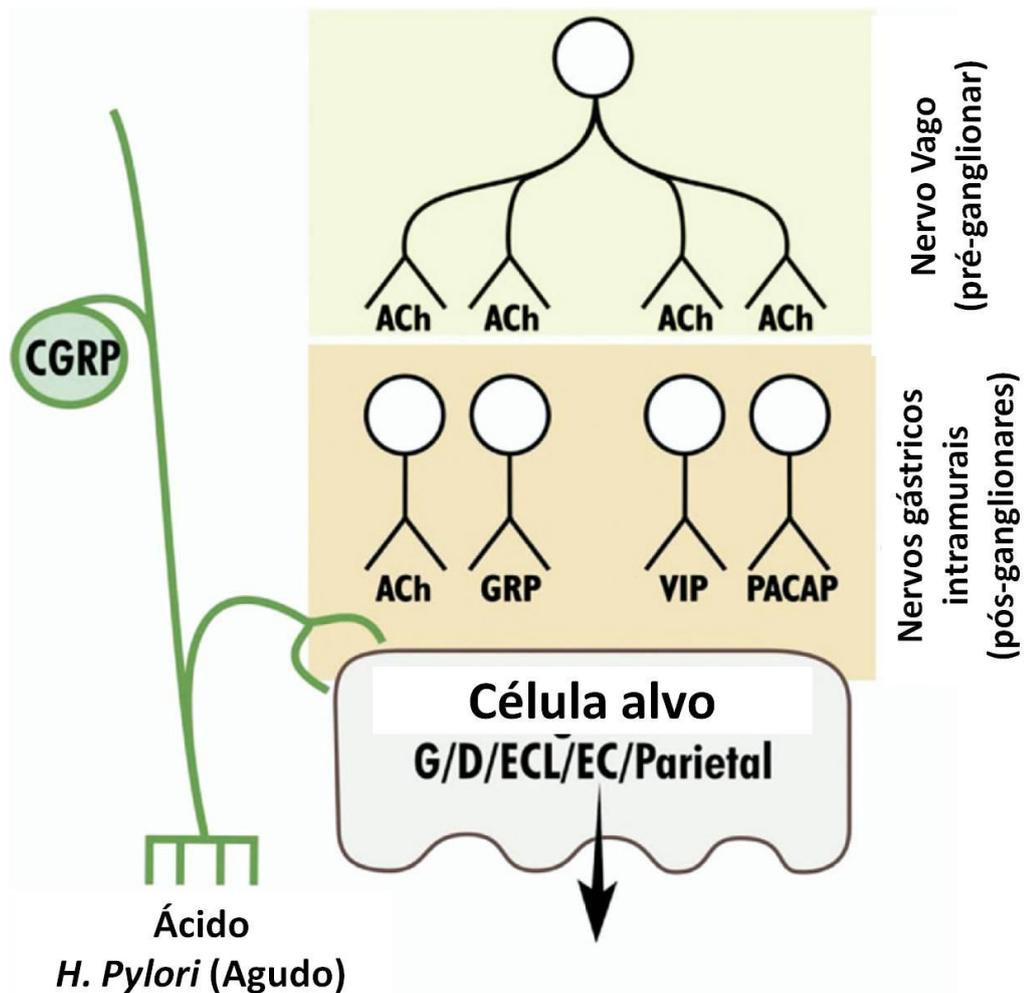
**Figura 3** Camadas teciduais do estômago humano.  
 Fonte: SILVERTHON, 2003.

### ***2.1.1 Controle neural da secreção gástrica***

O controle das ações contrátil e secretora, das camadas musculares lisas e glândulas exócrinas do trato gastrointestinal (TGI) é realizado por inervação intrínseca (sistema nervoso entérico) e extrínseca (sistema nervoso autônomo), hormônios e substâncias parácrinas. A inervação extrínseca simpática origina-se nos gânglios pré-vertebrais e a parassimpática, no núcleo motor dorsal do vago na medula e no núcleo parassimpático vagal da coluna espinhal. Estímulos extrínsecos vagais controlam a secreção do estômago, no entanto o sistema nervoso entérico é capaz de realizar esse controle de modo independente (SCHUBERT; PEURA, 2008; CERSOSIMO; BENARROCH, 2008, KUTCHAI, 2004b).

Neurônios pré-ganglionares parassimpáticos (colinérgicos) exercem efeito excitatório sobre neurônios entéricos, incluindo estômago, através de receptores

nicotínicos e, em algumas regiões, receptores muscarínicos (**Figura 4**). Uma pequena classe de neurônios submucosos colinérgicos se projeta para a mucosa e para os vasos sanguíneos locais. As fibras simpáticas (adrenérgicas) que inervam o estômago têm pelo menos quatro alvos distintos: neurônios secretomotores contendo peptídeo intestinal vasoativo (VIP), terminações nervosas pré-sinápticas colinérgicas, vasos sanguíneos submucosos e esfíncteres (GOYAL; IKUO, 1996; COSTA *et al.*, 2000).



**Figura 4. Anatomia funcional nervosa da mucosa gástrica.** ACh – acetilcolina, GRP – peptídeo liberador de gastrina, VIP – peptídeo intestinal vasoativo, PACAP - peptídeo ativador de adenilato-ciclase da pituitária, CGRP – peptídeo relacionado ao gene da calcitonina. No estômago, os neurônios que secretam CGRP são sensitivos de origem extrínseca; eles podem ser ativados pela presença de ácido no lúmen e pela infecção por *H. Pylori*. Neurônios pós-ganglionares regulam a secreção ácida direta ou indiretamente pela modulação da secreção de gastrina das células G, somatostatina das células D, histamina das células ECL e VIP das células enterocromafins. Fonte: adaptado de SCHUBERT; PEURA, 2008.

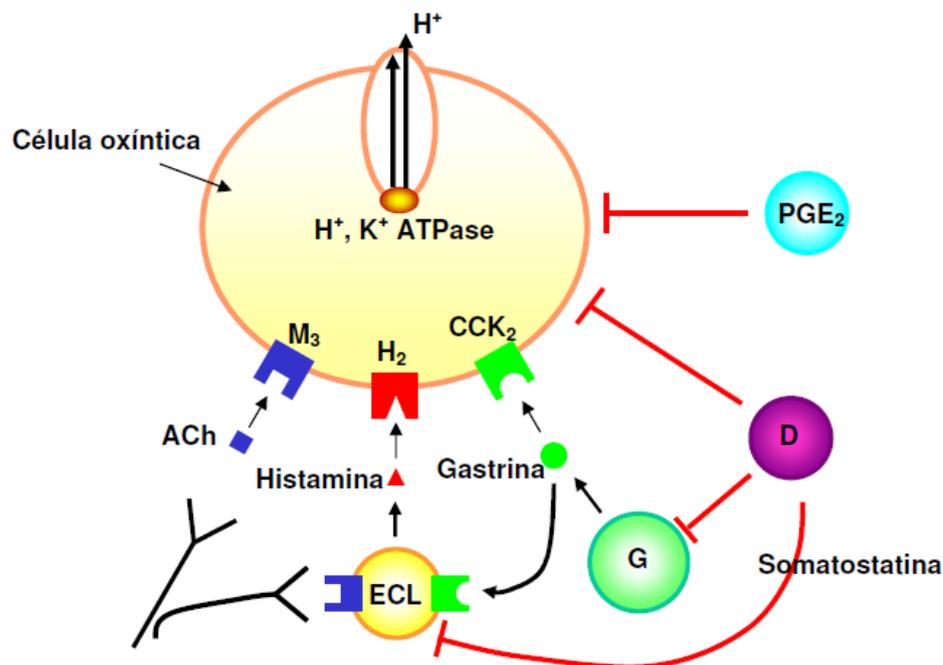
Neurônios sensitivos aferentes primários inervam a vasculatura da mucosa e submucosa, sua ativação afeta diretamente o tônus das arteríolas submucosas, sendo

importante na defesa contra danos provocados por álcool e outros agentes. Na presença de ácido gástrico as terminações sensoriais aferentes respondem liberando neurotransmissores tais como substância P e peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP). Essa liberação resulta no relaxamento do músculo liso vascular das arteríolas, aumentando o fluxo sanguíneo mucoso. Apesar do efeito relaxante do CGRP ser mediado principalmente via óxido nítrico (NO), existem evidências da participação de prostaglandinas (TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010).

### ***2.1.2 Secreção ácida gástrica***

O estômago secreta, de maneira contínua, o suco gástrico composto por muco, eletrólitos, íons bicarbonato, pepsinogênio e ácido clorídrico (HCl), considerado o seu principal constituinte. A secreção do HCl ocorre mediante estimulação da célula oxíntica, que dispara o mecanismo de secreção caracterizado pela passagem de  $H^+$ ,  $Cl^-$  e água da membrana apical para o lúmen estomacal. Esse mecanismo envolve elevação dos níveis intracelulares de  $Ca^{++}$  e AMPc, seguida pela ativação de cascatas de proteínquinases que disparam a translocação e inserção de bombas  $H^+/K^+$ -ATPase na membrana apical da célula parietal (YAO; FORTE, 2003).

O controle da secreção ácida ocorre de maneira complexa envolvendo pelo menos três tipos celulares diferentes, as células ECL produzindo histamina, as células G, gastrina e as células D secretando somatostatina. Além disso, o ramo colinérgico vagal atua sobre todas estas células e também sobre a célula parietal. A histamina, gastrina e a acetilcolina (ACh) influenciam direta e positivamente a produção ácida das células parietais. A somatostatina age de forma inversa, inibindo a liberação de histamina e gastrina e, conseqüentemente, a produção de ácido (**Figura 5**) (TOBIN *et al.*, 2009).



**Figura 5** Regulação da secreção ácida gástrica. ACh: Acetilcolina; ECL: Células enterocromafins similares; G: Célula G; D: Célula D;  $PGE_2$ : prostaglandina E subtipo 2;  $M_3$ : receptor muscarínico subtipo 3;  $H_2$ : receptor histaminérgico subtipo 2;  $CCK_2$ : receptor colecistocinina/gastrina subtipo 2 (Ativação: \_\_\_ e inibição: \_\_\_) (Adaptado de COLLARES-BUZATO; ARANA, 2005).

## 2.2 Agressão e proteção da mucosa gástrica

A mucosa gástrica é continuamente exposta a substâncias com uma grande diversidade de temperaturas, pH, osmolaridade, substâncias endógenas (ácido clorídrico, pepsina e bile) ou por irritantes ingeridos, por exemplo o álcool e anti-inflamatórios não esteroides (AINES), além de produtos bacterianos que são capazes de provocar reações inflamatórias locais ou sistêmicas. Para evitar possíveis danos causados por tais substâncias existe um mecanismo próprio de defesa que depende de processos fisiológicos, modulados por uma gama de mediadores, entre hormônios, neurotransmissores e citocinas. Existem os mecanismos locais e os neuro-hormonais, ambos atuam de forma dinâmica, controlando o fluxo sanguíneo da mucosa, o aporte de leucócitos, a taxa de descamação do epitélio, a secreção de muco, HCl, bicarbonato e o sistema imunológico. Em condições que possam comprometer a ação destes mecanismos, a mucosa gástrica passa a ficar mais susceptível aos danos induzidos por fatores irritantes luminiais e/ou sistêmicos. Os vários níveis da defesa da mucosa atuam

do lúmen aos níveis mais profundos do tecido gástrico, dependendo da extensão e da causa do dano (TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010).

### **2.2.1 Fatores de agressão**

#### *Histamina*

A histamina é sintetizada pela descarboxilação enzimática do aminoácido histidina, pela histidina descarboxilase (HDC), sendo estocada em vesículas secretórias e liberada por estimulação de determinados secretagogos, principalmente gastrina e peptídeo ativador de adenilato ciclase da pituitária (PAACP). Sua principal função no estômago é estimular, de forma direta, as células parietais a secretar HCl através da sua ligação a receptores H<sub>2</sub>. A histamina também induz a secreção de forma indireta pela ligação a receptores H<sub>3</sub> acoplados à inibição da somatostatina (SCHUBERT; PEURA, 2008).

#### *Gastrina*

A gastrina é produzida na base das glândulas pilóricas das células G em resposta a estímulos químicos, como pH elevado ou presença de proteínas na mucosa; estímulos mecânicos, como a distensão da parede do estômago; ou indiretamente, via mediadores secretados das células neuroendócrinas adjacentes e neurotransmissores do sistema nervoso entérico. A principal função da gastrina é estimular a secreção ácida e o crescimento celular na mucosa gástrica. ACh, peptídeo liberador de gastrina – GRP (*gastrin-releasing peptide*), serotonina, agonistas beta 2 e 3 adrenérgicos, Ca<sup>++</sup>, aminoácidos aromáticos e etanol estimulam sua secreção, entretanto, somatostatina, galanina, adenosina e bradicinina a inibem. O estímulo da secreção ácida ocorre primariamente pela liberação de histamina das células ECL (SCHUBERT, 2011). O papel da estimulação gastrinérgica diretamente sobre a célula parietal ainda é controverso, mas parece estar relacionado mais a uma sensibilização deste tipo celular a outros secretagogos do que a uma ativação de receptores de gastrina (PRINZ *et al.*, 2003; SCHUBERT, 2009).

#### *Acetilcolina*

Acetilcolina é um neurotransmissor dos nervos autonômicos pré-ganglionares e pós-ganglionares do ramo autonômico parassimpático. Está envolvida no

controle de quase qualquer função neste sistema e quase todos os tipos celulares expressam múltiplos subtipos de receptores colinérgicos muscarínicos (TOBIN *et al.*, 2009).

A ativação de células parietais por agentes colinérgicos ocorre pela ligação a receptores muscarínicos tipo M<sub>3</sub> e envolve a elevação dos níveis intracelulares de Ca<sup>++</sup> pela via da fosfolipase C (YAO; FORTE, 2003). No TGI, estes receptores promovem contração da musculatura lisa e secreção glandular, sendo encontrados nas células parietais, células G e células ECL em diferentes proporções. A ativação de receptores muscarínicos nas células G produz estimulação da produção de gastrina, e nas células D promove inibição da secreção de somatostatina. A ACh causa liberação de histamina em apenas 30% das células ECL, provavelmente porque apenas essas 30% possui inervação vagal. A estimulação colinérgica causa, portanto, um aumento da secreção ácida gástrica (TOBIN *et al.*, 2009).

### *Pepsinogênio*

O pepsinogênio é pró-enzima proteolítica, importante para o processo digestivo, produzidas pelas células principais. A secreção do pepsinogênio é controlada principalmente por estimulação colinérgica vagal, sendo ativado em meio ácido após sua quebra na porção amino-terminal. Apesar da presença de receptores muscarínicos M<sub>1</sub> e M<sub>3</sub> nas células principais, a ação isolada da ACh é insuficiente para ativar a secreção do pepsinogênio, sendo necessária a presença de ácido no lúmen estomacal. Desta forma, a ACh estimula as células parietais a liberar o HCl, que vai atuar como um co-indutor da secreção do pepsinogênio (TOBIN, *et al.*, 2009).

### **2.2.2 Fatores de proteção**

Vários fatores são os fatores que atuam no mecanismo de defesa da mucosa gástrica contra agentes nocivos, dentre os mais importantes estão: o muco que recobre a superfície da mucosa protegendo-a do conteúdo ácido, o bicarbonato atuando como agente neutralizador e o suco gástrico com seus elementos capazes de reduzir a colonização bacteriana do estômago (ácido clorídrico, imunoglobulinas e lactoferrina). Alguns micro-organismos conseguem sobreviver ao meio ácido estomacal, no entanto a hipo ou a acloridria aumentam comprovadamente o risco de infecções (TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010).

### *Barreira muco-bicarbonato*

Uma das principais linhas de defesa da mucosa é a barreira muco-bicarbonato, localizada entre o epitélio e o lúmen estomacal; e composta por muco, bicarbonato e fosfolípídeos surfactantes que recobrem a mucosa superficial. O termo “barreira” é utilizado devido seu importante papel estrutural que forma uma camada impassível retensora de bicarbonato responsável pela manutenção do pH quase neutro na superfície da mucosa. Essa camada também age como uma barreira física contra a pepsina luminal, protegendo a mucosa da digestão proteolítica. Os fosfolípídios do muco-gel formam uma camada surfactante altamente hidrofóbica que pode ser rompida por substâncias ulcerogênicas como sais biliares ou ácido acetilsalicílico, ocasionando difusão do ácido estomacal para a mucosa e promovendo lesões. Bactérias do tipo *Helicobacter pylori* podem liberar fosfolipases e íons amônio, reduzindo a efetividade da lâmina hidrofóbica do estômago. O rompimento da barreira muco-bicarbonato estimula outros mecanismos protetores, incluindo a neutralização intracelular do ácido gástrico, reparo do epitélio e manutenção e distribuição do influxo sanguíneo entram em ação (TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010).

O bicarbonato é secretado pelas células epiteliais superficiais da mucosa gástrica juntamente com o gel mucoso. O bicarbonato neutraliza o ácido que se difunde de volta à superfície epitelial, mantendo um pH próximo ao neutro naquela região. Prostaglandinas, estimulação vagal, distensão gástrica e a presença de ácido no lúmen aumentam a secreção gástrica de bicarbonato (PHILLIPSON, 2004).

O muco tem aspecto geleiforme devido sua composição: glicoproteínas de alto peso molecular, mucina e água. A camada de muco que cobre a superfície interna do TGI é constantemente renovada e sua espessura da secreção de mucina, do grau de degradação proteolítica e da erosão. O muco gástrico pode ser separado em duas diferentes camadas: a camada mais externa, onde o muco aderido mais frouxamente; e a mais interna, firmemente aderida. Sendo esta última mais importante na manutenção do pH neutro na superfície da mucosa, que a protege do ácido corrosivo. A camada frouxa de muco funciona como ligante de agentes luminiais nocivos, sequestro de nitritos deglutidos e de NO (PHILLIPSON *et al.*, 2008). O muco secretado sobre a superfície estomacal tem as funções de lubrificar a mucosa, reduzindo o dano físico ao epitélio e diminuir a capacidade bacteriana de invadir o epitélio subjacente Além de prevenir a

abrasão mecânica, o muco provê um microambiente adequado à cicatrização em sítios onde a superfície foi previamente danificada, acelerando o reparo. Em combinação com o bicarbonato secretado pelas células mucosas superficiais, o muco possui um papel-chave na proteção gástrica, cuja efetividade está regulada pela síntese de PGs (FIORUCCI *et al.*, 2001).

