



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**IVNA HITZSCHKY SILVA DOS FERNANDES VIEIRA PREVIDELLI**

**EFEITO DE INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE SOBRE O  
TRANSPORTE ILEAL DE ÁGUA E ELETRÓLITOS EM RATOS  
ANESTESIADOS**

**Fortaleza – Ceará**

**2011**

**IVNA HITZSCHKY SILVA DOS FERNANDES VIEIRA PREVIDELLI**

**EFEITO DE INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE SOBRE O TRANSPORTE ILEAL  
DE ÁGUA E ELETRÓLITOS EM RATOS ANESTESIADOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará como requisito para o título de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcellus Henrique  
Loiola Ponte de Souza

Co- orientador: Prof. Dr. José Ronaldo  
Vasconcelos da Graça.

**FORTALEZA-CE**

**2011**

P944e Previdelli, Ivna Hitzschky Silva dos Fernandes Vieira  
Efeito de inibidores da ciclooxigenase sobre o transporte  
ileal de água e eletrólitos em ratos anestesiados/ Ivna  
Hitzschky Silva dos Fernandes Vieira Previdelli. – Fortaleza,  
2011.

74 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de  
Souza

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará.  
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. Fortaleza,  
Ceará.

1. Ciclooxigenase 1 2. Ciclooxigenase 2 3. Ceterolaco 4.  
Inibidor de ciclooxigenase 5. Indometacina 6. Antiinflamató-  
rios não esteróides 7. Ileo 8. Água 9. Eletrólitos 10. Sódio  
11. Potássio 12. Cloro I. Souza, Marcellus Henrique Loiola  
Ponte de (orient.)II. Título.

CDD:615.31

**IVNA HITZSCHKY SILVA DOS FERNANDES VIEIRA PREVIDELLI**

**EFEITO DE INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE SOBRE O TRANSPORTE ILEAL  
DE ÁGUA E ELETRÓLITOS EM RATOS ANESTESIADOS**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal do Ceará, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em 25/03/2011

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Sousa (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Prof. Dr. Pedro Jorje Caldas Magalhães  
Universidade Federal do Ceará-UFC

---

Prof. Dr. Armênio Aguiar dos Santos.  
Universidade Federal do Ceará-UFC

**Aos meu pais, Professores Doutores Gustavo Hitzschky Fernandes Vieira e Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira pelo carinho, incentivo e exemplo.**

**Ao meu marido, agradeço pelo apoio, pelo amor, pela amizade segura e por ter assumido o papel de mãe durante minhas horas de ausência.**

**Às minhas filhas, luzes da minha vida, meus amores eternos.**

**Ao meu irmão amado Gustavo Jr. que nunca me faltou em nada.**

**Ao meu irmão Dax e ao seu filho Gustavinho pelo exemplo de amor, persistência e paciência que me inspiraram.**

**À minha avó, minha tia Yeyê e a todos que amo, que não são poucos.**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza, por ter acreditado em mim e mesmo distante fisicamente sempre foi comprometido e envolvido e à distância, aconselhou, resolveu problemas e orientou meus caminhos através da pesquisa.

Ao meu amigo, professor e co-orientador Ronaldo Graça, pelo apoio total e irrestrito, pelo laboratório, pelas horas de dedicação, pela paciência, pelo interesse, pela doação assim sem nada em troca. Por tudo isso, sempre lhe serei grata.

Ao Francisco, técnico de laboratório, por tudo, tudo e absolutamente tudo.

À minha mãe, Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira pelas correções e conselhos.

Agradeço à todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para que eu realizasse meu sonho.

"[...] não importa tanto o tema da tese quanto a experiência de trabalho que ela comporta."