### *Fluxo sanguíneo*

A principal função da microcirculação da mucosa é distribuir oxigênio e nutrientes aos tecidos. A maioria das artérias gástricas ramificam-se em capilares na altura da camada muscular da mucosa, entrando em proximidade com as células epiteliais glandulares onde convergem para vênulas coletoras. Os neurônios sensitivos aferentes são sensibilizados na presença de substâncias irritantes ou quando ocorre retrodifusão do ácido gástrico. A estimulação destes neurônios promove liberação do CGRP nas proximidades das arteríolas submucosas causando vasodilatação pela via do NO, aumentando o fluxo sanguíneo (WALLACE, 2001). A lesão epitelial dificilmente progride para necrose das camadas celulares mais profundas da mucosa quando da perfusão sanguínea adequada. Além disso, os vasodilatadores NO e Prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) se opõem à ação de vasoconstrictores como o leucotrieno C<sub>4</sub>, tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) e endotelina. NO e PGI<sub>2</sub> também previnem a aderência de plaquetas e leucócitos nas paredes do endotélio microvascular, o que poderia causar obstrução da microvasculatura. O sulfeto de hidrogênio, outro mediador gasoso produzido endogenamente, auxilia no mecanismo de proteção, promovendo vasodilatação, diminuindo a aderência leucocitária bem como a expressão de TNF- $\alpha$ , e inibe o dano gástrico induzido por AINES (TULASSAY; HERSZÉNYI, 2010).

### *Renovação celular*

A barreira epitelial é formada por uma camada contínua de células epiteliais superficiais responsáveis pela secreção de bicarbonato, muco, prostagandinas, entre outras substâncias. Sua elevada taxa de renovação celular permite que o epitélio lesionado seja rapidamente regenerado (WALLACE, 2001). As células velhas vão sendo rapidamente substituídas sem que ocorra nenhuma quebra de continuidade do epitélio, devido o rápido processo de extrusão das células que vão passando por apoptose. Vários fatores de crescimento - epidermóide (EGF), transformante alfa (TGF-

$\alpha$ ) e insulino-símile 1 (IGF-1) – estão envolvidos no controle da proliferação celular. (TULASSAY & HERSZÉNYI, 2010).

### *Sistema nervoso simpático*

Adrenoceptores centrais e periféricos contribuem de modo significativo com o controle da secreção ácida pelas células parietais. O ramo simpático do sistema nervoso autônomo promove a regulação do estímulo colinérgico sobre a secreção ácida pelas células parietais. Apesar dos mecanismos inibitórios centrais ainda não estarem completamente elucidados, em nível periférico foi demonstrado que  $\alpha$ -2 adrenoceptores presentes na membrana pré-sináptica de terminais colinérgicos vagais modulam a secreção gástrica através da inibição da liberação de ACh (BLANDIZZI *et al.*, 1995).

## **2.3 Úlcera gástrica**

As úlceras gástricas ocorrem quando há um desequilíbrio entre os fatores de agressão e os fatores de proteção da mucosa. Podendo caracterizar-se como uma lesão profunda na mucosa, onde tanto os componentes do tecido epitelial e conjuntivo, como células da musculatura lisa, vasos e nervos podem ser destruídos (MILANI; CALABRÒ, 2001).

Epidemiologicamente a gastrite é uma das desordens do TGI superior que mais acomete a humanidade, sendo mais incidente nos homens que nas mulheres, em uma proporção de 1,3:1, e abrange mais a faixa etária de 50-70 anos (ABITBOL, 2007 *apud* CARVALHO, 2008). Sua causa depende de vários fatores, principalmente estresse, tabagismo, infecção por *Helicobacter pylori*, consumo abusivo de álcool e uso prolongado de AINES (BELAICHE *et al.*, 2002). Sendo em muitos casos o resultado da combinação vários fatores (SMITH, 1989).

### **2.3.1 Cicatrização das úlceras gástricas**

A cicatrização das úlceras gástricas é um mecanismo de reparo geneticamente programado que inclui inflamação, proliferação celular, re-epitelização, formação de tecido de granulação, angiogênese, interações entre várias células e a matriz extracelular, e remodelação do tecido, finalizando com a formação de uma cicatriz. Citocinas, fatores de crescimento e fatores de transcrição ativados durante o dano tecidual promovem a cicatrização das úlceras (MARTIN; WALLACE, 2006). As

plaquetas também participam do mecanismo de cicatrização, pois liberam numerosos fatores de crescimento que podem promover angiogênese e proliferação epitelial. Células progenitoras circulantes também são importantes para o processo de reparo (WALLACE *et al.*, 2006). A supressão da resposta inflamatória pode levar à lesão gástrica e ao impedimento dos mecanismos de reparo, porém em alguns casos esta resposta pode ser desregulada e contribuir para aumentar os danos. Algumas citocinas produzidas durante a inflamação podem diminuir a severidade dos danos gastroduodenais. A administração de IL-1 $\beta$ , por exemplo, demonstra capacidade de inibir a secreção ácida, provavelmente porque estimula a liberação de prostaglandinas e NO aumentando resistência da mucosa contra agentes nocivos (RAD *et al.*, 2004; KOSSOULAS *et al.*, 2009), e o TNF- $\alpha$  estimula a proliferação das células epiteliais, auxiliando a cicatrização (KOSONE *et al.*, 2006).

### **2.3.2 Tratamento das úlceras gástricas**

Existe uma estreita ligação entre a infecção por *H. pylori* e a ocorrência de úlceras pépticas, de modo que a erradicação dessa bactéria reflete em uma menor probabilidade de recorrência de úlceras (MALFERTHEINER; LEODOLTER, 2000). A terapêutica mais utilizada na erradicação do *H. pylori* inclui um inibidor de bomba de prótons (omeprazol) em combinação com dois antibióticos de amplo espectro (COELHO *et al.*, 2002). No tratamento das úlceras gástricas, de maneira geral, também são utilizados os antiácidos, os anticolinérgicos, os inibidores da bomba de prótons, os antagonistas de receptor H2 e os Sucalfratos (RANG *et al.*, 2004).

Os anti-ácidos atuam neutralizando diretamente o pH do suco gástrico, apesar de se tratar de um grupo de fármacos relativamente barato, apresenta o inconveniente da necessidade de frequentes administrações (a cada 1-2 horas) (STOLLMAN; METZ, 2005). O sucralfato é um sal de alumínio e sacarose que no pH ácido do estômago adquire uma alta polaridade aderindo-se facilmente às células epiteliais superficiais, principalmente no tecido lesionado, protegendo a área ulcerada (REES, 1991).

Apesar de existir uma variedade no tratamento das úlceras gástricas, estes fármacos podem ocasionar reações adversas graves, como trombocitopenia (ZLABEK; ANDERSON, 2002), nefrotoxicidade e hepatotoxicidade (FISHER; LE-COUNTEUR,

2001), reações anafiláticas (GONZALEZ *et al.*, 2002), ginecomastia e impotência (SABESIN, 1993).

Além disso, no Brasil, o tratamento de úlceras gástricas é bastante caro, não sendo acessível a grande parte da população (HIRUMA-LIMA *et al.*, 2006). O tratamento das úlceras pépticas, dessa forma, constitui ainda um grande desafio e torna-se necessário o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos mais eficazes, menos tóxicos e de custo mais baixo, daí a importância das plantas medicinais.

## **2.4 Importantes sistemas e vias de regulação endógena na mucosa gástrica.**

### **2.4.1 Receptores opioides**

O conceito de opioides atualmente engloba todas as substâncias naturais, semissintéticas ou sintéticas que agem como agonistas ou mesmo como antagonistas dos receptores opioides. Para promover desambiguação, o termo opiáceos pode ser usado para os alcaloides de ocorrência natural, como morfina e codeína (DUARTE, 2005, TRESCOT *et al.*, 2008).

Os opioides atuam sobre receptores específicos acoplados a proteínas G, que podem ser ativados por mediadores endógenos (peptídeos opioides) ou por drogas opioides exógenas como a morfina, classicamente utilizada como analgésico. Quatro tipos de receptores diferentes já foram descritos,  $\mu$  (mu para morfina),  $\kappa$  (kapa para receptor de *ketociclazocine*),  $\delta$  (delta para deferente, pois foi primeiramente identificado no canal deferente de camundongos) e N (de receptor para o peptídeo nociceptina). Os ligantes endógenos dos receptores opioides são principalmente peptídeos derivados de quatro precursores diferentes, pro-opiomelanocortina, pro-enkefalina, pro-dinorfina e pro-nociceptina (WALDHOER, *et al.*, 2004).

A ativação de receptores  $\mu$ -opioides pré-juncionais inibem a liberação de ACh mediando a atividade contrátil da musculatura lisa do TGI (GELMAN *et al.*, 2010a; GELMAN *et al.*, 2010b). Os receptores opioides atuam em nível central e periférico. Agonistas seletivos de receptores  $\delta$  e  $\mu$ -opioides centrais exercem efeito protetor no modelo de úlceras induzidas por etanol. A administração de baixas doses de opioides diretamente no SNC promove gastroproteção, o mesmo não acontece quando administrado em doses subcutâneas. O mecanismo de ação envolve receptores  $\delta$ -1 e  $\delta$ -2

e não está relacionada à diminuição da secreção ácida gástrica. A ativação periférica de receptores opioides ( $\mu$  e  $\delta$ ) está relacionada à maior produção de NO e PGs, no modelo de lesões induzidas pelo etanol, o mesmo não ocorre no modelo produzido pela administração de AINES. O efeito gastroprotetor dos opioides é alcançado em doses inferiores às utilizadas para promover analgesia (GYIRES *et al.*, 1997; GYIRES & RÓNAI, 2001; GYIRES *et al.*, 2001).

Na metade do século XX os antagonistas opioides começaram a ser utilizados no tratamento da superdosagem de drogas agonistas, a fim de reverter a depressão respiratória causada por essas drogas. A naloxona e a naltrexona, alil derivados da oximorfona, são considerados antagonistas puros e interagem com os três tipos de receptores opioides (DUARTE, 2005). O primeiro antagonista a ser sintetizado foi a naloxona, que apresenta grande afinidade por receptores  $\mu$ , sendo bastante eficaz na reversão dos efeitos de agonistas opioides, inclusive os efeitos gastroprotetores (MARTIN, 1967; FERRAZ, 1999; GYIRES *et al.*, 2000).

#### **2.4.2 Prostaglandinas**

As prostaglandinas são sintetizadas a partir do ácido araquidônico (AA) por ação da enzima cicloxigenase (COX). O AA é produzido a partir de fosfolipídios da membrana celular, sob a ação da enzima fosfolipase A2 (PLA2) sendo liberado por estímulos químicos ou mecânicos. Com a descoberta que o pré-tratamento com PGs prevenia os danos causados por agentes necrotizantes na mucosa gástrica, esta molécula tornou-se importante para a compreensão dos mecanismos de proteção da mucosa e de cicatrização de úlceras (BRZOZOWSKI *et al.*, 2005).

No início da década de 1990 foi demonstrada a existência de duas isoformas da COX: COX-1 e COX-2. A isoforma anteriormente considerada constitutiva, COX-1, induz a produção de PGs envolvidas na regulação de funções fisiológicas como homeostasia renal, função plaquetária e citoproteção da mucosa gástrica. A segunda isoforma, COX-2, seria expressa em resposta a estímulos inflamatórios e mitogênicos. Durante muito tempo acreditava-se que a inibição da COX-2 seria responsável pelos efeitos terapêuticos dos AINES, enquanto que a inibição da COX-1 seria responsável pela toxicidade desses agentes (GRANJEIRO *et al.*, 2008).

As PGs atuam em quatro tipos de receptores diferentes, EP<sub>1</sub> a EP<sub>4</sub>. De maneira geral, os efeitos ocorrem pela ação em receptores acoplados a proteínas G (SAMUELSSON *et al.*, 1978). Estes receptores são expressos em muitos tecidos e tipos celulares. Os subtipos EP<sub>3</sub> e EP<sub>4</sub> estão presentes em praticamente todos os tecidos, enquanto que a distribuição dos receptores EP<sub>1</sub> e EP<sub>2</sub> está restrita a rins, útero, SNC e estômago (USHIKUBI *et al.*, 2000).

No estômago, as PGs exercem atividades gastroprotetoras atuando de maneira diversa, podendo aumentar o fluxo sanguíneo gástrico, a secreção do muco que recobre a superfície da mucosa e a secreção do bicarbonato que atua como agente neutralizador; além de diminuir a secreção de ácido clorídrico (SULEYMAN *et al.*, 2010). Os AINES podem aumentar a susceptibilidade da mucosa a lesões, por reduzirem a produção de PGs (FIORUCCI *et al.*, 2001). A inibição da síntese gastrointestinal de prostaglandinas pode causar de diminuição da secreção de muco, bicarbonato e do fluxo sanguíneo da mucosa, bem como aumento do número de leucócitos aderentes ao endotélio vascular da microcirculação gastrointestinal. Conseqüentemente haverá dificuldade no reparo de danos epiteliais. Sabe-se que a prevenção da adesão leucocitária induzida por AINES resulta em quase completa proteção contra o dano gástrico associado a essas drogas em modelos animais. No TGI as PGs exercem algumas funções em comum com o óxido nítrico (NO), de forma que a supressão de um desses mediadores pode ser compensada pelo estímulo da produção do outro. Entre estas funções estão: estimulação da secreção de muco, promoção de cicatrização e manutenção do fluxo sanguíneo (WALLACE, 2008). PGs também exercem efeito protetor de forma indireta pela inibição da secreção de histamina a partir das células enterocromafins símile (ECL), diminuindo potencialmente a estimulação da secreção ácida (SCHUBERT; PEURA, 2008).

O sistema COX-PG atua em conjunto com a expressão de diversos fatores de crescimento locais no entorno da lesão (fator de crescimento epidérmico – EGF, fator de crescimento transformante alfa – TGF $\alpha$ , fator de crescimento do hepatócito – HGF e fator básico de crescimento do fibroblasto - bFGF). Estes fatores aceleram o processo de cicatrização da úlcera e coincide com a inibição da secreção ácida gástrica e com o aumento do fluxo sanguíneo da mucosa na margem da úlcera. Inibidores não seletivos da COX (indometacina) dificultam a cicatrização da úlcera e aumentam a taxa de transcrição da COX-2 nas circunvizinhanças das lesões, este fato sugere que as PGs

derivadas de COX-2 expressas localmente são responsáveis pela aceleração da cura da úlcera através da ativação dos fatores de crescimento (KONTUREK *et al.*, 2005).

A ativação da COX-2 em virtude do processo inflamatório aumenta a produção de PGE<sub>2</sub>, que estimula tanto a angiogênese como a expressão do fator de crescimento derivado do endotélio – VEGF (*vascular endothelium growth factor*) acelerando a proliferação celular. Esta ação da PGE<sub>2</sub> ocorre via ativação de receptores tipo EP<sub>4</sub> (HATAZAWA *et al.*, 2007).

Para que ocorra lesão gástrica induzida por AINES em ratos e camundongos, faz-se necessária a supressão de ambas as COX-1 e 2, uma vez que a inibição da COX-1 diminui o fluxo sanguíneo gástrico e a inibição da COX-2 aumenta a adesão leucocitária ao endotélio vascular. Como a indometacina não apresenta seletividade (em determinadas doses) torna-se eficaz na produção de úlceras provocadas por AINES em modelos experimentais (WALLACE *et al.*, 2000).

O papel da COX na proteção da mucosa gástrica depende da mesma estar ou não exposta a agentes potencialmente nocivos. Quando a mucosa apresenta-se normal, a inibição de ambas as COX-1 e 2 é necessária para induzir a formação de dano, porém na presença de um agente potencialmente nocivo a inibição específica da COX-1 torna-se suficiente para causar lesão. No entanto, a formação da lesão é motivo suficiente para induzir a expressão da COX-2, que irá concorrer com a COX-1 para restaurar a integridade da mucosa (PESKAR, 2001).

### **2.4.3 Óxido Nítrico (NO)**

O NO é um mediador gasoso endógeno, moderadamente solúvel em água e sua meia-vida varia de 3 a 60 segundos. É produzido a partir da atividade de enzimas intracelulares específicas que exerce papel regulatório importante, principalmente no sistema cardiovascular e na inflamação (SZABO, 2010). Pode ser citotóxico, vasodilatador e modular reações inflamatórias ou anti-inflamatórias, dependendo do tipo celular e do estímulo. O NO é produzido a partir do aminoácido arginina, na presença de oxigênio molecular. A oxidação da L-arginina à L-citrulina e NO é catalisada por uma família de três isoformas de enzimas denominadas óxido nítrico sintases (NOS) (LANAS, 2008).

NO exerce atividade citostática ou citocida (mediada por macrófagos) contra diferentes micro-organismos patogênicos, além de provocar vasodilatação dependente do endotélio, inibição da ativação, da adesão e agregação plaquetária, regulação da pressão sanguínea basal, entre outras atividades. A atividade da molécula foi registrada em endotélio, cerebelo, nervos não adrenérgicos não colinérgicos (NANC), macrófagos, neutrófilos, rins, células epiteliais pulmonares, miocárdio e mucosa gastrintestinal. Nos vasos sanguíneos, o NO exerce função na modulação do diâmetro vascular pela sua habilidade em relaxar o músculo liso, além de inibir as interações dos elementos sanguíneos circulatórios com a parede do vaso (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002).

Fisiologicamente os receptores das células endoteliais podem ser ativados na presença de ACh, bradicinina, adenosina difosfato, substância P, serotonina, entre outros; ou pelo aumento do atrito provocado por células sanguíneas sobre a camada endotelial do vaso (*shear-stress*). Tais estímulos, agindo em conjunto ou isoladamente, ativam a enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOSe) e conseqüentemente a produção de NO. Na célula endotelial o NO se difunde rapidamente para a célula muscular e para o lúmen vascular. Na célula muscular o NO interage com o ferro do grupo heme da enzima guanilato ciclase (GC), causando alteração na conformação da enzima, tornando-a ativa. Sua forma ativa catalisa a saída de dois grupamentos fosfato da molécula de guanosina trifosfato (GTP), formando guanosina monofosfato cíclico (GMPc). O aumento do GMPc na célula muscular resulta no seu relaxamento. O mecanismo de relaxamento envolve a diminuição da entrada de  $Ca^{++}$  para a célula, a inibição da liberação de  $Ca^{++}$  do retículo endoplasmático e o aumento do sequestro de  $Ca^{++}$  para esta organela. Ainda não se conhece o mecanismo pelo qual o NO é removido da GC após ocorrer à vasodilatação necessária. Sabe-se que a produção de GMPc é interrompida segundos após a remoção do NO da enzima GC (DUSSE *et al.*, 2003).