Umberto Eco

## RESUMO

Esse estudo tem por finalidade avaliar os efeitos de inibidores seletivos da COX (cetorolaco e celecoxibe) e de inibidores não seletivos (indometacina) da COX sobre o transporte ileal de água e eletrólitos em ratos anestesiados. Também se propõe a avaliar as alterações vilo/crípta do íleo de ratos tratados com inibidores seletivos e não seletivos da COX-1 e 2 (cetorolaco-inibidor específico da COX-1 na dose de 3mg/Kg, celecoxibe-inibidor específico da COX-2 e indometacina-inibidor não seletivo da COX). Os animais foram tratados *per os* durante três dias consecutivos com uma das seguintes substâncias: cetorolaco (3mg/Kg), celecoxibe (10mg/Kg), indometacina (5mg/Kg), cetorolaco + celecoxibe, salina 0,9% ou tampão fosfato. Todos os AINES aqui utilizados foram diluídos em solução salina (NaCl a 0,9%) exceto a indometacina que foi diluída em solução tampão fosfato. Após jejum de 24 horas com livre acesso à água, os animais foram anestesiados com Uretana (1,2mg/kg corporal, i.p). A seguir realizou-se laparotomia mediana para isolamento do segmento a ser perfundido. Cânulas foram introduzidas nas extremidades proximal e distal do segmento mediante criação de fístulas. O segmento isolado e as cânulas formaram o circuito que foi perfundido. Para a perfusão foi utilizada solução modificada de Ringer e Fenolsulfaleína 50mg/L como marcador não absorvível. O perfusato foi coletado em tubos de ensaio após 40min (03 amostras). Também foram obtidas 3 (três) amostras no início e no final (03 amostras) do experimento, para determinação dos parâmetros controle. Foram determinadas as diferenças entre as amostras controle e as coletas do perfusato quanto aos valores das concentrações de sódio, potássio e cloreto (mmol/L). Ao final do experimento, os animais foram sacrificados e o segmento ileal perfundido retirado, sendo imediatamente pesado, depois retirados anéis distais de aproximadamente 0,5 cm para o histopatológico. Nova medição de peso desse segmento foi realizada após o mesmo ser mantido em estufa a 100°C por 48h, de modo a permitir a correção dos parâmetros funcionais. A administração de cetorolaco aos animais promoveu secreção ileal de água, de sódio, cloreto e potássio. Por outro lado, o tratamento com celecoxib, sozinho ou em associação com cetorolaco, bem como o tratamento com indometacina não desencadearam alterações significativas na secreção de água, sódio, cloro e potássio, quando comparado com os grupos controles. Em relação as alterações morfométricas, os tratamentos com celecoxibe sozinho ou em associação com cetorolaco, promoveram um aumento da relação vilo/crípta. Por outro lado, a administração de cetorolaco aos animais não modificou a relação vilo/crípta quando comparado com o controle. Por outro lado, no tratamento com indometacina, a administração de indometacina apresentou uma diminuição na relação vilo/crípta, quando comparado com o controle. Baseado nestes dados podemos concluir, que a inibição da COX-1 pelo cetorolaco, mas não a inibição da COX-2 pelo celecoxib, desencadeia uma alteração funcional na secreção de água e eletrólitos no íleo, pois não houve lesão do epitélio na análise histológica do intestino de ratos tratados com a cetorolaco.

Palavras-chave: COX. Cetorolaco. Celecoxibe. Indometacina. AINES. Transporte ileal. Água. Eletrólitos. Sódio. Potássio. Cloro.



## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of selective and non-selective COX inhibitors on water and electrolyte transport and the villous/crypt ratio in the ileum of anesthetized rats. Thirty-six animals distributed in 6 groups were treated with 3mg/Kg ketorolac (a selective COX-1 inhibitor), 10mg/Kg celecoxib (a selective COX-2 inhibitor), 5mg/Kg indometacin (a non-selective COX inhibitor), ketorolac+celecoxib, 0.9% saline solution or phosphate buffer for 3 consecutive days. Ketorolac and celecoxib were diluted in 0.9% saline solution, while indometacin was diluted in phosphate buffer. Following 24 hours of fasting with access to water *ad libitum*, the animals were anesthetized with 1.2mg/Kg urethane i.p. and submitted to median laparotomy to isolate an ileal segment for perfusion. Cannulae were introduced through surgically created fistulas in the proximal and distal extremities of the segment. Perfusion was performed with modified Ringer solution containing 50mg/L phenolsulfonphthalein (a non-absorbable marker). After 40 minutes, 3 samples of perfusate were collected. In addition, 3 control samples were collected at baseline and by the end of the experiment for comparison of sodium, potassium and chloride concentrations (mmol/L). Finally the animals were euthanized, the extremities of the perfused segment were cut off (5-mm rings) for histopathological examination and the segment was weighed. After 48 hours of storage at 100°C, the segment was weighed again in order to correct the functional parameters. The administration of ketorolac promoted secretion of ileal water, sodium, potassium and chlorine. However, treatment with celecoxib alone or with ketorolac, and indomethacin treatment did not induce significant changes in the secretion of water, sodium, potassium and chlorine, when compared with control groups. In the histological evaluation, treatment with celecoxib alone or in combination with ketorolac, induced an increase in villous / crypt ration. On the other hand, ketorolac administration did not change the villous / crypt ration when we compared with the control. Indomethacin treatment induced a decrease in villous / crypt ration compared with the control. Based on these data we can conclude that inhibition of COX-1 by ketorolac, but not COX-2 inhibition by celecoxib, induced a functional change in the ileal water and electrolytes secretion, since there was not epithelial damage in the histological analysis of intestine of rats treated with ketorolac.

**Key words:** COX. Ketorolac. Celecoxib. Indometacin. NSAID. ileal transport. Water. Electrolytes. Sodium. Potassium. Chloride.

## LISTA DE FIGURAS

1	Mostra o ácido araquidônico em duas vias de metabolização, a das ciclooxigenases e a das lipooxigenases, formando eicosanóides.....	15
2	Esquema de ação enzimático de transformação do ácido aracdônico.....	16
3	Características das COX-1, 2, 3.....	17
4	Absorção de sódio e água no intestino delgado.....	27
5	Absorção e secreção de eletrólitos no intestino delgado.....	28
6	Delineamento experimental utilizado para avaliação do efeito de AINES ou veículo sobre o transporte ileal de água e eletrólitos de ratos anestesiados.....	33
7	A) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos controle B) ) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos controle C) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos em H&E E após tratamento com cetorolaco D) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos em H&E após tratamento com cetorolaco.....	41
8	A) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos controle B) ) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos controle C) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos em H&E E após tratamento com celecoxibe D) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos em H&E após tratamento com celecoxibe.....	42
9	A) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos controle B) ) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos controle C) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos em H&E E após tratamento com cetorolaco + celecoxibe D) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos em H&E após tratamento com cetorolaco + celecoxibe.....	43
10	A) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos controle B) ) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos controle C) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos em H&E E após tratamento com indometacina D) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos em H&E após tratamento com indometacina.....	49

## LISTA DE QUADRO

- 1 Fatores que influenciam a absorção e secreção de água e eletrólitos..... **26**

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>1</b>	Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 sobre o transporte ileal de água (H <sub>2</sub> O) em ratos anestesiados.....	<b>36</b>
<b>2</b>	Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 sobre o transporte ileal de Sódio (Na <sup>+</sup> ) em ratos anestesiados.....	<b>37</b>
<b>3</b>	Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 sobre o transporte ileal de cloro (Cl <sup>-</sup> ) em ratos anestesiados.....	<b>38</b>
<b>4</b>	Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 sobre o transporte ileal de potássio (K <sup>+</sup> ) em ratos anestesiados.....	<b>39</b>
<b>5</b>	Alterações morfométricas no íleo de ratos secundárias ao pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2.....	<b>40</b>
<b>6</b>	Efeitos do pré-tratamento com inibidor não específico da cicloxigenase sobre o transporte ileal de água (H <sub>2</sub> O) em ratos anestesiados.....	<b>44</b>
<b>7</b>	Efeitos do pré-tratamento com inibidor não específico da cicloxigenase sobre o transporte ileal de sódio (Na <sup>+</sup> ) em ratos anestesiados.....	<b>45</b>
<b>8</b>	Efeitos do pré-tratamento com inibidor não específico da cicloxigenase sobre o transporte ileal de cloro (Cl <sup>-</sup> ) em ratos anestesiados.....	<b>46</b>
<b>9</b>	Efeitos do pré-tratamento com inibidor não específico da cicloxigenase sobre o transporte ileal de potássio (K <sup>+</sup> ) em ratos anestesiados.....	<b>47</b>
<b>10</b>	Alterações morfométricas no íleo de ratos secundárias ao pré-tratamento com inibidor não seletivo da cicloxigenase.....	<b>48</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b><math>\mu\text{Eq/g/min}</math></b>	Microequivalente por grama por minuto
<b>AINES</b>	Antiinflamatórios não-hormonais
<b>ANOVA</b>	Análise de variância
<b>ATPase</b>	Enzima catalisadora de adenosina trifosfato
<b><math>\text{Cl}^-</math></b>	Cloreto
<b><math>\text{CO}_2</math></b>	Dióxido de carbono
<b>COX</b>	Ciclooxygenase
<b>COXIBs</b>	Inibidores seletivos da Ciclooxygenase 2
<b>EPM</b>	Equivalentes por milhão
<b>g</b>	Grama
<b><math>\text{H}_2\text{O}</math></b>	Água
<b><math>\text{HCO}_3^-</math></b>	íon Bicarbonato
<b>HE</b>	Hematoxilina e eosina
<b>IL1</b>	Interleucina 1
<b><math>\text{K}^+</math></b>	Potássio
<b>min</b>	Minuto
<b>ml</b>	mililitros
<b>Mmol/L</b>	Milimol por litro
<b>MS-DOS</b>	Microsoft Disk Operating System
<b><math>\text{Na}^+</math></b>	Sódio
<b>NaCl</b>	Cloreto de sódio
<b>NANC</b>	Neurotransmissores não-adrenérgicos, não-colinérgicos
<b><math>\text{PGE}_2</math></b>	Prostaglandinas $\text{E}_2$
<b>PGs</b>	Prostaglandinas
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>SNC</b>	Sistema Nervoso Central
<b>TGI</b>	Trato gastrintestinal
<b>TNF</b>	Tumor necrosis factor
<b>vs</b>	Versus
<b><math>\mu\text{L}</math></b>	Microlitro
<b>H&amp;E</b>	Hematoxilina e eosina

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
1.1	Revisão de Cox.....	14
1.2	Breve abordagem da fisiologia do trato digestório.....	21
1.3	COX e TGI.....	29
<b>2</b>	<b>OBJETIVO.....</b>	<b>31</b>
2.1	Objetivo geral.....	31
2.2	Objetivos específicos.....	31
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>32</b>
3.1	Animais e princípios éticos.....	32
3.2	Drogas.....	32
3.3	Protocolos experimentais.....	32
3.4	Estudo do transporte de água e eletrólitos através da mucosa ileal.....	33
3.5	Análise histopatológica da mucosa ileal.....	35
3.6	Análise estatística dos resultados.....	35
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
4.1	Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 (cetorolaco, celecoxibe) sobre o transporte ileal de água (H <sub>2</sub> O) em ratos anestesiados.....	36
4.2	Alterações morfométricas no íleo de ratos secundárias ao pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2.....	37
4.3	Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 (cetorolaco, celecoxibe) sobre o transporte ileal de cloro (Cl <sup>-</sup> ) em ratos anestesiados.....	38
4.4	Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 (cetorolaco, celecoxibe) sobre o transporte ileal de potássio (K <sup>+</sup> ) em ratos anestesiados.....	39
4.5	Alterações morfométricas no íleo de ratos secundárias ao pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 (cetorolaco, celecoxibe).....	40