Em nível gastrintestinal são expressas as duas isoformas constitutivas, NOSe no endotélio vascular e a NOSn, no sistema nervoso entérico. A isoforma NOSi também é expressa mas principalmente em macrófagos e neutrófilos, embora também o sejam no endotélio vascular e em neurônios (LANAS, 2008). Durante o processo inflamatório no tecido gástrico ocorre um aumento na expressão da isoforma induzível, sugerindo a atividade de neutrófilos e macrófagos na gastrite (GUO *et al.*, 2003).

O NO apresenta importantes funções no TGI, incluindo o controle do fluxo sanguíneo da mucosa, manutenção da sua integridade e do tônus vascular. O NO também medeia o relaxamento não adrenérgico não colinérgico da musculatura longitudinal e circular do esfíncter esofágico, estômago, duodeno, intestino delgado e esfíncter anal interno. Apesar do mecanismo de ação descrito anteriormente ocorrer via produção de GMPc, também existem ações independentes de GMPc, como a oxidação de proteínas e lipídios no tecido gástrico. Dessa forma, o NO atua tanto contribuindo para a manutenção da homeostase do TGI, como também, em caso de lesões na parede do TGI (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002; LANAS, 2008).

O NO também protege o trato gastrintestinal através da inibição da secreção ácida gástrica pelas células parietais e aumento da liberação de somatostatina pelas células D; além de atuar também de forma indireta sobre as células ECL, causando inibição da liberação de histamina (BERG *et al.*, 2005).

Compostos sintéticos inibidores da produção de NO (L-NMMA - *N<sup>G</sup>-Methyl-L-arginine*, aminoguanidina, L-NAME - *N<sub>ω</sub>-Nitro-L-arginine methyl ester*) apresentam diferentes atividade e potência farmacológica, influenciando de maneira distinta a produção nas três isoformas de NOS. O L-NAME é 0,09 vezes mais potente sobre a NOS<sub>i</sub> do que sobre a NOS<sub>n</sub>, e 0,11 vezes do que a NOS<sub>e</sub>. Em virtude de sua atividade inibitória da produção de NO, os análogos da L-arginina, L-NMMA ou o L-NAME aumentam a adesão de leucócitos polimorfonucleares. Tais agentes também revertem os demais efeitos do NO (KUBES *et al.*, 1991; ALDERTON *et al.*, 2001; GRANIK & GRIGOR'EV, 2002). Existem também as drogas liberadoras de NO, como os nitratos cardíacos (nitroglicerina, dinitrato de isossorbida, nitroprussiato de sódio), os quais ajudam a manter o fluxo sanguíneo gástrico adequado e inibem as interações entre leucócitos de endotélio (LANAS, 2008).

Tendo em vista que o aumento do  $[Ca^{++}]$  citosólico é um componente central na secreção ácida gástrica, a diminuição da  $[Ca^{++}]$  pelo NO causa diminuição da secreção ácida. O  $Ca^{++}$  facilita a reciclagem de membranas pela regulação do transporte e acoplamento das túbulo-vesículas com a membrana apical, sendo um elemento vital na secreção, pois sua diminuição impede a translocação das  $H^+/K^+$ ATPases para a membrana apical. Outro possível efeito seria pelo aumento da velocidade de degradação do AMPc pela fosfodiesterase celular em virtude da ativação alostérica que o GMPc

exerce sobre esta enzima, que catalisa a degradação do AMPc (Berg *et al.*, 2005). O NO também inibe a secreção ácida gástrica estimulada por histamina, sendo produzido a partir de e agindo sobre células ECL. Estas atividades sugerem um papel de inibidor parácrino fisiológico da secreção ácida para o NO (BERG *et al.*, 2004).

#### **2.4.4 Adrenoceptores $\alpha$ -2**

Os receptores adrenérgicos ou adrenoceptores pertencem à família de receptores ligados à proteína G, e são alvos das catecolaminas. No TGI os receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos participam do controle de diversas funções como: inibição a secreção ácida gástrica, a motilidade e o trânsito gastrointestinal. A maioria dos corpos celulares das fibras adrenérgicas do TGI localizam-se nos gânglios simpáticos pré-vertebrais, portanto, são consideradas extrínsecas, ou seja, não fazem parte do sistema nervoso entérico. Entretanto, algumas fibras adrenérgicas se originam no gânglio cervical e alcançam o estômago via nervo vago. A maioria das fibras simpáticas terminam no plexo mioentérico, localizado dentro da parede do estômago e do intestino, e tem noradrenalina como principal neurotransmissor, porém algumas fibras simpáticas inervam diretamente a mucosa gástrica (YOKOTANI *et al.*, 1993; DI PONTI *et al.*, 1996).

O sistema nervoso simpático gástrico atenua de um modo geral, a atividade nervosa parassimpática. No TGI, as catecolaminas ligam-se aos receptores  $\alpha$ 2-adrenérgicos situados na membrana pré-sináptica das terminações colinérgicas causando inibição da liberação de ACh dos neurônios parassimpáticos. Além disso, autorreceptores muscarínicos M3 parecem também inibir a liberação de ACh (YOKOTANI *et al.*, 1993). A maioria dos axônios de neurônios noradrenérgicos localizam-se nos gânglios mioentéricos e submucosos, bem como nas proximidades de arteríolas, sendo também encontrados na camada muscular circular e na mucosa do estômago. Esta localização estratégica pode estar co-relacionada com a importância do sistema nervoso simpático no controle de funções motoras e secretoras (DI PONTI *et al.*, 1996).

Os principais grupos de receptores adrenérgicos ( $\alpha$  e  $\beta$ ) são distribuídos em diferentes níveis do TGI. O mesmo ocorre com a localização dos subtipos de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos ( $\alpha$ -1 e  $\alpha$ -2). Os receptores  $\alpha$ 1-adrenérgicos localizam-se na membrana pós-sináptica da célula muscular lisa e, em menor proporção, em neurônios intrínsecos,

enquanto que os receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos estão localizados tanto pré- quanto pós-sinápticamente. Todavia, os  $\alpha_2$ -adrenoceptores pré-sinápticos funcionam tanto como autorreceptores, inibindo a liberação de norepinefrina de terminações nervosas adrenérgicas, ou como heteroceptores, inibindo a liberação de outros neurotransmissores, especialmente ACh (DI PONTI *et al.*, 1996).

A proteína G regula a transdução de sinal transmembrana dos receptores de superfície para uma variada classe de efetores intracelulares como as enzimas adenilato ciclase (AC) e fosfolipase C (PLC). São conhecidas, até o momento, três subunidades distintas de proteínas G ( $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ ). A proteína  $G\alpha$  pode ser caracterizada em diferentes tipos ( $G_s$ ,  $G_i$ ,  $G_q$  e  $G_{12}$ ) de acordo com a estrutura e sequência da subunidade  $\alpha$ , cada uma com um padrão diferente de ativação/inibição de cascatas intracelulares de fosforilação (ELENKOV *et al.*, 2000).

A ativação de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos resulta na diminuição lesões na mucosa gástrica em modelos de úlcera tanto dependentes, quanto independentes de ácido. Diferentes subtipos de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos estão envolvidos no mecanismo de gastroproteção (subtipo  $\alpha_2B$ ), e na modulação motora (subtipo  $\alpha_2A$ ), ou seja, inibindo o esvaziamento e a motilidade do estômago. O papel de receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos centrais na regulação gástrica ainda não está completamente elucidado com relação à motilidade gástrica, porém, a ativação de receptores  $\alpha_2B$  está relacionada à proteção do estômago (FÜLOP *et al.*, 2005).

O efeito de agonistas  $\alpha_2$ -adrenoceptores na secreção ácida gástrica tem sido estudado, através do uso de agonistas como clonidina e outras drogas (guanfacina, xilasina, guanabens, detomidine e medetomidine). Pequenas doses de clonidina são capazes de inibir a secreção ácida gástrica estimulada por atividade vagal. Tal inibição é observada da mesma forma na secreção basal, sendo interpretada como resultado da ação da clonidina em  $\alpha_2$ -adrenoceptores localizados tanto periférica como centralmente. Os agonistas  $\alpha_2$ -adrenérgicos também reduz secreção basal de pepsina de forma dose-dependente. A simples diminuição do efluxo de acetilcolina das terminações nervosas pode explicar os resultados (TAZI-SAAD *et al.*, 1992).

#### 2.4.4.1 Ioimbina

A ioimbina é um alcaloide encontrado naturalmente nas espécies *Corynanthe Yohimbe* (Yohimbe) e *Pausinystalia johimbe* (Rubiaceae). Que atua como antagonista seletivo dos receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, sendo utilizado há mais de século no tratamento da disfunção erétil. A ioimbina é utilizada como ferramenta farmacológica em estudos que envolvem a elucidação da função de  $\alpha_2$ -adrenoceptores (NICKERSON, 1949; ANDERSSON, 2001; AL-MAJED *et al.*, 2006).

#### 2.4.4.2 Clonidina

A clonidina é uma agonista do receptor  $\alpha_2$ -adrenérgico de ação central e periférica, cuja farmacocinética é caracterizada por uma rápida distribuição, tanto após administração oral quanto intravenosa, com metabolização predominantemente hepática (HOUSTON, 1981). Estudos sobre o efeito gastroprotetor da clonidina vêm sendo elaborados desde a década de 1980. Sendo o efeito  $\alpha_2$ -adrenérgico sobre a secreção ácida e seu efeito gastroprotetor bastante sedimentados, embora o mecanismo central ainda esteja objeto de estudos (CHENG *et al.*, 1981; BLANDIZZI *et al.*, 1995). A clonidina é um fármaco anti-hipertensivo descoberto em 1962, com efeito sedativo bradicárdico e descongestionante, entre outros. A descoberta da ação protetora gástrica da clonidina e a reversão do seu efeito pela ioimbina, bloqueador  $\alpha_2$  pré-sináptico demonstrou a atividade de adrenoceptores  $\alpha_2$  nos mecanismos de proteção gástrica (GYIRES *et al.*, 2000).

Tanto adrenoceptores  $\alpha_2$  centrais quanto periféricos estão envolvidos no efeito gastroprotetor da clonidina. Os receptores  $\alpha_2$  periféricos estão localizados nos gânglios parassimpáticos intramurais e sua estimulação diminui a descarga de acetilcolina mediada pelo vago, diminuindo conseqüentemente a secreção ácida gástrica. A ativação de  $\alpha_2$  adrenoceptores no sistema nervoso central (SNC) inibe a secreção ácida gástrica, em um efeito claramente supra espinhal (GYIRES *et al.*, 2000).

O efeito antissecretório da clonidina parece não ser tão importante na gastroproteção, pois a clonidina em doses gastroprotetoras não influencia a secreção ácida gástrica. Os  $\alpha_2A$ -adrenoceptores são também responsáveis pelo controle do esvaziamento gástrico e pela inibição da atividade motora do estômago. De um modo geral, a ativação de  $\alpha_2$ -adrenoceptores parece também estimular a produção de COX-1,

com produção de PGs protetoras e consequente produção de muco, além de promover proteção gástrica por uma atividade antioxidante ainda pouco estudada. Outrossim, qualquer substância com atividade seletiva  $\alpha 2$ -adrenérgica muito provavelmente possui atividade gastroprotetora (SULEYMAN, 2012).

Provavelmente a inibição motora do estômago promovida pela clonidina também contribua para o efeito protetor da mucosa gástrica, tendo em vista que as contrações gástricas de alta amplitude podem induzir distúrbios microvasculares em sítios da mucosa, pela compressão anormal da parede gástrica, levando a um fluxo sanguíneo insuficiente para a mucosa, aumento da permeabilidade vascular e dano celular. A inibição da motilidade gástrica por agonistas  $\alpha 2$ -adrenérgicos, como a clonidina, provavelmente ocorra em nível periférico, pois a inibição ocorre mesmo em estômagos cuja contração foi estimulada eletricamente. Outra característica importante é que a administração de clonidina no modelo de úlcera induzida por etanol é mais eficientemente protetora do que no modelo de úlcera induzida por indometacina, provavelmente porque neste último, o dano gástrico depende da secreção de ácido, o que não ocorre com o primeiro, cujo dano está mais relacionado à peroxidação lipídica e necrose superficial. O efeito da clonidina neste caso apenas contribui para proteção gástrica (GYIRES *et al.*, 2009).

## 2.5 Lesão gástrica induzida por etanol

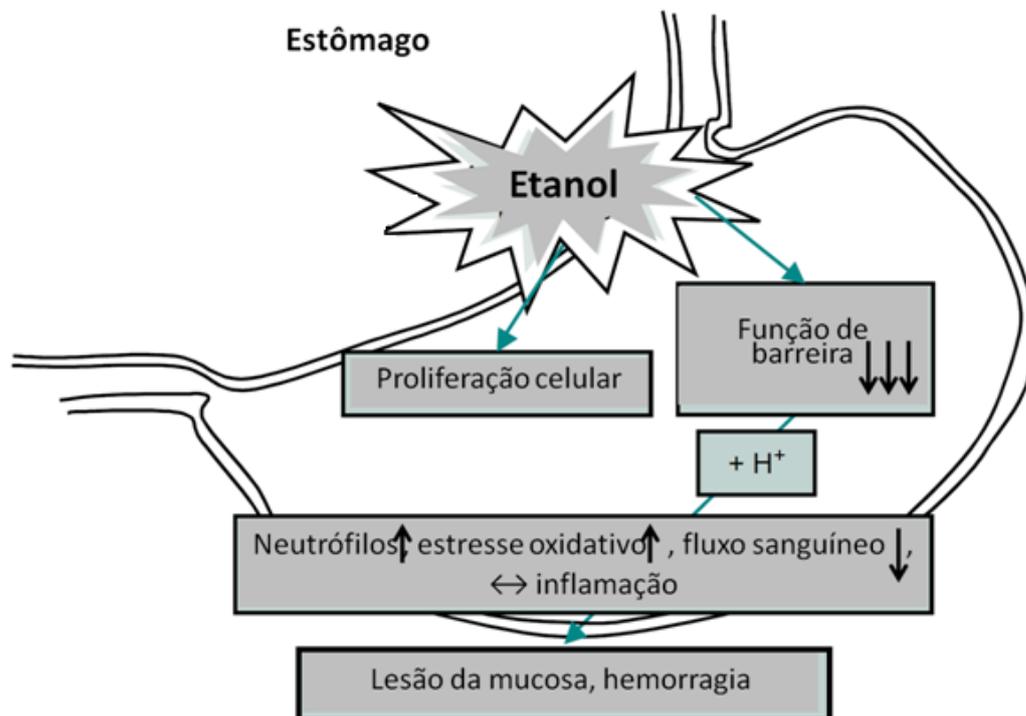
O modelo de lesão gástrica induzida por etanol nos camundongos pode ser reproduzido por gavagem (0,5 a 2,0 ml) em diferentes concentrações (50 a 100%). Passado um período de 1 a 2 h após a administração do etanol em ratos ou camundongos, é possível encontrar erosões hemorrágicas e úlceras em um percentual que varia entre 10 e 40% da porção glandular do estômago, dependendo da quantidade de etanol administrada. Entretanto, estudos de evolução temporal da formação de lesões gástricas induzidas por etanol demonstraram que a maior parte do dano produzido ocorre entre 1 e 3 minutos após a gavagem (GLAVIN; SZABO, 1992). Estas lesões aparecem na forma de eritema e erosões superficiais, com aspecto friável e a hemorragia pode ser observada microscopicamente (LIEBER, 1997).

O mecanismo de ação envolvido na formação das lesões provocadas pelo etanol depende da interação de vários fatores (**Figura 6**). A formação de radicais livres é um destes fatores, sendo causada pelo aumento da produção de ânions superóxidos,

formação de radicais hidroxilas e a peroxidação lipídica da mucosa. (PIHAN *et al.*, 1987; REPETTO; LLESUY, 2002).

A administração de etanol está associada com a alteração da secreção ácida, variando de acordo com a espécie e as concentrações utilizadas. Em seres humanos, bebidas com baixo teor de etanol (cerveja e vinho) provocam grande estímulo de secreção ácida gástrica e a liberação de gastrina. Em contraste, bebidas com alto teor alcoólico (uísque e conhaque), não produzem tais estimulações. O mecanismo de ação ulcerosa do etanol na mucosa gástrica parece ser tanto local quanto sistêmica, afetando a liberação de hormônios e a regulação das funções nervosas envolvidas na secreção ácida. A exposição prolongada ao etanol promove distúrbio da microcirculação comprometendo a estrutura da mucosa (BODE; BODE, 1997).

A ingestão de etanol em baixas concentrações (10%) causa um processo inflamatório agudo que estimula a aderência leucocitária (neutrófilos), havendo comprometimento do epitélio, e em altas concentrações (90 a 100%) induz lesões independentes de neutrófilos, sendo mais relacionadas ao dano vascular precoce, com redução do fluxo sanguíneo da mucosa, isquemia e morte celular. O processo inflamatório produzido pelo etanol caracteriza-se pela liberação de mediadores, que ativam os granulócitos e conseqüente produção de proteases e formação de radicais livres (TEYSSEN; SINGER, 2003; SIEGMUND *et al.*, 2003).



**Figura 6** Representação esquemática dos efeitos do etanol (agudo ou crônico) no estômago. A administração aguda leva ao dano na mucosa, administração crônica causa proliferação celular adicional em modelos animais.

Fonte: adaptado de Siegmund e colaboradores (2003).

O enfraquecimento da função de barreira da mucosa gástrica, gerando aumento da permeabilidade, promove modificação do potencial eletroquímico das membranas celulares, o que causa retro difusão dos íons  $H^+$  através da mucosa lesionada (SIEGMUND *et al.*, 2003). Ocorre também aumento da expressão de citocinas inflamatórias, como o  $TNF-\alpha$  (2,5 vezes), e da taxa de apoptose (9,4 vezes) das células epiteliais. Inibidores de bomba de prótons (omeprazol), não são eficazes na gastroproteção em modelos de lesão por etanol (PIOTROWSKI *et al.*, 1997). Entretanto a Ranitidina, um antagonista de receptores  $H_2$ , pode promover gastroproteção neste modelo de lesão, quando se utilizam doses acima de 50 mg/kg. Em doses inferiores houve uma certa ineficácia do fármaco (DEL SOLDATO *et al.*, 1985; LEE *et al.*, 2002; SHEEBA; ASHA, 2006; CADIRCI *et al.*, 2007).

O etanol também pode promover redução da produção de PGs, pois altera o equilíbrio do metabolismo do ácido araquidônico aumentando a produção de leucotrienos, aumentando a secreção ácida gástrica podendo acarretar formação de lesões (TABUCHI; FURUHAMA, 1994).