4.6	Efeitos do pré-tratamento com inibidor da não seletivo da cicloxigenase (indometacina) sobre o transporte ileal de água (H <sub>2</sub> O) em ratos anestesiados.....	44
4.7	Efeitos do pré-tratamento com inibidor da não seletivo da cicloxigenase (indometacina) sobre o transporte ileal de sódio (Na <sup>+</sup> ) em ratos anestesiados.....	45
4.8	Efeitos do pré-tratamento com inibidor da não seletivo da cicloxigenase (indometacina) sobre o transporte ileal de cloro (Cl <sup>-</sup> ) em ratos anestesiados.....	46
4.9	Efeitos do pré-tratamento com inibidor não seletivo da cicloxigenase (indometacina) sobre o transporte ileal de potássio (K <sup>+</sup> ) em ratos anestesiados.....	47
4.10	Alterações morfométricas no íleo de ratos secundárias ao pré-tratamento com inibidor não seletivo da cicloxigenase.....	48
5	DISCUSSÃO.....	50
6	CONCLUSÕES.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58
	ANEXO.....	69

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Revisão de Cox

Os antiinflamatórios não esteroidais, conhecidos pela sigla AINEs, estão entre as classes terapêuticas mais consumidas no mundo (JONES, 2001) sendo, em alguns países, a mais consumida sem receita médica (ALONSO, 1997). Estima-se que mais de 30 milhões de pessoas no mundo tomem AINE diariamente (SINGH *et al.*, 1996) e só nos Estados Unidos, são vendidos, anualmente, mais de 30 bilhões de comprimidos (HANLON *et al.*, 1997). Além disso, os AINES estão entre os agentes farmacológicos mais utilizados na prática médica e são conhecidos pela humanidade há cerca de 100 anos. Apresentam um amplo espectro de indicações terapêuticas como: analgesia, antiinflamação, antipirese e profilaxia contra doenças cardiovasculares (DUBOIS, 1998).

Inicialmente a salicina, o primeiro AINE, isolada pela primeira vez em sua forma pura por Leroux no ano de 1829, foi utilizada largamente como antipirético. Seguiu-se o uso de salicilato de sódio para o tratamento da febre reumática, bem como antipirético em 1875. Hoffman, um químico contratado pela Bayer, baseado em trabalhos de Gerhardt do ano de 1853 ora esquecidos, preparou o ácido acetilsalicílico. Esse composto foi introduzido por Dreser na prática médica em 1899 (ROBERTS II; MORROW, 2003).

Vane (1971) foi o primeiro a propor que os efeitos terapêuticos e colaterais dos AINEs resultavam da inibição da enzima ciclooxigenase (COX), enzima essa que catalisa a conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas e prostaciclina, havendo assim redução na produção de prostaglandinas (PGs). O termo COX deve-se ao seu proposto mecanismo de ação consistir na formação de peróxidos bicíclicos (endoperóxidos) a partir da oxigenação de ácidos graxos poliinsaturados (MARNETT *et al.*, 1999).

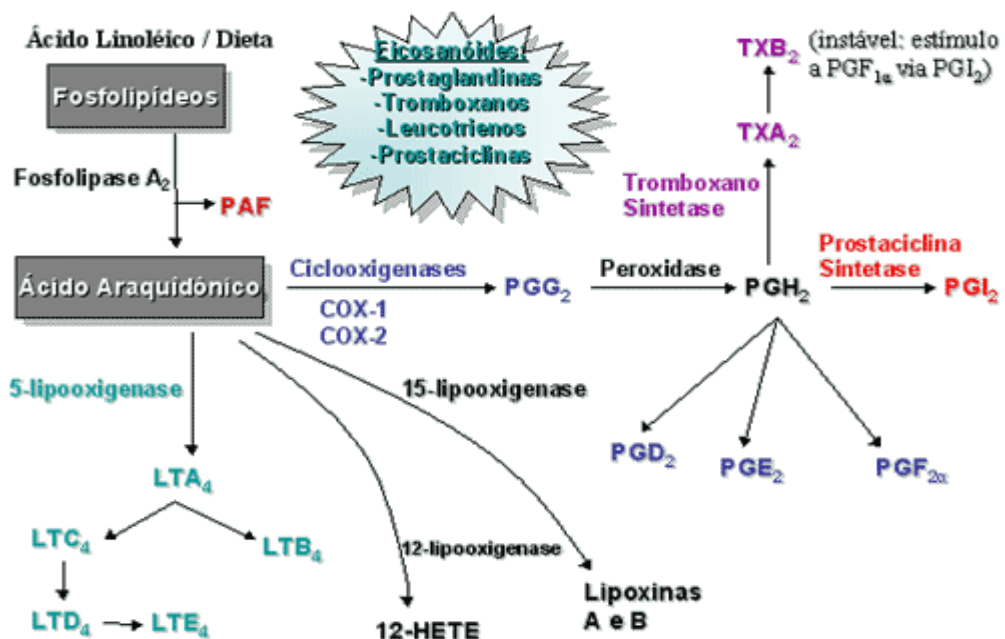
As prostaglandinas são produtos originados do ácido araquidônico, o qual é obtido da dieta ou derivado do ácido linoléico dietético. O ácido araquidônico é um ácido graxo insaturado com 20 átomos de carbono e quatro ligações duplas. Este ácido, após ingestão, circula no plasma ligado às proteínas plasmáticas ou na forma



livre. Nas células, o ácido araquidônico é esterificado em fosfolipídios de membranas ou a outros lipídios complexos e desta forma fica ligado à cadeia do glicerol na posição sn:2. Após algum estímulo, seja físico, químico ou hormonal, o ácido araquidônico será mobilizado da membrana pela ação de fosfolipases A<sub>2</sub>, as quais sofrem ativação direta pelo estímulo ou são ativadas por concentrações citosólicas aumentadas de Ca<sup>+2</sup>. Acredita-se que estímulos físicos ao alterarem a membrana celular produzam um influxo de Ca<sup>+2</sup> que ativa a fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) (GOLDMAN; AUSIELLO, 2005.) Existem diversas fosfolipases, porém a PLA<sub>2</sub> citosólica tipo IV, por ter maior afinidade pelo ácido araquidônico, é a principal enzima envolvida na liberação deste substrato. A PLA<sub>2</sub> hidrolisa a ligação éster sn:2 dos fosfolipídios da membrana e catalisa a liberação do ácido araquidônico. Após a liberação, este ácido poderá ser metabolizado por um dos vários sistemas de enzimas, como o das ciclooxigenases, que catalisa a formação de prostaglandinas; o das lipoxigenases, que formam os leucotrienos; ou o das isoenzimas citocromo P450, que produzem ácidos epoxieicosatrienóico. Tais produtos oxigenados são denominados eicosanóides devido possuírem 20 carbonos (figura 1).

**Figura 1.** Mostra o ácido araquidônico em duas vias de metabolização, a das ciclooxigenases e a das lipooxigenases, formando eicosanóides.

### Metabolismo de Fosfolipídeos – SFA



As prostaglandinas e os tromboxanos são os produtos da via da ciclooxigenase e são os produtos mais bem conhecidos do ácido araquidônico. Esses compostos são classificados em várias categorias principais e designados por letras A, B, C, D, E e F. A identificação de cada prostaglandina é feita através da estrutura diferente do anel ciclopentano. As principais categorias ainda são subdivididas de acordo com o número de ligações duplas nas cadeias laterais, o que é indicado pelo número subscrito 1 (uma ligação dupla), 2 (duas ligações duplas) e 3 (três ligações duplas). As prostaglandinas, formadas pela ação da prostaglandina G/H sintetase a partir do ácido araquidônico, contêm duas ligações duplas (bisenóicas), indicadas por um subscrito 2. Essas prostaglandinas são as principais nos mamíferos. Aquelas com uma ligação dupla (monoenóicas) são derivadas do ácido diomo-g-linoléico, e aquelas com três ligações duplas (trienóicas) são derivadas do ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenóico (HARDMAN; LIMBIRD 2002). A prostaglandina G/H sintetase contém atividade de ciclooxigenase, isto é, oxigena e cicliza o ácido graxo precursor não esterificado, formando endoperóxido cíclico instável, a PGG. A prostaglandina G/H sintetase possui também atividade de hidroxiperoxidase, que converte PGG em PGH, também instável. A via segue com esses endoperóxidos cíclicos instáveis sendo prontamente transformados, por reações enzimáticas, em vários outros produtos estáveis como prostaciclina (PGI), tromboxanos (TXA), prostaglandina E (PGE), prostaglandina F (PGF), ou prostaglandina D (PGD) (vide figura 2).