## 2.6 Plantas medicinais

### 2.6.1 Breve histórico sobre o uso de plantas medicinais

A ingestão direta de ervas e folhas na tentativa de aliviar sintomas e curar doenças pode ter sido uma das primeiras formas de utilização dos produtos de origem natural (VIEGAS JR *et al.*, 2006). Civilizações antigas como os egípcios, greco-romanos, chineses, hindus, e maias, faziam uso de certas plantas como medicamentos e no controle de pragas (KOROLKOVAS e BURCKHALTER, 1998; VIEGAS JR *et al.*, 2006).

Antigas referências descrevem o uso de plantas como fármacos, como a obra chinesa Pen Ts'ao (“A Grande Fitoterapia”), escrita por Shen Nung em 2800 a.C., que traz relatos de que egípcios, assírios e hebreus cultivavam ervas trazidas de suas expedições para utilizar como medicamentos. Papiros egípcios também revelaram que desde 2000 a.C., muitos médicos utilizavam plantas como medicamentos. O Papiro de Ebers que data de cerca de 1500 a.C, decifrado em 1873 pelo egiptólogo alemão Georg Ebers, descreve aproximadamente 700 drogas criadas a partir de extratos de plantas, metais e venenos de animais, além de fórmulas específicas para diversas doenças conhecidas. Hipócrates em sua obra “Corpus Hipocratium” (460-377 a.C.), descreveu conhecimentos médicos de seu tempo, indicando o vegetal e o tratamento adequado das enfermidades até então conhecidas (TOMAZZONI *et al.*, 2006).

Um marco no progresso da busca constante por medicamentos extraídos de plantas foi o isolamento da morfina, extraída da papoula pelo alemão Friedrich Serturmer, o pioneiro a isolar uma substância química, em 1806. Anos depois, outros princípios ativos foram sendo isolados e testados: codeína por Pierre-Jean Robiquet (1824), papaverina por George Fraz Merck (1848), atropina por Mein (1831), cafeína obtida por Rung (1820), digoxina (digitálico) isolada a partir da *Digitalis lanata* e o curare (relaxante muscular) isolado do *Chondrodendron tomentosum* por Winstersteiner e Dutcher (1943) (CALIXTO; SIQUEIRA JR., 2008).

Outro fator que merece destaque foi o descobrimento dos salicilatos obtidos de *Salix Alba* (Salgueiro) que culminou com a descoberta do ácido acetil-salicílico utilizado até hoje. Em 1757, o reverendo Edward Stone relatou as propriedades analgésicas e antipiréticas obtidas do extrato da casca do salgueiro observadas através

das suas utilizações clínicas. Apenas em 1828 o farmacologista alemão Johann A. Buchner isolou a salicilina e em 1860, Hermann Kolbe e seus alunos sintetizaram o ácido salicílico. O ácido acetilsalicílico foi descoberto por Felix Hofmann (1898) pesquisando uma forma de amenizar os efeitos colaterais do salicilato de sódio utilizado pelo seu pai que sofria de artrite (VIEGAS JR. *et al.*, 2006).

No Brasil houve influência de culturas africana, indígena e europeia no uso de plantas como tratamento de doenças. Os escravos africanos utilizavam plantas medicinais nos seus rituais religiosos, por suas propriedades farmacológicas empiricamente descobertas. Na cultura indígena os pajés detinham o conhecimento da cura de enfermidades através do uso das ervas locais, tais conhecimentos eram transmitidos e aprimorados a cada geração. Os europeus trouxeram para o Brasil práticas mais refinadas de cura e tratamentos, que aliadas aos conhecimentos indígenas e africanos, tornaram-se extremamente diversificadas. Esse misto de culturas diferentes originou a medicina popular brasileira com características próprias e muito rica. Entre as plantas medicinais utilizadas primeiramente na cultura indígena estão a ipeca, o jaborandi, a carqueja, o guaraná, o taiuiá e a erva-de-bugre. Muitas outras foram trazidas pelos europeus, como a hortelã, a camomila, a malva, o funcho e pelos africanos a erva-guiné e o melão-de-São-Caetano (SIMÕES, 1998; TOMAZZONI *et al.*, 2006).

### ***2.6.2 O uso de plantas medicinais na atualidade***

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2000), 80% da população de países em desenvolvimento utilizam práticas tradicionais na atenção primária à saúde, 85% desse total através do uso de plantas medicinais. No Brasil, apesar de se desconhecer com exatidão o número de pessoas que recorrem as plantas como fonte de medicamentos, sua forma de utilização vai desde o consumo da planta fresca e preparações extemporâneas, até a utilização do fitoterápico (CALIXTO, 2005).

Aproximadamente 48% dos medicamentos empregados na terapêutica moderna origina-se de maneira direta ou indireta de produtos naturais, principalmente de plantas medicinais (BALUNAS; KINGHORN, 2005), sendo estas uma fonte inesgotável de obtenção de fármacos. Ao serem processadas para a obtenção de um

medicamento, tem-se como resultado o medicamento fitoterápico (CARVALHO *et al.*, 2007).

Uma gama de pesquisas reforça a importância da terapêutica dos fitofármacos, sejam fitoterápicos, drogas vegetais ou derivados. A comprovação da eficácia clínica de centenas deles está bem caracterizada em função dos trabalhos de importantes centros de pesquisa, publicados em diversos periódicos especializados em produtos naturais ou de áreas afins (PINTO *et al.*, 2002; CALIXTO, 2005).

A fitoterapia encontra-se em expansão por todo o mundo. Estimativas apontam que só no ano 2000 os produtos a base de plantas medicinais movimentaram cerca de 30 bilhões de dólares (ENGELKE, 2003). Nos Estados Unidos cerca de 25% das prescrições médicas realizadas durante os últimos 25 anos são de medicamentos que contêm princípios ativos tanto de origem natural como semissintética, sendo grande parte oriundos de plantas superiores (angiospermas). A análise de novos fármacos aprovados, no período de 1983 a 1994 pelo “Food and Drug Administration” (FDA), órgão governamental americano responsável pelo controle de medicamentos, indicou que 78% dos novos medicamentos antibacterianos, 68% dos novos anti-inflamatórios, 52% dos anti-hipertensivos e 61% dos antineoplásicos daquele período são de origem natural (NEWMAN *et al.*, 2003).

A floresta tropical brasileira detem quase 1/3 da flora mundial, sendo esta uma grande fonte de biodiversidade, entretanto são os países desenvolvidos, como EUA, Japão e os europeus os que mais manufacturam e comercializam produtos naturais. Daí a importância de órgãos institucionais (universidades, centros de pesquisa e empresas) no desenvolvimento de novos produtos a partir de espécies nativas. Entretanto, no Brasil, o investimento em pesquisa e desenvolvimento no mercado de fitoterápicos ainda é incipiente (KLEIN *et al.*, 2009), mas provavelmente é bem reduzida se comparada aos valores publicados para a Europa e Estados Unidos no ano de 2000, 8,5 e 6,3 bilhões de dólares, respectivamente (SIMÕES; SHENKEL, 2002). Estes valores demonstram um mercado em potencial expansão, se considerarmos a biodiversidade brasileira que apresenta mais de 55 mil espécies descritas (22% do total mundial). Ademais, existe uma grande aceitação de uso de plantas medicinais e conhecimento tradicional por parte da população brasileira (RODRIGUES, 2008). Desse modo, a fitomedicina tem despertado o interesse da comunidade acadêmica e das

indústrias farmacêuticas (nativa e transnacional), a fim de produzir fitoterápicos com comprovada eficácia e segurança, por meio de estudos pré-clínicos e clínicos, com custo bem menor que o desenvolvimento de drogas por síntese química (CALIXTO, 2005; CARVALHO *et al.*, 2007).

### ***2.6.3 Aspectos legais do uso de produtos derivados de plantas medicinais***

Os medicamentos derivados de plantas (fitoterápicos) apresentam a mesma eficácia que os medicamentos produzidos a partir de síntese química, entretanto quando uma planta é utilizada na produção de um medicamento deve-se manter a integridade química de seus princípios ativos. Certamente que essa preservação das propriedades químicas do vegetal é quem vai garantir a permanência da sua ação farmacológica. A produção de fitoterápicos. A produção de Fitoterápicos depende de conhecimentos prévios relativos a aspectos botânicos, agrônômicos, fitoquímicos, farmacológicos e toxicológicos realizados a partir de metodologias analíticas aprimoradas (TOLEDO *et al.*, 2003).

A qualidade de um fitoterápico está diretamente relacionada às condições do local de plantio, processo de coleta, manuseio e processamento da matéria prima. Estas variáveis somadas a complexidade de composição de um vegetal dificultam o controle de qualidades desses medicamentos. A produção do vegetal utilizado deve ser planejada desde o cultivo até a fase de dispensação, o que aliados a um processamento realizado com aplicação das boas práticas de fabricação e de garantia de qualidade favorecem a obtenção de fitoterápicos idôneos. Vale ressaltar que essa garantia da qualidade pode ser obtida através da realização de análises de estabilidade, quantificação de marcadores bioquímicos e concentração mínima de princípios ativos, bem como a avaliação dos aspectos microbiológicos (KLEIN *et al.*, 2009).

A regulamentação e o registro dos fitoterápicos industrializados no Brasil são realizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), órgão federal que registra medicamentos e demais produtos destinados à saúde, intervindo nas atividades de produção, distribuição, comercialização, publicidade, consumo e descarte de medicamentos, além de análises laboratoriais. Um dos objetivos da ANVISA é garantir que a população tenha acesso a medicamentos seguros, com eficácia e qualidade comprovada. Cada registro tem validade de cinco anos, devendo ser renovado

por períodos sucessivos, conforme determinado na Lei nº 6.360/76, que dispõe sobre os produtos submetidos ao controle da Vigilância Sanitária. O registro de fitoterápicos é regulado pela RDC nº 48/04 que detêm as formas de se comprovar segurança e eficácia dos fitoterápicos, incluindo os estudos etnofarmacológicos (CARVALHO *et al.*, 2007).

#### **2.6.4 Plantas com atividade gastroprotetora**

No continente americano, a atividade gastroprotetora foi comprovada em 58 espécies, distribuídas em 37 famílias, entre elas: Turneraceae (2 espécies), Fabaceae (6 espécies), Celastraceae (3 espécies) e Asteraceae (13 espécies), grande parte destas espécies são encontradas no Brasil (FALCÃO *et al.*, 2008).

Diversos trabalhos com plantas medicinais mostram atividade gastroprotetora em modelos de úlcera gástrica induzidos em roedores, é o caso da *Piper nigrum* Linn. (Piperaceae), *Dodonaea viscosa* (Sapindaceae), *Mouriri pusa* (Melastomataceae), *Ficus arnottiana* (Moraceae), *Eruca sativa* L. (Brassicaceae), *Cissampelos mucronata* (Menispermaceae), *Allium sativum* Linn. (Liliaceae), *Keilmeyera coriacea* (Guttiferae), *Terminalia chebula* (Combretaceae), *Garcinia cambogia* (Gaertnaceae) (RANI *et al.*, 2010), *Avicennia alba* (Acanthaceae) (AL-ATTAR, 2011) e *Maytenus icifolia* (Celastraceae) (SILVA *et al.*, 2005).

Os efeitos gastroprotetores foram relacionados a distintos mecanismos de ação, que atuam geralmente em conjunto, como a inibição da secreção ácida gástrica, aumento da produção de muco e bicarbonato, efeito antioxidante, anti-inflamatório e na motilidade do estômago: o extrato da inflorescência de *Senecio brasiliensis*, utilizado em modelos experimentais de úlcera gástrica e duodenal em roedores, mostrou efeito protetor pelo aumento do pH do suco gástrico e diminuição da secreção ácida via indução de síntese de PGs e somatostatina, resultando no incremento do muco e diminuição da atividade das células parietais (TOMA *et al.*, 2004); o extrato hidroalcoólico de *Achyrocline satureoides* tem atividade antiulcerogênica, tanto no modelo induzido por etanol quanto por AINES, também promovendo o incremento da secreção de muco (SANTIN *et al.*, 2010); o extrato etanólico de *Bidens pilosa*, através da diminuição do volume de suco gástrico e inibição da secreção ácida, mostrou atividade gastroprotetora nos modelos de lesão gástrica AINES- e etanol-induzida (ALVAREZ *et al.*, 1999); o extrato metanólico de *Maytenus truncata* mostrou efeito

gastroprotetor, através do aumento do pH (SILVA *et al.*, 2005). Bighetti e colaboradores (2005) demonstraram o efeito antissecretório do extrato hidroalcoólico de *Mikania laevigata* e de uma cumarina isolada do mesmo em modelos experimentais de ulceração gástrica, evidenciando que o mecanismo de ação de ambos relacionava-se ao controle do parassimpático sobre a secreção ácida gástrica.

#### 2.6.4.1 A família *Celastraceae*

*Celastraceae* é uma grande família de plantas lenhosas arbustivas ou arbóreas que abrange 83 gêneros e cerca de 1300 espécies (SPIVEY; WESTON; WOODHEAD, 2002), sendo encontradas em ampla distribuição nos climas tropicais e subtropicais de todo o mundo (BARROSO, 1991; BRUMMIT, 1992; JOLY, 1993). As folhas e a casca do caule de muitas espécies de *Celastraceae* são utilizadas na medicina tradicional por suas propriedades analgésica, antiinflamatória, antiulcerogênica entre outras (CORRÊA, 1984).

Dentre os compostos químicos mais conhecidos encontrados nas espécies da família *Celastraceae* estão os triterpenos pentacíclicos das séries friedelano, oleanano e lupano que possuem comprovada ação antiinflamatória (MARINI-BETOLO, 1974). De acordo com a descrição de Souza e Lorenzi (2008), as celastráceas são:

...Árvores arbustos, ou lianas; folhas alternadas ou opostas, simples, sem estípulas, ou estas rudimentares, margem inteira ou mais frequentemente serrada. Inflorescência cimosa ou menos frequentemente racemosa, às vezes reduzida a única flor ou fascículos; flores não vistosas, bissexuadas ou raramente unissexuadas, actinomorfas, diclamídeas ou muito raramente monoclamídeas; cálice (2-)4-5-mero, dialissépalo ou gamossépalo, prefloração valvar ou imbricada; corola (3-)4-5-mera, dialipétala, prefloração imbricada, raramente valvar ou convoluta; estames (2-)3-5, livres ou unidos entre si, anteras rimosas ou com deiscência transversal (*Hippocratea*, *Salacea*); disco nectarífero geral condpícuo; ovário superior (flores hipóginas ou períginas) ou raramente ínfero, 2-5-locular, placentação axial ou ereta, lóculos bi a plurióvulados, estilete único. Fruto baga, cápsula, drupa ou sâmara. Celestraceae possui distribuição predominantemente tropical e subtropical, incluindo cerca de 50 gêneros e 1000 espécies. No Brasil ocorrem 17 gêneros e aproximadamente 100 espécies, amplamente distribuídas em diversos tipos de vegetação.

Nesta família o gênero *Maytenus* destaca-se por ser o segundo maior gênero (abrange cerca de 270 espécies), sendo encontrado principalmente nas matas e campos (BARROSO,1991; JOLY, 1993). No Brasil foram relatadas cerca de 80 espécies, das quais 16 são endêmicas da Amazônia (JORGE *et al.*, 2004; JOFFILY; VIEIRA 2005).

Efeitos farmacológicos diversos foram demonstrados por divesas espécies do gênero *Maytenus*. *Maytenus aquifolium* apresenta propriedade analgésica e

antiulcerogênica (GONZALEZ *et al.*, 2001; SOUZA-FORMIGONI *et al.*, 1991); sendo a atividade antiulcerogênica também relatada de *M. ilicifolia* (SOUZA-FORMIGONI *et al.*, 1991; JORGE *et al.*, 2004), *M. truncata* (SILVA *et al.*, 2005), e *M. robusta* (ANDRADE *et al.*, 2007).

Quimicamente o gênero *Maytenus* apresenta uma grande variedade de metabólitos bioativos, dentre eles: triterpenoides, alcaloides, flavonoides, catequinas, sesquiterpenos e macrolídeos (ESTEVAM, 2006). Dentre os constituintes fitoquímicos isolados de espécies de *Maytenus*, o grupo dos triterpenos é o que vem apresentando as mais diversas atividades farmacológicas dentre elas: inseticida, antimicrobiana, citotóxica e antiulcerogênica (GONZALEZ *et al.*, 1996; ALVARENGA *et al.*, 1999; NUÑEZ *et al.*, 2005; QUEIROGA *et al.*, 2000; AVILLA, *et al.*, 2000). Embora outros constituintes fitoquímicos também tenham apresentado propriedades terapêuticas, como os sesquiterpenos com atividade anti-*Leishmania tropical* isolados de *M. macrocarpa*, *M. magellanica* e *M. chubutensis* e *M. cuzcoina* (PÉREZ-VICTORIA *et al.*, 1999; KENNEDY *et al.*, 2001; CORTÉS-SELVA *et al.*, 2004); alcalóides sesquiterpênicos piridínicos com atividade inseticida isolados de *M. chiapensis* (NÚÑEZ *et al.*, 2004); e compostos macrolídeos do tipo maitasinóides com atividade citotóxica (PULLEN *et al.*, 2003).

#### 2.6.4.2 *Maytenus rigida*

*Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae), é uma árvore considerada de pequeno porte, popularmente conhecida como “bom-homem”, “bom-nome”, “cabelo de negro”, “casca-grossa”, “chapéu de couro” ou “pau-de-colher”, considerada uma planta nativa do nordeste do Brasil (ANDRADE-LIMA, 1989; ROCHA *et al.*, 2004; AGRA *et al.*, 2007). Esta espécie pode ser encontrada em distintas formações vegetais (Mata Atlântica, Mata de Altitude, Campo Rupestre), com predominância na vegetação de Caatinga. No Brasil existem registros para os estados do Rio Grande do Norte, Piauí, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia, Maranhão, Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Rio de Janeiro (ROCHA *et al.*, 2004).

Espécimes de *M. rigida* podem ser encontradas em aglomerados ou isoladas, sendo de fácil reconhecimento por suas folhas verde-escuro contrastando com o cinza do seu caule. Mantém a folhagem na época de estiagem, só a perdendo no rigor da seca mais intensa (ANDRADE-LIMA, 1989).

Segundo Carvalho-Okano (1992, p. 253):

...Esta espécie caracteriza-se por ser um arbusto ou árvore até 8 m altura, com ramos providos de muitas lenticelas, folhas subsésseis, providas espinhos curtos e fruto capsular, bivalvar, de cor alaranjada. Sua distribuição está inserida principalmente na área de Caatinga, com destaque para os Estados da Bahia e Pernambuco.

A casca do caule é utilizada em infusão, chá ou diretamente mastigada na medicina popular para o tratamento das doenças inflamatórias, desordens gastrointestinais como diarreia, desintéria e úlceras, problemas renais, hipertensão, impotência sexual, reumatismo e por apresentar propriedades hepatoprotetoras (CARRICONDE, 2004; ALMEIDA *et al.*, 2005). Suas folhas são utilizadas topicamente na cicatrização, problemas dermatológicos, e em especial na *Tinea pedis* (frieira) (ANDRADE-LIMA *et al.*, 1979).

Estevam (2006) realizou um estudo fitoquímico comparativo da entrecasca e folhas de *M. rigida* utilizando o extrato aquoso, o etanólico e suas frações. Os resultados obtidos revelaram que tanto o EA das folhas e entrecasca, bem como o extrato hidroalcoólico (EHA) das folhas e entrecasca apresentam os mesmos grupos químicos a seguir: triterpenos, catequinas, esteroides, flavononóis, flavonoides, fenóis, quinonas e saponinas. Os resultados diferiram quanto a presença de poucos grupos químicos como: antocianidinas e antocianinas foram encontradas em ambos os extratos da entrecasca; os flavonóis e leucoantocianidinas não foram encontrados no EHA das folhas; os taninos foram encontrados em ambos EHA; as Xantonas apenas no EHA das folhas e por fim os heterosídeos cianogênicos apenas o EA da entrecasca.

Estudos farmacológicos realizados a partir de extratos obtidos da casca do caule de *M. rigida* demonstraram atividade antinociceptiva, anti-inflamatória, antidiarréica, antiespasmódicas e antiulcerogênica (SANTOS *et al.*, 2007; DIAS *et al.*, 2007; MEDEIROS *et al.*, 2012). Além disso, foi demonstrada atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato etanólico bruto da entrecasca do caule da referida espécie (ESTEVAM *et al.*, 2009).



**Figura 7** Ilustração da árvore de *Maytenus rigida* (A). Observam-se as colorações cinza do caule e verde-escura das folhas (B).

Fonte: Adaptado de <http://www.flickr.com/photos/egbertoaraujo/3875322094/>. Acesso em: 27/02/2013.  
(B) Foto obtida pela autora, na cidade de São José do Belmonte–PE.

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 Geral

Investigar o efeito gastroprotetor do extrato aquoso obtido das folhas de *M. rigida* em modelo experimental de lesão gástrica induzida por etanol e os possíveis mecanismos de ação envolvidos.

### 3.2 Específicos:

- Investigar o efeito gastroprotetor do extrato aquoso no modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto;
- Investigar o envolvimento dos receptores opioides e  $\alpha$ 2-adrenérgicos no efeito gastroprotetor do extrato aquoso em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol;
- Investigar a participação do óxido nítrico e das prostaglandinas no efeito gastroprotetor do extrato aquoso em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Animais**

Camundongos suíços machos (25–30 g) foram mantidos a  $22 \pm 2$  °C sob um ciclo de claro/escuro de 12/12 h, com água e comida *ad libitum*. Os animais foram mantidos em jejum de 18–24 h antes do início dos experimentos. Todos os esforços foram feitos para minimizar o sofrimento e a quantidade de animais utilizados. Todos os tratamentos e procedimentos cirúrgicos foram realizados de acordo com o “Manual Prático Sobre Usos e Cuidados Éticos de Animais de Laboratório” da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL). Todos os experimentos estiveram de acordo com as Diretrizes para Cuidados e Usos de Animais de Laboratório e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEPE), da Universidade Federal de Pernambuco (processo nº 23076009313/2003-04).

### **4.2 Material vegetal e preparação do extrato**

Partes aéreas (folhas) de *M. rigida* foram coletadas em 28 de maio de 2011 no município de São José do Belmonte, Pernambuco, Brasil (longitude -7° 37' 19,22" e latitude -7° 59' 41,74", altitude 486m). Após autenticação dos espécimes, feita pelo Dr. Elnatan Bezerra de Souza, da Universidade Estadual Vale do Acaraú, uma exsicata (protocolo nº 16485) foi depositada no Herbário da Universidade do Vale do Acaraú (Sobral, Ceará, Brasil).

Foram pesadas 250g de folhas da planta, adicionado 1000 mL de água destilada e triturados em liquidificador. A solução foi filtrada e liofilizada até a secagem e novamente refrigerada. O rendimento obtido do EA liofilizado foi de 6,5%. Uma diluição fresca do extrato seco em solução salina (0,9 % NaCl) foi preparada no dia dos experimentos e administrada via oral ou intraperitoneal, em diferentes doses.

### **4.3 Drogas e reagentes**

Ranitidina foi adquirida da Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A. (Guarulhos, SP, Brasil). Morfina e naloxona foram obtidas da Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA (Itapira, SP, Brasil). Clonidina foi comprada da Boehringer Ingelheim do Brasil Química e Farmacêutica Ltda. (Itapeverica da Serra, SP, Brasil). Ioimbina foi comprada da Apsen Farmacêutica (Santo Amaro, SP, Brasil), indometacina, hidrocloreto de N $\omega$ -nitro-L-

arginina metil éster (L-NAME) e o hidrocloreto de L-arginina metil éster (L-Arg) foram obtidos da Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Etanol e formaldeído foram obtidos da Vetec Química Fina Ltda. (Duque de Caxias, RJ, Brasil). O misoprostol foi comprado da Biolab Searle (Independência, SP, Brasil). Todas as drogas, foram solubilizadas em solução 0,9% de NaCl estéril (salina). Todos os reagentes químicos utilizados foram de grau analítico.

#### **4.4 Úlcera gástrica induzida por etanol**

O dano gástrico foi induzido pela administração de etanol 99,9% (0,2 ml/animal) em camundongos submetidos a jejum de 24 h. Os animais (n = 6/grupo) foram pré-tratados com extrato aquoso de *M. rigida* (EA) (100, 200 ou 400 mg/kg, p.o.), ranitidina (80 mg/kg, p.o.) ou salina (5ml/kg, p.o.) 1 h antes da administração do etanol. Um grupo adicional não-tratado consistiu de camundongos que receberam apenas salina po via oral. Os animais foram eutanasiados por tração cervical 30 min após o procedimento lesivo. Os estômagos foram removidos e abertos ao longo da grande curvatura, lavados em solução salina, fixados entre placas de petri e fotografados (Sony Cyber-shot Dsc-h2) em resolução de 72 dpi (2816 x 2112 pixels). Lesões hemorrágicas ou ulcerativas foram medidas e comparadas à área total de cada estômago através do programa de planimetria computadorizada ImageJ (National Institutes of Health, 9000 Rockville Pike, Bethesda, Maryland, USA).

#### **4.5 Análise histopatológica**

A porção glandular dos estômagos foi fixada em formalina tamponada 10% durante 24h, sendo, depois, embebida em parafina. Secções de 4µm de espessura forma desparafinizadas, coradas em hematoxilina-eosina (H&E), e examinadas em microscópio óptico. Os espécimes foram avaliados de acordo com os critérios de Laine (1998). Segmentos de 1cm de cada secção histológicas foram avaliados para perda de células epiteliais (score: 0-3), edema na mucosa (score: 0-4), hemorragia (score: 0-4), e presença de células inflamatórias (score: 0-3).

#### **4.6 Buscando o mecanismo de ação**

#### ***4.6.1 Papel do óxido nítrico (NO) na gastroproteção do EA***

Camundongos (6/grupo) receberam EA (200 mg/kg, p.o., ou 400 mg/Kg), L-Arg (600mg/kg, i.p.), ou salina (5ml/kg, p.o.). O dano etanólico foi induzido 1 h após os tratamentos com EA ou salina, e 30 min após administração de L-Arg. O L-NAME (20 mg/kg, i.p.), um inibidor não-específico da óxido nítrico sintase (NOS), foi administrado 15 minutos antes dos tratamentos acima descritos. Os animais foram eutanasiados 30 min após administração do etanol, e os estômagos removidos e avaliados conforme descrito anteriormente.

#### ***4.6.2 Papel das prostaglandinas na gastroproteção do EA***

Camundongos (6/grupo) foram tratados com EA (400 mg/kg, p.o.), misoprostol (50 mg/kg, p.o.), ou salina (5 ml/kg, p.o.) 1 h antes da indução do dano etanólico. Indometacina (10 mg/kg, p.o.) foi administrada 2 h antes do EA, misoprostol, ou salina. Após 30 min, os animais foram eutanasiados e tiveram seus estômagos avaliados como previamente descrito.

#### ***4.6.3 Envolvimento de receptores opioides na gastroproteção do EA***

Camundongos (6/grupo) foram tratados com morfina (5 mg/kg, s.c.), EA (200 mg/Kg ou 400 mg/kg, p.o.) ou salina (5 ml/kg, p.o.). O dano etanólico foi induzido 1 h após o tratamento com o extrato ou salina, e 30 min após administração de morfina. A participação de receptores opioides foi avaliada pela administração de naloxona (2mg/kg, i.p.) 15 min antes dos tratamentos acima descritos. Os estômagos foram analisados como previamente descrito.

#### ***4.6.4 Envolvimento dos receptores $\alpha$ -2-adrenérgicos na gastroproteção do EA***

O envolvimento de receptores  $\alpha$ -2-adrenérgicos foi avaliado pela administração de ioimbina (2mg/kg, s.c.) em camundongos (6/grupo) 20 min antes da administração de EA (200mg/Kg ou 400 mg/kg, p.o.), clonidina (80 mg/kg, p.o.), ou salina (5 ml/kg, p.o.). O dano etanólico foi promovido 1 h após estes tratamentos. Os animais foram eutanasiados 30 min após a administração do etanol e analisados conforme já descrito.

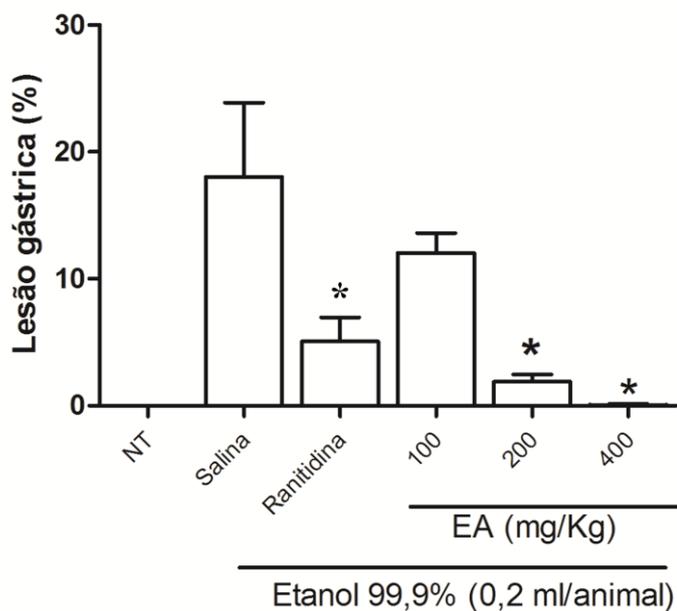
#### **4.7 Análises estatísticas**

Todos os valores foram expressos como média  $\pm$  EPM. Para a área ulcerativa/hemorrágica, a ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações foram utilizados. A análise histopatológica utilizou o teste de Kruskal–Wallis para dados não paramétricos, seguido pelo teste de Dunn para múltiplas comparações. As diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Efeito protetor do extrato aquoso das folhas de *Maytenus rigida* na lesão gástrica induzida por etanol

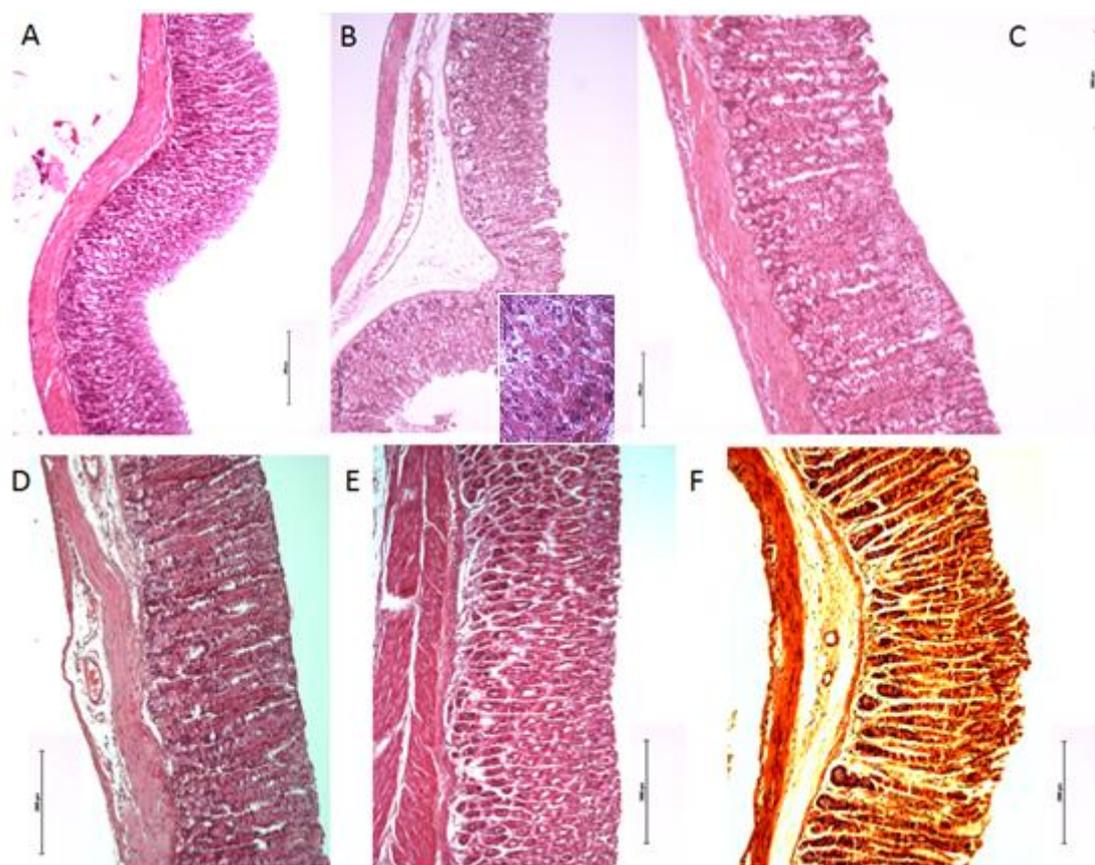
A administração de etanol (0,2 ml/camundongo) produziu estriações hemorrágicas agudas na mucosa gástrica. O EA (200 ou 400 mg/kg) reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) a área percentual de lesões gástricas em comparação ao grupo salina ( $1,9 \pm 0,5$  e  $0,06 \pm 0,06$  versus  $18 \pm 5,8$  área lesada %). Este efeito não foi diferente do exercido pela ranitidina ( $5,06 \pm 1,8$  versus  $18 \pm 5,8$  área lesada %) (**Figura 8**).



**Figura 8 – Efeito do EA na gastropatia induzida por etanol.** Os camundongos foram tratados oralmente com salina, ranitidina ou EA. Após 60 min, etanol absoluto (0,2 ml por animal) foi administrado por gavagem. O grupo controle foi tratado com salina. O dano gástrico foi quantificado após 30 min. Os resultados são expressos como média  $\pm$  EPM para cada grupo de seis camundongos. \* $p < 0,05$  em relação ao grupo etanol+salina. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações.

## 5.2 Estudo histopatológico das mucosas gástricas de animais submetidos à indução de úlceras gástricas por etanol

A **Figura 9** e a **Tabela 1** demonstram a capacidade do etanol em induzir um alto grau de perda de células epiteliais e edema, assim como a formação de hemorragia no tecido gástrico. Nos animais que receberam o EA (200 ou 400 mg/kg), a perda de células epiteliais e a formação de hemorragia foram significativamente reduzidas ( $p < 0,05$ ). A formação de edema, entretanto, ocorreu de maneira semelhante quando comparado ao grupo que recebeu etanol e salina.



**Figura 9** – Fotomicrografias da mucosa gástrica (100x) de camundongos submetidos à indução de lesões por etanol absoluto. A. Salina; B. Etanol + Salina, mostrando rompimento da região superficial glandular, com perda epitelial, hemorragia intensa (detalhe ampliado 400x) e edema no conjuntivo adjacente; C. Etanol + ranitidina; D. Etanol + EA (100 mg/kg, p.o.); E. Etanol + EA (200 mg/kg, p.o.); F. Etanol + EA (400 mg/kg, p.o.). D, E e F apresentam preservação quase completa das características morfológicas da mucosa, exceto quanto a formação de edema, que foi bastante acentuada.

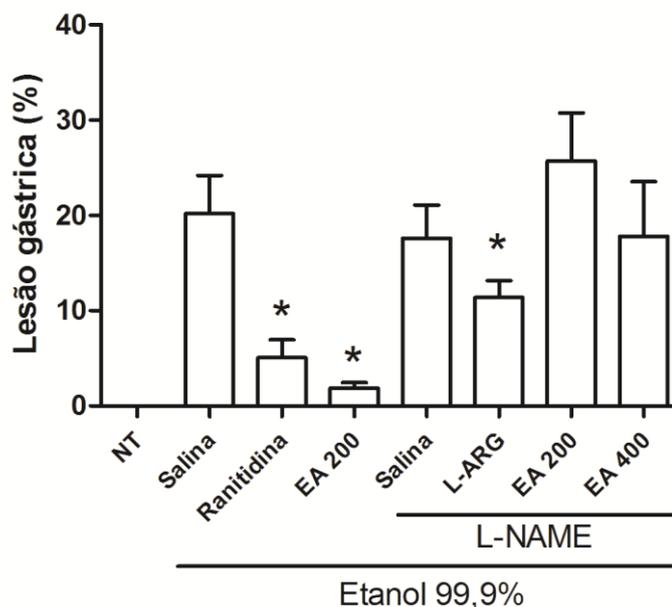
**Tabela 1 – Efeito protetor do extrato aquoso de *Maytenus rigida* (EA) sobre o aspecto microscópico das lesões gástricas induzidas pelo etanol.**

Grupo experimental (n = 6)	Hemorragia (escore 0 – 4)	Edema (escore 0 – 4)	Perda de células epiteliais (escore 0 – 3)
Salina	0	0	0
Etanol + Salina	2 (0 – 4)	2 (2 – 4)	3 (2 – 4)*
Etanol + Ranitidina (80	0 (0 – 1)*	0 (0 – 2)*	1 (0 – 3)*
Etanol + EA (100) mg/kg)	0 (0 – 3)*	2 (0 – 2)	1,5 (0 – 2)*
Etanol + EA (200) mg/kg)	0 (0 – 1)*	2 (0 – 3)*	2 (1 – 3)*
Etanol + EA (400) mg/kg)	0 (0 – 0)*	2 (0 – 3)	1,5 (1 – 3)*

A tabela mostra valores de mediana seguidos por escores máximo e mínimo entre parênteses. Teste não paramétrico de Kruskal–Wallis seguido do teste de Dunn \*  $p < 0,05$  comparado ao grupo etanol+salina.