**Figura 2.** Esquema de ação enzimático de transformação do ácido araquidônico

**ÁCIDO ARAQUIDÔNICO**

↓ *CICLOOXIGENASE*

**PROSTAGLANDINA G<sub>2</sub>**

↓ *HIDROXIPEROXIDASE*

**PROSTAGLANDINA H<sub>2</sub>**

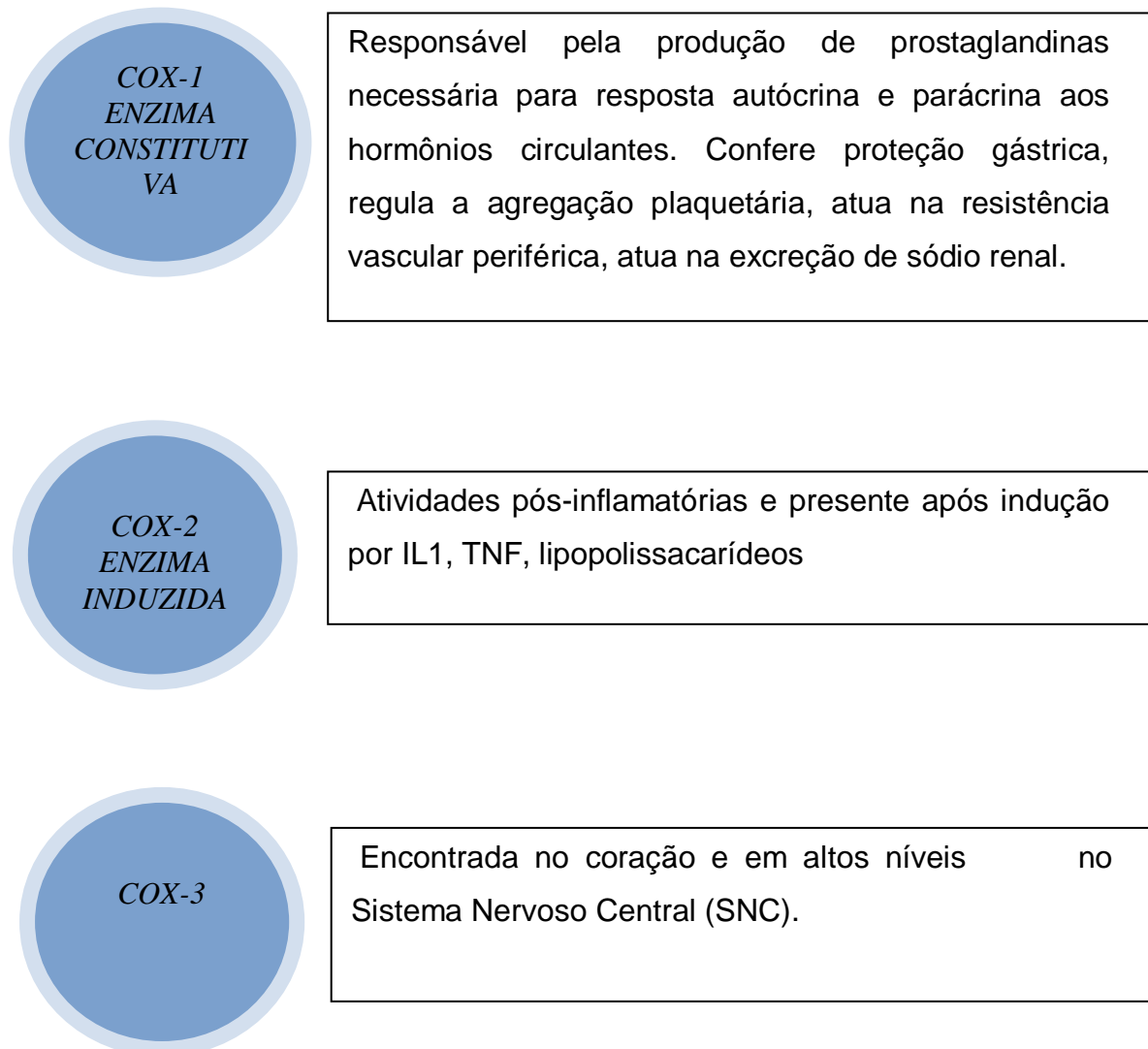
↓ *ENZIMAS ESPECÍFICAS*

**PROSTAGLANDINAS E, F, D** (*ciclooxigenase*)  
**PROSTACICLINA I** (*prostaciclina sintetase*)  
**TROMBOXANOS A** (*tromboxano sintetase*)

A prostaglandina G/H sintetase, conhecida como ciclooxigenase (COX) possui três isoformas: ciclooxigenase 1, 2 e 3. Sabe-se pouco sobre a COX-3, existem mais estudos sobre as COX-1 e COX-2 (vide figura 3). Os genes para COX-1 e COX-2 estão localizados nos cromossomos humanos 9 e 1, respectivamente. A COX-1 é expressa constitutivamente na maioria das células, já a COX-2 pensava-se estar presente, de forma significativa, apenas em situações inflamatórias. No entanto hoje, estudos têm indicado que essa enzima medeia uma variedade de respostas fisiológicas do organismo, sendo expressa fisiologicamente nas células endoteliais, ovários, útero, cérebro, medula espinhal, rins e outros órgãos (HINZ; BRUNE, 2001).

**Figura 3.** características das COX-1, 2, 3

As isoformas COX-1 e COX-2 têm 60% de semelhança nas suas



sequências de aminoácidos (TOH, 1989; DE WITT *et al.*, 1990; SHIMOKAWA *et al.*, 1990; SHIMOKAWA; SMITH, 1991; SHIMOKAWA; SMITH, 1992). A COX-3, uma variante derivada do gene da COX-1, ainda não tem uma função clara (CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002). Existem diferenças importantes na regulação e expressão dessas enzimas em vários