### 5.3 Envolvimento do NO na gastroproteção do EA

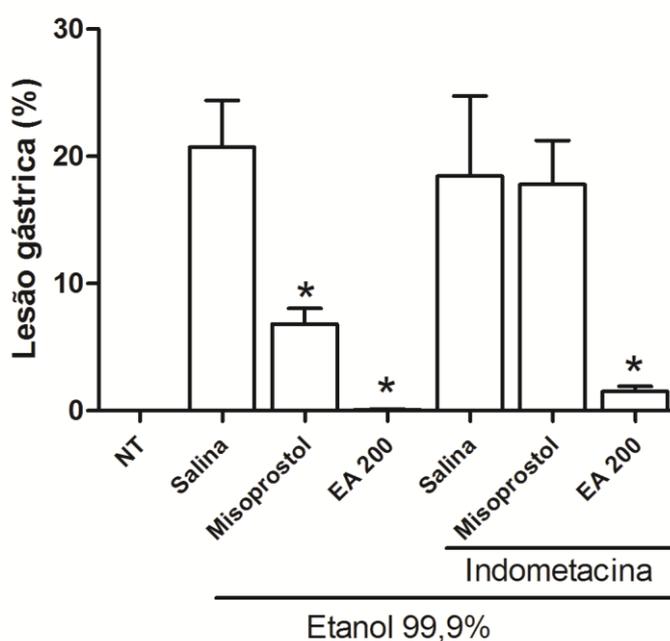
A gastropatia induzida por etanol foi prevertida pelo tratamento com ranitidina. A administração simultânea de etanol e L-NAME (20 mg/kg, i.p.) produziu dano hemorrágico que foi revertido pela injeção de L-Arg (600 mg/kg, i.p.). O EA (200 mg/kg) reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) a área lesada na ausência da ferramenta farmacológica ( $1,9 \pm 0,5$  versus  $20,1 \pm 4$ ), mas o efeito foi revertido pelo prévio tratamento com L-NAME ( $1,9 \pm 0,5$  versus  $25,7 \pm 5$ ) (**Figura 10**).



**Figura 10 - Envolvimento do NO na gastroproteção do EA em modelo de gastropatia induzida por etanol.** Os animais foram tratados por via oral com salina (Sal), L-Arg (600 mg/kg) ou EA (400 mg/kg). Uma segunda série com administração prévia de L-NAME (20 mg/kg) foi utilizada para avaliar a possibilidade da participação do NO no efeito do EHA. Os resultados estão expressos como média±EPM para cada grupo de seis animais. \*  $p < 0,05$  em relação ao grupo etanol+salina. #  $p < 0,05$  em relação ao grupo etanol+L-NAME+salina. ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações.

#### 5.4 Papel das prostaglandinas na gastroproteção do EA

O efeito protetor do misoprostol (50 mg/kg, p.o.) na gastropatia induzida por etanol foi revertido pela administração de indometacina (10 mg/kg, p.o.). O dano induzido por etanol, na presença ou ausência de indometacina, foi significativamente reduzido ( $p < 0,05$ ) pelo tratamento com EA (200 mg/kg) ( $20,7 \pm 3,6$  versus  $4,9 \pm 1,2$  e  $24,7 \pm 2,8$  versus  $5,2 \pm 2,2$  área lesada %, respectivamente) (Figura 11).

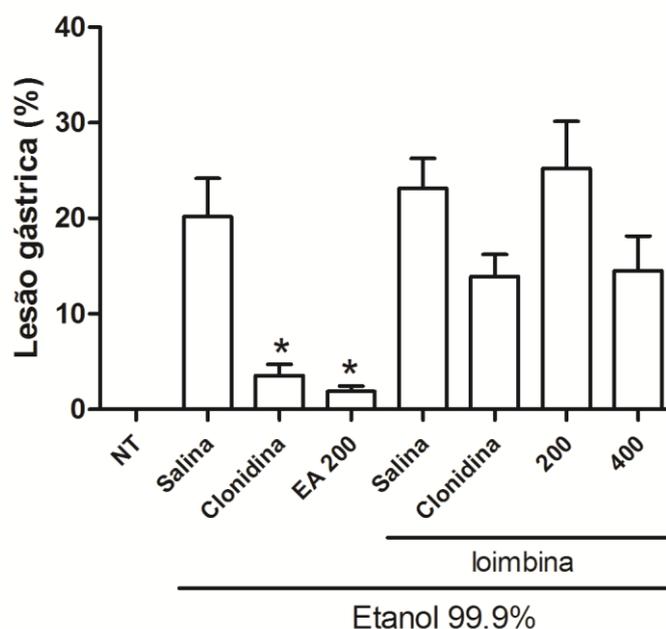


**Figura 11 – Ausência de envolvimento de prostaglandinas na gastroproteção do EA em modelo de gastropatia induzida por etanol.** Os camundongos receberam por via oral salina (Sal), misoprostol (50 mg/kg) ou EA (200 mg/kg). Uma segunda série experimental utilizando indometacina (10 mg/kg) como pré-tratamento foi utilizada para avaliar a participação de prostaglandinas no efeito do EA. Os resultados estão expressos como média±EPM para cada grupo de seis animais. \*  $p < 0,05$  em relação ao grupo etanol+salina. #  $p < 0,05$  em relação ao grupo etanol+indometacina+salina. ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações.



## 5.6 Envolvimento dos receptores $\alpha$ -2-adrenérgicos na gastroproteção do EA

O pré-tratamento com clonidina (80 mg/kg, p.o.) protegeu de forma significativa ( $p < 0,05$ ) os estômagos dos camundongos contra o efeito do etanol ( $3,5 \pm 1,1$  versus  $20,1 \pm 4$  área lesada %). O pré-tratamento com ioimbina (2 mg/kg, s.c.) reverteu os efeitos protetores da clonidina e do EA (200 mg/kg) ( $13,9 \pm 2,3$  versus  $3,5 \pm 1,1$ ,  $32 \pm 5,3$  e  $1,9 \pm 2,5$  área lesada %, respectivamente) (Figura 13).



**Figura 13. Participação de receptores  $\alpha$ -2-adrenérgicos na gastroproteção exercida pelo EA em modelo de gastropatia induzida por etanol.** Os camundongos foram tratados por via oral com salina, clonidina (80 mg/kg) ou EA (200 mg/kg). O pré-tratamento com ioimbina (2 mg/kg) preveniu a gastroproteção do EA (200 mg/kg). Os resultados estão expressos como média±EPM para cada grupo de seis animais. \*  $p < 0,05$  em relação ao grupo etanol+salina. #  $p < 0,05$  em relação ao grupo etanol+ioimbina+salina. ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações.

## 6 DISCUSSÃO

Este trabalho explorou as propriedades gastroprotetoras do extrato aquoso (EA) das folhas de *aytenus. rigida* (Celastraceae) em camundongos, utilizando o modelo de úlcera gástrica induzida por etanol, um dos modelos mais utilizados na avaliação de atividades antiulcerogênicas em animais (PANDIAN, *et al.*, 2002).

Na medicina tradicional as folhas de *M. rígida* são empregadas, através de uso tópico, para acelerar o processo de cicatrização, problemas dermatológicos, e em especial na *Tinea pedis* (frieira) (ANDRADE-LIMA *et al.*, 1979). Estudos farmacológicos de folhas de *M. rígida* ainda não foram relatados até o momento. Entretanto, extratos obtidos a partir de folhas de outras espécies do mesmo gênero (*M. truncata*, *M. aquifolium*, *M. icifolia* e *M. robusta*) apresentam efeito gastroprotetor em modelos experimentais que utilizam o etanol como agente agressor (SILVA, *et al.*, 2005; SOUZA-FORMIGONI *et al.*, 1991; ANDRADE *et al.*, 2007).

O estudo farmacológico do extrato etanólico (EEOH) da casca de *M. rigida* realizado por Santos e colaboradores (2007) já comprovara seu efeito antiulcerogênico no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol em camundongos. O extrato aquoso obtido das folhas utilizados no atual trabalho apresentou a mesma atividade gastroprotetora. Neste caso, o uso de folhas, ao invés da casca, é considerado uma alternativa de menor impacto ambiental, visto que a retirada das cascas do caule pode comprometer o transporte de nutrientes e seiva, provocando descontrole de processos vitais do vegetal, como crescimento e reprodução (CARMO *et al.*, 2010). Além disso, a comparação dos constituintes fitoquímicos dos extratos aquoso e etanólico das folhas e cascas de *M. rígida* apresentou apenas pequena variação entre os grupos químicos encontrados. Em todos os extratos foram detectadas a presença de triterpenos, flavonoides, compostos fenólicos e catequinas. (ESTEVAM, 2006). O efeito antiulcerogênico de espécies de *Maytenus* tem sido atribuído aos triterpenos e flavonoides (VILLEGAS *et al.*, 1994; NIERO, 2001; LEITE *et al.*, 2001; GONZALES *et al.*, 2001), outrossim, flavonoides e catequinas apresentam ação antioxidante (LARSON, 1998), provavelmente contribuindo para o efeito gastroprotetor.

A toxicidade aguda de extratos de *M. rígida* já foi previamente investigada (Santos *et al.*, 2007), em doses tão altas quanto 5000 mg/Kg (p.o.) e 2000 mg/Kg (i.p.), não sendo registrados, naquele trabalho, sinais deletérios ou mortalidade, sugerindo segurança para o seu consumo, tornando também desnecessária a realização de novo teste de toxicidade aguda.

A ingestão de etanol caracteriza-se pelo desenvolvimento de lesões gástricas em seres humanos (LAINE; WEINSTEIN, 1988). O álcool promove depleção do muco protetor deixando a mucosa exposta à ação proteolítica do suco gástrico e rompimento dos vasos sanguíneos que irrigam a mucosa (OATES; HAKKINEN, 1998), promovendo o aparecimento de múltiplas bandas hemorrágicas distribuídas ao longo eixo da porção glandular do estômago (MINCIS *et al.*, 1995). Os danos causados pelo etanol estão ligados à produção de radicais livres de oxigênio (MUTOH *et al.*, 1990), liberação de mediadores inflamatórios, indução de vasoconstrição e isquemia, seguidos de morte celular (SZABO *et al.*, 1985).

A redução significativa de lesões gástricas observada em nosso trabalho evidencia a atividade gastroprotetora do EA. Quando comparadas às áreas lesionadas dos estômagos dos animais que receberam etanol absoluto, os estômagos dos animais tratados com EA mostraram uma drástica redução da área de lesão percentual a partir da dose de 200 mg/kg (p.o.). Os resultados também evidenciaram um efeito dose-dependente, tendo em vista que com o aumento da dose seguiu-se o aumento da proteção.

Histologicamente, nossos resultados demonstraram que o etanol absoluto provocou hemorragia, edema, perda de células epiteliais e desarranjo na mucosa como já esperado de acordo com trabalhos anteriores (SILVA *et al.* 2012; SLOMIANY *et al.*, 1979; TRIOS *et al.*, 2010). Não foi observado infiltrado de células inflamatórias nas camadas da mucosa provavelmente devido ao curto período de tempo decorrido entre a administração do etanol e a eutanásia dos animais para retirada do estômago (30 min). O EA diminuiu, de maneira significativa, o aparecimento de hemorragia e a perda de células epiteliais, mas não reduziu a formação de edema.

Baseados nestes resultados, decidimos utilizar a menor dose (200 mg/kg) de EA que apresentou efeito significativo para tentar elucidar o possível mecanismo de ação subjacente a essa propriedade protetora.

O óxido nítrico é um potente vasodilatador que promove um fluxo sanguíneo adequado e exibe muitas das mesmas funções das PGs no TGI, incluindo estimulação da secreção de muco, promovendo cicatrização e manutenção do fluxo sanguíneo da mucosa (Wallace, 2006; Tulassay and Herszeényi, 2010). Nosso estudo demonstrou que a proteção do EA depende diretamente da geração de NO, tendo em vista que seu efeito protetor, neste modelo, foi revertido pelo o pré-tratamento com o L-NAME (inibidor da síntese de NO).

Bucci e colaboradores (2004) demonstraram que o óxido nítrico derivado da NOSe tem um importante papel no aumento da permeabilidade vascular na fase aguda da inflamação. Pode-se considerar, portanto, que possivelmente existe ligação entre a produção de NO relacionada ao EA e a manutenção do edema demonstrado na análise histológica nos animais tratados. Entretanto, o efeito vasodilatador do NO é fator determinante no mecanismo gastroprotetor em questão.

As PGs fazem parte de uma classe de mediadores produzidos pelas enzimas ciclooxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2) e apresentam papel importante no trato gastrointestinal. A ação gastroprotetora das prostaglandinas está ligada à estimulação da secreção de muco e bicarbonato no estômago, que promove manutenção de um gradiente de pH ótimo na superfície da mucosa. Os efeitos benéficos dos análogos de prostaglandinas, como o misoprostol (análogo da PGE1) em seres humanos foram observados em doses que produzem inibição significativa da secreção ácida gástrica (WALLACE, 2008; PALILEO; KAUNITZ, 2011). Nossos resultados mostraram que a proteção exercida pelo EA ocorre independentemente da administração de indometacina (inibidor dual de COX-1 e COX-2). Além disso, a proteção do EA foi similar à observada para o grupo que recebeu misoprostol. Este fato indica que o mecanismo de ação do EA provavelmente independe da produção de PGs.

Opioides exercem efeito protetor no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol e tanto receptores mu quanto delta parecem estar envolvidos nesta atividade (GYIRES et al., 2000). Estes receptores podem ser ativados na presença de mediadores opioides endógenos ou exógenos como morfina e derivados. A ativação dos receptores  $\mu$ -opioides no TGI inibe a liberação de acetilcolina, reduzindo a contratilidade da musculatura lisa (GELMAN, 2010). A ativação de ambos os receptores mu e delta está relacionada a uma maior produção de óxido nítrico e prostaglandinas, no modelo de lesões induzidas pelo etanol (GYIRES et al., 2001). Em nosso estudo, o efeito protetor exercido tanto pela morfina como pelo EA foi prontamente revertido pelo antagonista opioide não-seletivo naloxona, sugerindo a ação de receptores opióides na proteção da mucosa gástrica exercida pelo EA contra os danos induzidos pelo etanol.

Os receptores  $\alpha$ -2-adrenérgicos centrais e periféricos promovem inibição da secreção ácida gástrica, da motilidade e do trânsito gastrointestinal. O mecanismos de ação centrais ainda permanecem obscuros, mas, em nível periférico, foi demonstrado que

receptores  $\alpha$ -2-adrenérgicos pré-sinápticos dos terminais colinérgicos do nervo vago modulam a secreção gástrica através da inibição da liberação de acetilcolina (BLANDIZZI *et al.*, 1995). A acetilcolina, liberada de neurônios pós-ganglionares, estimula diretamente a célula parietal via receptores muscarínicos tipo M3. Este processo está acoplado à ativação de fosfolipase C, com geração de trifosfato de inositol e aumento da concentração de cálcio intracelular, culminando com a secreção ácida (SCHUBERT, 2009). A acetilcolina também age indiretamente pela ativação de receptores muscarínicos tipos M2 e M4 presentes na superfície das células D das glândulas gástricas, inibindo a secreção de somatostatina e, desta forma, reduzindo a interferência inibitória tônica exercida por este peptídeo sobre as células parietais. A redução da liberação de acetilcolina provoca uma redução da motilidade do músculo liso do TGI (SILVA *et al.*, 2012). Nossos resultados mostraram que a administração prévia de ioimbina, antagonista de receptores  $\alpha$ -2-adrenérgicos, inibiu o efeito gastroprotetor do EA, sugerindo o envolvimento destes receptores no seu mecanismo de ação gastroprotetora.

A inibição motora do estômago  $\alpha$ -2-induzida também contribui para o efeito protetor da mucosa gástrica. A diminuição das contrações gástricas de alta amplitude reduziu a possibilidade de aparecimento de distúrbios microvasculares na mucosa, pela compressão da parede gástrica (GYIRES *et al.*, 2009). Este efeito, embora não tenha sido objeto do atual estudo, poderia também estar envolvido na gastroproteção.

Nossos resultados suportam a idéia de que o efeito gastroprotetor do EA provavelmente é uma combinação de ativação de receptores opióides, com consequente produção de NO no endotélio da vasculatura da mucosa, promovendo um aumento do fluxo sanguíneo regional e aumento da produção de muco, associado à inibição da secreção de ACh promovida por receptores tipo mu, com consequente diminuição da produção de ácido clorídrico. O aumento do fluxo sanguíneo regional é relacionado ao maior aporte de nutrientes e à remoção de metabólitos tóxicos e radicais livres, o que contribuiria para o efeito protetor. O efeito inibidor da secreção de ACh também é exercido pela ativação dos receptores  $\alpha$ -2-adrenérgicos nas terminações nervosas vagais, com diminuição da motilidade gástrica e da secreção do suco gástrico, eventos de provável importância na gastroproteção.

## 7 CONCLUSÕES

- ✓ O extrato aquoso obtido das folhas de *M. rigida* Mart apresenta atividade gastroprotetora, verificada pela redução da área lesionada pela administração de etanol absoluto, quando comparada ao grupo que recebeu apenas solução salina.
- ✓ O mecanismo de ação envolvido na atividade gastroprotetora está relacionado com a atividade de receptores opioides, adrenoceptores- $\alpha$ -2 e com o aumento da produção de óxido nítrico, mas não envolve a síntese de prostaglandinas.
- ✓ O extrato aquoso de *M. rigida* mostra-se forte candidato à pesquisa clínica no desenvolvimento de alternativas terapêuticas para gastrite e outras afecções do TGI.

## REFERÊNCIAS

- ABDULLA, M. A.; AL-BAYATY, F. H.; YOUNIS, L. T.; HASSAN, M. I. A. Anti-ulcer activity of *Centella asiatica* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 13, p. 1253-1259, 2010.
- AGRA M. F., FRANÇA P. F., BARBOSA-FILHO J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, p. 114-140, 2007.
- AKERELE, O. Summary of World Health Organization guidelines for the assessment of herbal medicines. **Herbalgram**. v. 28, p.13-16. 1993.
- AL-ATTAR, A. M. Protective effect of *Avicennia alba* leaves extract on gastric mucosal damage induced by ethanol. **Research Journal of Medicinal Plant**, v. 5, n. 4, p. 477-490, 2011.
- ALDERTON, W. K.; COOPER, C. E.; KNOWLES, R. G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. **Biochemical Journal**, v. 357, p. 593-615, 2001.
- AL-MAJED, A. A.; AL-YAHYA, A. A.; AL-BEKAIRI, A. M.; AL-SHABANAH, O. A.; QURESHI, S. Reproductive, cytological and biochemical toxicity of Yohimbe in male Swiss albino mice. **Asian Journal of Andrology**, v. 8, n. 4, p. 469-476, 2006.
- ALMEIDA, C. F. C. B. R.; SILVA, T. C. L.; AMORIM, E. L. C.; MAIA, M. B. S.; ALBUQUERQUE, U. P. Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil). **Journal of Arid Environments**, v. 62, p. 127-142, 2005.
- ALVARENGA, N. L.; VELÁZQUEZ, C. A.; GÓMEZ, R.; CANELA, N. J.; BAZZOCCHI, I. L.; FERRO, E. A. A new antibiotic nortriterpene quinone methide from *Maytenus catingarum*. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 5, p. 750-751, May. 1999
- ALVAREZ, A.; POMAR, F.; SEVILLA, 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.
- ALVAREZ, A.; POMAR, F.; SEVILLA, 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.
- ANDERSSON, K. E. Pharmacology of penile erection. **Pharmacological Reviews**, v. 53, n.3, p. 417-450, 2001.
- ANDRADE, S. F.; LEMOS, M.; COMUNELLO, E.; NOLDIN, V. F.; FILHO, V. C.; NIERO, R. Evaluation of the antiulcerogenic activity of *Maytenus robusta* (Celastraceae) in different experimental ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology**, v.113, p. 252-257, 2007.
- ANDRADE-LIMA, D. A.; FONSECA, M. R.; SOUZA, G. V.; BARRETO, A. C. C. Reconhecimento preliminar das diversas fâcies de caatinga do noroeste do estado de Sergipe. **Revista da Universidade Federal de Sergipe**, v.1, p. 115-120, 1979.

ANDRADE-LIMA, D. **Plantas das Caatingas**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1989.

AVILLA, J.; TEIXIDÒ, A.; VELASQUÈZ, C.; ALVARENGA, N.; FERRO, E.; CANELA, R. J. Insecticidal activity of *Maytenus* species (Celastraceae) nortriterpene quinone methides against codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Agricultural Food Chemistry** v. 48, p. 88-92, 2000.

BACCHI, E. M. Ação anti-úlceras e cicatrizante de algumas plantas brasileiras. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, n. 1, p. 93-100, 1986.

BALUNAS, M. J.; KINGHORN, A. D. Drug Discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, v. 78, p. 431-441, 2005.

BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v.2, Viçosa: Imprensa Universitária, 1991.

BAZZOCCHI, I. L.; PARDO, L.; GAMARRO, F.; RAVELO, A. G. SAR Studies of Dihydro- $\beta$ -agarofuran Sesquiterpenes as Inhibitors of the Multidrug-Resistance Phenotype in a *Leishmania tropica* Line Overexpressing a P-Glycoprotein-Like Transporter. **Journal of**

BELAICHE, J.; BURETTE, A.; DE-VOS, M.; LOUIS, E.; HUYBRECHTS, M.; DELTENRE, M. Study group of NSAID-GI complications. Observational survey of NSAID related upper gastro-intestinal adverse events in Belgium. **Acta Gastroenterology Belgium**, v. 65, p. 65-73, 2002.

BERG, A.; REDEEN, S.; ERICSON, A. C.; SJOSTRAND, S. E. Nitric oxide—an endogenous inhibitor of gastric acid secretion in isolated human gastric glands. **BMC Gastroenterology**, v. 4, p. 16, 2004.

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

BIGHETTI, A. E.; ANTÔNIO, M. A.; KOHN, L. K.; REHDER, V. L. G.; FOGLIO, M. A.; POSSENTI, A.; VILELA, L.; CARVALHO J. E. Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract and coumarin isolated from *Mikania laevigata* Schultz Bip. **Phytomedicine**, v. 12, p. 72-77, 2005.

BLANDIZZI, C.; NATALE, G.; COLUCCI, R.; CARIGNANI, D.; LAZZERI, G.; DEL TACCA, M. Characterization of  $\alpha$ 2-adrenoceptor subtypes involved in the modulation of gastric acid secretion. **European Journal of Pharmacology**, v. 278, p. 179-182, 1995.

BODE, C.; BODE, J. C. Alcohol's Role in Gastrointestinal Tract Disorders. **Alcohol Health & Research World**, v. 21, n. 1, p. 76-83, 1997.

BRUMMIT, R. F. Vascular plant families and genera. Royal Botanic Gardens Kew, London, 1992.

- BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P.C.; KONTUREK, S.J.; BRZOZOWSKA, I.; PAWLIK, T. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56, supp. 5, p. 33-55, 2005.
- BUCCI, M. R.; ROVIEZZO, F.; POSADAS, I.; YU, J.; PARENTE, L.; SESSA, W. C.; IGNARRO, L. J.; CIRINO, J. Endothelial nitric oxide synthase activation is critical for vascular leakage during acute inflammation in vivo. **PNAS**, v. 102, n. 2, p. 904-208, 2005.
- CADIRCI, E.; SULEYMAN, H.; AKSOY, H.; HALICI, Z.; OZGEND, U.; KOC, A.; OZTURK, N. Effects of *Onosma armeniacum* root extract on ethanol-induced oxidative stress in stomach tissue of rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 170, p. 40-48, 2007.
- CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal and Biological Research**, v. 33, p. 179-189, 2000.
- CALIXTO, J. B. Medicamentos Fitoterápicos. In: **Plantas medicinais sob a ótica da química moderna**. YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. Chapecó: Editora Argos. p. 279-315, 2001.
- CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.
- CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA JR, J. M. Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78 (Suplemento 1), p. 98-106, 2008.
- CARMO, T. M. S.; ALMEIDA, R.; OLIVEIRA, A. R.; MELO, R. M. S.; XAVIER, S. Z. Extração da casca de *Rhizophora mangle* L.: Alterações na estrutura da vegetação. **Revista Gestão Costeira Integrada**, n. 2, número especial Manguezais do Brasil, 2010.
- CARRICONDE, C. **Bom nome, *Maytenus rigida*, Mart. De volta às raízes**, ano XIX, n.105, 2004.
- CARVALHO, A. C. B.; NUNES, D. S. G.; BARATELLI, T. G.; SHUQAIR, S. N. S. M. S. A. Q; NETTO, E. M. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v. 11, p. 26-32, 2007.
- CARVALHO, A. C. S. **Estudo pré-clínicos do efeito gastroprotetor de mangiferina, uma glicosilxantona isolada de *Mangiferina indica* L., em modelos experimentais de lesão gástrica aguda**. 2008. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.
- CAVALHO-OKANO, R. M. Estudos taxonômicos do gênero *Maytenus* Mol. emend.Mol. (Celastraceae) do Brasil extra-amazônico. Campinas: **Tese de Doutorado**, Unicamp, 1992.
- CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico. Revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 417-423, 2002.
- CERSOSIMO, M. G.; BENARROCH, E. E. Neural control of the gastrointestinal tract: implication for Parkinson disease. **Movement Disorders**, v. 23, n. 8, p. 1065-1075, 2008.
- CHENG, H. C.; GLEASON, E. M.; NATHAN, B. A.; LACHMANN, P. J.; WOODWARD, J. K. Effects of Clonidine on Gastric Acid Secretion in the Rat. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, v. 217, n. 1, p. 121-126, 1981.
- COELHO, L. G. V.; VIEIRA, W. L. S.; PASSOS, M. C. F.; CHOWSSON, Y.; CASTRO, F. J.; FRANCO, J. M. M.; MORETZSOHN, L. D.; YAZAKI, F. R.; COSTA, A. C. T.,

ANDRADE, J. M., CASTRO, L. P. Azytromycin, furazolidone and omeprazole: a promising low-dose, short-term, anti- *H. pylori* triple therapy. **GED Gastroenterology Endoscopy Digestive**, v. 21, p. 117-122, 2002.

COLLARES-BUZATO, C. B.; ARANA, S. **Células: uma abordagem multidisciplinar.** Células Oxíntica. *In*: Carvalho, H. F.; Collares-Buzato, C. B. (org). 1. ed., Barueri: Manole, 2005. p. 112-125.

CORRÊA, M. P. **Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas.** IBDF, vol. IV. Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro, p. 159, 1984.

CORTES-SELVA, F.; CAMPILLO, M.; REYES, C. P.; JIMENEZ, I. A.; CASTANYS, S.;

COSTA, M.; BROOKES, S. J. H.; HENNING, G. W. Anatomy and physiology of the enteric nervous system. **Gut**, v. 47, p. iv15-iv19, 2000.

DEL-SOLDATO, P.; FOSCHI, D.; VARIN, L.; DANIOTTI, S. Comparison of the gastric cytoprotective properties of atropine, ranitidine and PGE<sub>2</sub> in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 106, p. 53-58, 1985.

DI PONTI, F.; GIARONI, C.; COSENTINO, M.; LECCHINI, S.; FRIGO, G. Adrenergic Mechanisms in the Control of Gastrintestinal Motility: From Basic Science to Clinical Applications. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 69, n. 1, p. 59-78, 1996.

DIAS, K. S., MARQUES, M. S., MENEZES, I. A. C., SANTOS, T. C., SILVA, A. B. L., ESTEVAM, C. S., SANT'ANA, A. E. G., PIZZA, C., ANTONIOLLI, A. R., MARÇAL, R. M. Antinociceptive activity of *Maytenus rigida* stem bark. **Fitoterapia**, v.78, p.7-8, 2007.

DUARTE, D. F. Uma Breve História do Ópio e dos Opioides. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 55, n. 1, p. 135–146, 2005.

DUSSE, L. M. S.; VIEIRA, L. M.; CARVALHO, M. G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, p. 343-350, 2003.

ELDIN, S.; DUNFORD, A. **Fitoterapia na atenção primária à saúde.** São Paulo: Manole, 2001.

ELENKOV, I. J.; WILDER, R. L.; CHROUSOS, G. P.; VIZI, E. S. The Sympathetic Nerve-An Integrative Interface between Two Supersystems: The Brain and the Immune System. **Pharmacological Reviews**, v. 52, p. 595–638, 2000.

ENGELKE, F. Fitoterápicos e legislação. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**, v. 1, n.1, p.10-15, 2003.

ESTEVAM, C. S. Estudo fitoquímico biomonitorado da entrecasca de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Tese de Doutorado**, UFAL, 2006.

ESTEVAM, C. S. Estudo fitoquímico biomonitorado da entrecasca de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Tese de Doutorado**, UFAL, 2006.

ESTEVAM, C. S.; CAVALCANTI, A. M.; CAMBUI, E. V. F.; NETO, V. A.; LEOPOLDO, P. T. G.; FERNANDES, R. P. M.; ARAUJO, B. S.; PORFÍRIO, Z.; SANT'ANA, A. E. G. Perfil fitoquímico e ensaio microbiológico dos extratos da entrecasca de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 299-303, Jan./Mar. 2009.

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.

FENNER, R.; BETTI, A. H.; MENTZ L. A.; RATES, S. M. K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 42, p. 375-392, 2006.

FERRAZ, P. G. Receptores e antagonistas opioides: revisão da classificação e propriedades dos receptores e seus dois principais antagonistas: naloxona e naltrexona. **Infanto – Revista de Neuropsiquiatria da Infância e Adolescência**, v.7, n. 3, p. 106-111, 1999.

FIORUCCI, S.; ANTONELLI, S.; MORELLI, A. Mechanism of non-steroidal anti-inflammatory drug-gastropathy. **Digestive and Liver Disease**, v. 33, n. 2, p. S35-43, 2001.

FISHER A. A.; LE-COUNTEUR, D. G. Nephrotoxicity and hepatotoxicity of histamine H2 receptor antagonists. **Drug Safety**, v. 24, p. 39-57, 2001.

FÜLÖP, K.; ZÁDORI, Z.; RÓNAI, A.Z.; GYIRES, K. Characterization of  $\alpha$ 2-adrenoceptor subtypes involved in gastric emptying, gastric motility and gastric mucosal defense. **European Journal of Pharmacology**, v. 528, p. 150–157, 2005.

GELMAN, P. L.; HERRERA, N. E. G.; ORTEGA, M. E. M.; ROMERO, L. P.; SANTILLÁN, C. T.; JUÁREZ, A. S.; PALMA, B. A. Endomorphin peptides: pharmacological and functional implications of these opioid peptides in the brain of mammals. Part one. **Salud Mental**, n. 33, p. 179-196, 2010a.

GELMAN, P. L.; HERRERA, N. E. G.; ORTEGA, M. E. M.; VILLANUEVA, E. B.; SANTILLÁN, C. T.; JUÁREZ, A. S.; PALMA, B. A. Endomorphin peptides: pharmacological and functional implications of these opioid peptides in the brain of mammals. Part one. **Salud Mental**, n. 33, p.257-272, 2010b.

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

GONZÁLEZ, A. G; ALVARENGA, N. L.; RAVELO, A. G.; JIMENEZ, I. A.; BAZZOCCHI, I. L.; CANELA, N. J.; MOUJIR, L. M. Antibiotic phenol nor-triterpenes from *Maytenus canariensis*. **Phytochemistry**, v. 43, p. 129-132, 1996

GONZALEZ, F. G., PORTELA, T. Y., STIPP, E. J., DI-STASI, L. C. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 77, p. 41-47, 2001.

GOYAL, R. K.; IKUO, H. Mechanisms of disease: the enteric nervous system. **The New England Journal of Medicine**, v. 334, n. 17, p. 1106-1115, 1996.

GRANGEIRO, N. M. G. C.; CHAVES, H. V.; SILVA, A. A. R.; GRAÇA, J. R. V.; LIMA, V.; BEZERRA, M. M. Enzimas Ciclooxygenases 1 e 2: Inflamação e Gastro-Cardio proteção. **Revista Eletrônica Pesquisa Médica**, v. 2, n. 3, p. 13-20, 2008.

GRANIK, V. G.; GRIGOR'EV, N. B. Nitric oxide synthase inhibitors: biology and chemistry. **Russian Chemical Bulletin**, v. 51, n. 11, p. 1973-1995, 2002.

- GUO, J. S.; CHO, C. H.; WANG, W. P.; SHEN, X. Z.; CHENG, C. L.; KOO, M. W. L. Expression and activities of three inducible enzymes in the healing of gastric ulcers in rats. **World Journal of Gastroenterology**, v. 9, n. 8, p. 1767-1771, 2003.
- GYIRES, K.; MÜLLNER, K.; FÜRST, S.; RÓNAI, A. Z. Alpha-2 adrenergic and opioid receptor-mediated gastroprotection. **Journal of Physiology (Paris)**, v. 94, p. 117–121, 2000.
- GYIRES, K.; MÜLLNER, K.; RÓNAI, A.Z. Activation of central opioid receptors may induce gastric mucosal defense in the rat. **Journal of Physiology (Paris)**, v. 95, p. 189–196, 2001.
- GYIRES, K.; RÓNAI, A.Z. Supraspinal  $\delta$ - and  $\mu$ -Opioid Receptors Mediate Gastric Mucosal Protection in the Rat. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 297, n. 3, p. 1010-1015, 2001.
- GYIRES, K.; RÓNAI, A.Z.; TÓTH, G.; DARULA, ZS.; FÜRST, S. Analysis of the role of delta opioid receptors in gastroprotection in the rat. **Life Sciences**, v. 60, n. 16, p. 1337-1347, 1997.
- GYIRES, K.; ZADORI, Z.S.; SHUJAA, N.; AL-KHRASANI, M.; PAP, B.; MÓZES, M.; MATYUS, P. Pharmacological analysis of  $\alpha$ 2-adrenoceptor subtypes mediating analgesic, anti-inflammatory and gastroprotective actions. **Inflammopharmacology**, v. 17, p. 171–179, 2009.
- HATAZAWA, R.; TANAKA, A.; TANIGAMI, M.; AMAGASE, K.; KATO, S.; ASHIDA, Y.; TAKEUCHI, K. Cyclooxygenase-2/prostaglandin E2 accelerates the healing of gastric ulcers via EP 4 receptors. **American Journal of Physiology: Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 293, p. G788-G797, 2007.
- HIRUMA-LIMA, C. A.; CALVO, T. R.; RODRIGUES, C. M.; ANDRADE, F. D. P.; VILEGAS, W.; SOUZA A. R. M. B. Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneaefolia*: effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, p. 215-224, 2006.
- HOUSTON, M.C. Clonidine Hydrochloride: Review of Pharmacologic and Clinical Aspects. **Progress in Cardiovascular Diseases**, v. 23, n. 5, p. 337-350, 1981.
- JOFFILY A., VIEIRA R.C. Anatomia foliar de *Maytenus* Mol. emend Mol. (Celastraceae), ocorrente no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Bot Bras* 19: 549-561, 2005.
- JOLY, A. B. Botânica - Introdução à Taxonomia Vegetal. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1993.
- JORGE, R. M., LEITE, J. P., OLIVEIRA, A. B., TAGLIATI, C. A. Evaluation of antinociceptive, anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, p. 93-100, 2004.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. O tubo digestivo. In: **Histologia Básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 244-269.
- KENNEDY, M. L.; CORTES-SELVA, F.; CAMPILLO, M.; REYES, C. P.; JIMENEZ, I. A.; CASTANYS, S.; BAZZOCCHI, I. L.; PARDO, L.; GAMARRO, F.; RAVELO, A. G. Chemosensitization of a multidrug-resistant *Leishmania tropica* Line by new sesquiterpens from *Maytenus magellanica* and *Maytenus chubutensis*. **Journal of Medicine Chemistry**, v. 44, p. 4668-4676, 2001.

- KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M. L.; MELLO, J. C. P. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p. 241-248, 2009.
- KONTUREK, S. J.; KONTUREK, P. C.; BRZOZOWSKI, T. Prostaglandins and ulcer healing. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56, n 5, p. 5-31, 2005.
- KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. Química farmacêutica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 4-5, 1998.
- KOSONE T.; TAKAGI, H.; KAKIZAKI, S.; SOHARA, N.; HORIGUCHI, N.; SATO, K.; YONEDA, M.; TAKEUCHI, T.; MORI, M. Integrative roles of transforming growth factor-alpha in the cytoprotection mechanisms of gastric mucosal injury. **BMC Gastroenterology**, v. 6, n. 22, 2006. (doi:10.1186/1471-230X-6-22.)
- KOSSOULAS, V.; VASSILIOU, S.; GIAMARELLOS-BOURBOULIS, E. J.; TASSIAS, C.; KOTSAKI, A.; BARBATZAS, C.; TZIVRAS, M. Implications for a role of interleukin-23 in the pathogenesis of chronic gastritis and of peptic ulcer disease. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 156, p. 97–101, 2009.
- KUBES, P.; SUZUKI, M.; GRANGER, D.N. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 88, p. 4651-4655, 1991.
- KUTCHAI, H. C. Regulação gastrointestinal e Motilidade. *In*: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. 5. ed., 2004, p. 573-600 (b).
- KUTCHAI, H. C. Secreções Gastrointestinais. *In*: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. 5. ed., 2004, p. 601-632 (a).
- LAINE, L.; WEINSTEIN, W. M. Histology of alcoholic hemorrhagic gastritis: a prospective evaluation. **Gastroenterology**, v. 94, p. 1254-1262, 1998.
- LANAS, A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. **Arthritis Research & Therapy**, v. 10, Suppl. 2, p. S4, 2008.
- LARSON, R. A. The antioxidants of higher plants. **Phytochemistry**, v. 27, p. 969–978, 1998
- LEE, E. B.; HYUN, J. E.; LI, D. W.; MOON, Y. I. Effects of *Opuntia ficus-indica* var, Saboten Stem on Gastric Damages in Rats. **Archives of Pharmacal Research**, v. 25, n. 1, p. 67-70, 2002.
- LEITE, J. P. V.; RASTRELLI, L.; ROMUSSI, G.; OLIVEIRA, A. B.; VILEGAS, J. H. Y.; VILEGAS, W.; PIZZA, C. Isolation and HPLC quantitative analysis of flavonoid glycosids from Brazilian beverages (*Maytenus ilicifolia* and *Maytenus aquifolium*). **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, v. 49, p. 3796–3801, 2001.
- 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, n. 8, p. 1360-1366, 1997.
- LIU, C.; CRAWFORD, J. M. O trato gastrointestinal. *In*: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7. ed. São Paulo: Elsevier, 2005, p. 837-918.

- MALFERTHEINER, P.; LEODOLTER, A. Cure of Helicobacter pylori-associated ulcer disease through eradication. **Baillieres Best Pract & Reseach Clinical Gastroenterology**, v. 14, p. 119-132, 2000.
- MARINI-BETTOLO, G. B. Chemistry of The Active Principles of Celastraceae. **Farmaco**, Ed. Sci., v.29, p.551-568, 1974.
- MARTIN, G. R.; WALLACE, J. L. Gastrintestinal inflammation: a central component of mucosal defense and repair. **Experimental Biology and Medicine**, v. 231, p. 130–7, 2006.
- MARTIN, W. R. Opioid antagonists. **Pharmacological Reviews**, v. 19, n. 4, p. 464-517, 1967.
- Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 3, p. 576-587, 2004.
- MILANI, S.; CALABRÒ, A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. **Microscopy Research and Technique**, v. 53, p. 360-371, 2001.
- MINCIS, M.; CHEBLI, J. M. F.; KHOURI, S. T.; MINCIS, R. Etanol e o trato gastrintestinal. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 32, p. 131–139, 1995.
- MOTA, C. N.; ALBUQUEQUE, U. P. **As muitas fases da jurema: de espécie botânica à divindade afro-indígena**, Recife: Bagaço, p.192, 2002.
- MUTOH, H.; HIRAISHI, H.; OTA, S.; IVEY, K. J.; TERANO, A.; SUGIMOTO, T. Role of oxygen radicals in ethanol-induced damage to cultured gastric mucosal cells. **American Journal of Physiology**, v. 258, p. G603–G609, 1990.
- NEWMAN, D.J.; CRAGG, G.M.; SNADER, K.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, v. 66, p. 1022-1037, 2003.
- NICKERSON, M. The pharmacology of adrenergic blockade. **Pharmacological Reviews**, v. 1, n. 1, p. 27-101, 1949.
- NIERO, R.; MOSER, R.; BUSATO, A. C. B.; YUNES, R. A.; REIS, A.; CECHINEL-FILHO, V. A comparative chemical study of *Maytenus ilicifolia* Mart. Reiss and *Maytenus robusta* Reiss (Celastraceae). **Zeitschrift fur Naturforschung**, v. 56c, p. 158–161, 2001.
- NUÑEZ, J. M.; REYES, C. P.; JIMENEZ, I. A.; MOUJIR, L.; BAZZOCCHI, I. L. Lupane triterpenoids from *Maytenus* species. **Journal of Natural Products**, v. 68, p. 1018-1021, 2005.
- NUÑEZ, M. J.; GUADAÑO, A.; JIMÉNEZ, I. A.; RAVELO, A. G.; COLOMA-GONZÁLEZ; BAZZOCCHI, I. L. Insecticidal sesquiterpene pyridine alkaloids from *Maytenus chiapensis*. **Journal of Natural Products**. v. 67, p. 14-18, 2004.
- OATES, P. J.; HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethalinduced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v. 94, p. 10-21, 1998.
- OMENA, M. L. R. A. Ensaio etnofarmacológico de espécies vegetais com ação no sistema nervoso central, originárias do bioma caatinga. **Saúde Ambiente Rev.**, v.2, p.92-107, 2007.

PALILEO, C.; KAUNITZ, J. D. Gastrointestinal defense mechanisms. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 27, n. 6, p. 543-548, 2011.

PEREZ-VICTORIA, J. M.; TINCUSI, B. M.; JIMENEZ, I. A.; BAZZOCCHI, I. L.; GUPTA, M. P.; CASTANYS, S.; GAMARRO, F.; RAVELO, A. G. New natural sesquiterpenes as modulators of daunomycin resistance in a multidrug-resistant *Leishmania tropica* Line. **Journal of Medicine Chemistry**, v.42, p. 4388-4393, 1999.

PESKAR, B.M. Role of cyclooxygenase isoforms in gastric mucosal defense. **Journal of Physiology - Paris**, v. 95, p. 3–9, 2001.

PHILLIPSON, M. Acid Transport through Gastric Mucus. **Upsala Journal of Medical Sciences**, v. 109, p. 1-24, 2004.

PHILLIPSON, M.; JOHANSSON, M. E. V.; HENRIKSNA S. J.; PETERSSON, J.; GENDLER, S. J.; SANDLER, S.; PERSSON, A. E. G.; HANSSON, G. C.; HOLM, L. The gastric mucus layers: constituents and regulation of accumulation. **American Journal of Physiology: Gastrintestinal and Liver Physiology**, v. 295, p. G806–G812, 2008.

PIHAN, G.; REGILLO, C.; SZABO, S. Free radicals and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric mucosal injury. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 32, n. 12, p. 1395-401, 1987.

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

PIOTROWSKI, J.; PIOTROWSKI, E.; SKRODZKA, D.; SLOMIANY, A.; SLOMIANY, B. L. Gastric mucosal apoptosis induced by ethanol: effect of antiulcer agents. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 42, n. 2, p. 247-254, 1997.

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: Março de 2008.

PRINZ, C.; ZANNER, R.; GRATZL, M. Physiology of gastric enterochromaffin-like cells. **Annual Review of Physiology**, v. 65, p. 371–82, 2003.

PULLEN, C. B.; SCHMITZ, P.; HOFFMANN, D.; MEURER, K.; BOETTCHER, T.; BAMBERG, D.; PEREIRA, A. M.; FRANÇA, C. S.; HAUSER, M.; GEERTSEMA, H.; WYK, A.; MAHMUD, T.; FLOSS, G. H.; LEISTNER, E. Occurrence and non-detectability of maytansinoids in individual plants of the genera *Maytenus* and *Putterlickia*. **Phytochemistry**, v. 62, p. 377-387, 2003.

QUEIROGA, C. L.; SILVA, G. F.; DIAS, P. C.; POSSENTI, A.; CARVALHO, J. E. Evaluation of antiulcerogenic activity of friedelan-3 $\beta$ -ol and friedelin isolated from *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). **Journal Ethnopharmacology**, v. 72, p. 465-468, 2000.

RAD, R.; DOSSUMBEKOVA, A.; NEU, B.; LANG, R.; BAUER, S.; SAUR, D.; GERHARD, M.; PRINZ, C. Cytokine gene polymorphisms influence mucosal cytokine expression, gastric inflammation, and host specific colonisation during *Helicobacter pylori* infection. **Gut**, p. 53, p. 1082–9, 2004.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Farmacologia**, 5. Ed, Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. p. 419-433.

REES, W. D. Review Mechanisms of gastroduodenal protection by sucralfate. **American Journal of Medicine**, v. 8, n. 91(2A), p. 58S-63S, aug. 1991.

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

REYES, C. P.; NUNEZ, M. J.; JIMÉNEZ, I. A. Activity of lupine triterpenoides from *Maytenus* species as inhibitors of nitric oxide and prostaglandin E2. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.14, p. 1573-1579, 2006.

RIOS, E. R. V.; ROCHA, N. F. M.; VENÂNCIO, E. T.; MOURA, B. A.; FEITOSA, M. L.; CERQUEIRA, G. S.; LEAL, L. K. A. M. Mechanisms involved in the gastroprotective activity of esculin on acute gastric lesions in mice. **Chemical-Biological Interactions**, v. 188, p. 246–254, 2010.

ROCHA, C. S.; PIMENTEL, R. M. M.; RANDAU, K. P.; XAVIER, H. S. Morfoanatomia de folhas de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae); uma espécie utilizada como medicinal no nordeste do Brasil, **Acta Farmacologica Bonaerense**, v. 23, p. 472-476, 2004.

RODRIGUES, P. A.; MORAIS, S. M.; MARQUES, M. M. M.; AGUIAR, L. A.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S. Atividade antioxidante e gastroprotetora de produtos naturais em animais experimentais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 2, p. 116-123, 2008.

SABESIN, S. M. Safety issues relating to long-term treatment with histamine H2-receptor antagonists. **Alimentary Pharmacology Therapeutics**, v. 7, n. 35-40, 1993.

SAMUELSON, L. C.; HINKLE, K. L. Insights into the regulation of gastric acid secretion through analysis of genetically engineered mice. **Annual Review of Physiology**, v. 65, p. 383-400, 2003.

SAMUELSSON, B.; FOLCO, G.; GRANSTRÖM, E.; *et al.* Prostaglandins and thromboxanes: biochemical and physiological considerations. **Advances in Prostaglandins and Thromboxane Research**, v. 4, n. 1, p. 1-25, 1978.

SANTIN, J. R.; LEMOS, M.; JUNIOR, L. C. K.; NIERO, R.; ANDRADE S. F. Antiulcer effects of *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Asteraceae) (Marcela), a folk medicine plant, in different experimental models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, p. 334–339, 2010.

SANTOS, V. S.; COSTA, V. B. M.; AGRA, M. F.; SILVA, B. A.; BATISTA, L. M. Pharmacological studies of ethanolic extracts of *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae) in animal models. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 333-342, Jul/Set., 2007.

SCHUBERT, M. L. Gastric exocrine and endocrine secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 25, p. 529-536, 2009.

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 27, p. 536–542, 2011.

SCHUBERT, M. L.; PEURA, D. A. Control of Gastric Acid Secretion in Health and Disease. **Gastroenterology**, v. 134, p. 1842–1860, 2008.

SHEEBA, M. S.; ASHA, V. V. Effect of *Cardiospermum halicacabum* on ethanol-induced gastric ulcers in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 106, p. 105–110, 2006.

- 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 & Research Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 4, p. 519–542, 2003.
- SILVA, A. A. R.; BEZERRA, M. M.; CHAVES, H. V.; PINTO, V. P. T.; FRANCO, E. S.; VIEIRA, A. M.; ARAÚJO, E. B.; RIOS, L. C.; LEITE, A. C. R.; MAIA, M. B. S. Protective effect of *Chresta martii* extract on ethanol-induced gastropathy depends on alpha-2 adrenoceptors pathways but not on nitric oxide, prostaglandins or opioids. **Journal of Ethnofarmacology**, v. 142, n. 26, p. 206-212, Jun. 2012.
- SILVA, J. L., SILVA, R. P., JORGE, R. M., FÁTIMA SILVA, G. D., VIEIRA FILHO, S. A., FONSECA, A. P. N. D., TAGLIATI C. A. Avaliação da atividade antiulcerogênica da *Maytenus truncata* Reiss (Celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p.30-35, 2005
- SILVA, L. H. P. Ciências biológicas e biotecnologia: realidades e virtualidades. **São Paulo em Perspectiva**, v. 14, n. 3, p. 60-67, 2000.
- SILVERTHORN, D. U. Digestão. In: **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 2. ed., São Paulo: Manole, 2003, p. 602-637.
- SIMÕES, C.M.O. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1998.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P. A Pesquisa e a produção brasileira de medicamentos a partir de plantas medicinais: A necessária interação da indústria com a academia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, n. 1, p. 35-40, 2002.
- SLOMIANY, A.; PATKOWSKA, M. J.; SLOMIANY, B. L.; GLASS, G. B. J. The effect ethanol on the constituents of the gastric mucous barrier. *International Journal of biological macromolecules*, v. 1, n. 4, p. 165-170, October, 1979.
- SMITH, C. Sucralfate in the Treatment of Gastritis: A Review. **The American Journal of Medicine**, v. 86 (suppl 6A), p. 70-72, 1989.
- SMITH, I.K.; VIEWELLER, T.L.; THORNE, C.A. Assay of Glutathione Reductase in Crude Tissue Homogenates Using 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic Acid). **Analytical Biochemistry**, v. 175, p. 408-413, 1988.
- SOLECKI, R; SHANIDAR, I. V. A Neanderthal flower burial in northern Iraq. **Science**, v. 190, p. 880–881, 1975.
- SOSA, S.; MORELLI, C. F.; TUBARO, A.; CAIROLI, P.; SPERANZA, G.; MANITTO, P. Anti-inflammatory activity of *Maytenus senegalensis* root extracts and of maytenoic acid. **Phytomedicine**, v. 14, p. 109–114, 2007.
- SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação de famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado na APG II. 2. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008.
- SOUZA-FORMIGONI, M. L. O., OLIVEIRA, M. G. M., MONTEIRO, M. G., SILVEIRA-FILHO, N. G., BRAZ, S., CARLINE, E. A. Antiulcerogenic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 34, p. 21-27, 1991.
- SÜLEYMAN, H. The Role of Alpha-2 Adrenergic Receptors in Anti-ulcer Activity. **The Eurasian Journal of Medicine**, v. 44, p. 43-5, 2012.

SROLLMAN, N.; METZ, D. C. Pathophysiology and prophylaxis of stress ulcer in intensive care unit patients. **Journal of critical care**, v. 20, p. 35-45, 2005.

SÜLEYMAN, H.; ALBAYRAK, A.; BILICI, M.; CADIRCI, E.; HALICI, Z. Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers. **Inflammation**, v. 33, n. 4, p. 224-234, 2010.

SÜLEYMAN, H.; DEMIRCAN, B.; KARAGÖZ, Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. **Pharmacological Reports**, v. 59, p. 247-258, 2007.

SZABO, C. Gaseotransmitters: New Frontiers for Translational Science. **Science Translational Medicine**, v. 2, n. 59, p. 1-7, 2010.

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.

TABUCHI, Y.; FURUHAMA, K. Inhibitory effect of DS-4574, a mast cell stabilizer with peptidoleukotriene receptor antagonism, on gastric acid secretion in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 255, p. 229-234, 1994.

TAZI-SAAD, K.; CHARIOT, J.; DEL TACCA, M.; ROZÉ, C. Effect of  $\alpha$ 2-adrenoceptor agonists on gastric pepsin and acid secretion in the rat. **British Journal of Pharmacology**, v. 106, p. 790-796, 1992.

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

TOBIN, G.; GIGLIO, D.; LUNDGREN, O. Muscarinic receptor subtypes in the alimentary tract. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 60, n. 1, p. 3-21, 2009.

TOLEDO, A.C.O.; HIRATA, L.L.; BUFFON M.C.M.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, 2003.

TOMA, W.; TRIGO, J.R.; DE PAULA, A.C.B.; BRITO, A.R.M.S. Preventive activity of pyrrolizidine alkaloids from *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) on gastric and duodenal induced ulcer on mice and rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v 95, p. 345-351, 2004.

TOMAZZONI, M.I.; NEGRELLE, R.R.B.; CENTA, M.L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. **Texto & Contexto Enfermagem**, v. 15, n. 1, p. 115-21, 2006.

TRESCOT, A. M.; DATTA, S.; LEE, M.; HANSEN, H. Opioid Pharmacology. **Pain Physician, Opioid Special Issue**, v. 11, p. S133-S153, 2008.

TULASSAY, Z.; HERSZÉNYI, L. Gastric mucosal defense and cytoprotection. **Best Practice and Research Clinical Gastroenterology**, v. 24, p. 99-108, 2010.

USHIKUBI, F.; SUGIMOTO, Y.; ICHIKAWA, A.; NARUMIYA, S. Roles of prostanoids revealed from studies using mice lacking specific prostanoid receptors. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 83, n. 4, p. 279-85, 2000.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

WALDHOER, M.; BARTLETT, S.E.; WHISTLER, J.L. Opioid receptors. **Annual Reviews in Biochemistry**, v. 73, p. 953-90, 2004.

WALLACE, J. L. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. **The American Journal of Medicine**, v. 110, n. 1A, p. 19S-23S, 2001.

WALLACE, J.L. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protections: why doesn't the stomach digest itself? **Physiological Reviews**, v. 88, p. 1547-1565, 2008.

WALLACE, J.L.; DICAY, M.; MCKNIGHT, W.; DUDAR, G.K. Platelets accelerate gastric ulcer healing through presentation of vascular endothelial growth factor. **British Journal of Pharmacology**, v. 148, p. 274–278, 2006.

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, n. 706–714, 2000.

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

YOKOTANI, K.; OKUMA, Y.; NAKAMURA, K.; OSUMI, Y. Release of endogenous acetylcholine from a vascularly perfused rat stomach in vitro; inhibition by M3 muscarinic autoceptors and alpha-2 adrenoceptors. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 266, n. 3, p.1190-1195, 1993.

ZLABEK, J. A.; ANDERSON, C. G. Lansoprazole-induced thrombocytopenia. **The Annals of pharmacotherapy**, v. 36, n. 5, p. 809-811, mai. 2002.