tecidos. A COX-1 é expressa na maioria dos tecidos. Ela é descrita como uma “enzima responsável pela faxina”, reguladora de processos celulares (assim como citoproteção gástrica, homeostase vascular, agregação plaquetária e função renal) e é estimulada por hormônios ou fatores de crescimento. Muitos estudos afirmam que a COX-2 não é usualmente detectada na maioria dos tecidos, e que sua expressão aumentaria durante estados inflamatórios ou experimentalmente em resposta a estímulos mitógenos. Como um exemplo, fatores de crescimento e interleucina-1 estimulam a expressão de COX-2 em fibroblastos, enquanto que a endotoxina desempenha a mesma função nos monócitos/macrófagos (LEE *et al.*, 1992; DEWITT; MEADE; SMITH, 1993). A COX-2 é expressa constitutivamente no cérebro, rins, ossos e provavelmente no sistema reprodutor feminino (DUBOIS *et al.*, 1998). A expressão da COX-2 é inibida por glicocorticóides (O'BANION; WINN; YOUNG, 1992). Essa propriedade pode contribuir para o efeito antiinflamatório significativo dos glicocorticóides. Em quase todos os tecidos normais foi detectada a presença estrutural da COX-1 (DUBOIS *et al.*, 1998) e baixos a indetectáveis da COX-2, a qual pode ser expressa em maior quantidade mediante presença de citocinas, fatores de crescimento e estimulantes tumorais, como dito anteriormente (FITZGERALD; PATRONO, 2001; HARRIS; BREYER, 2001), sugerindo sua relevância no câncer e em processos inflamatórios. A COX-3 parece ser expressa em altos níveis no sistema nervoso central e também é encontrada no coração (CHANDRASEKHARAN *et al.*, 2002; SCHWAB; SCHLUESENER; LAUFER, 2003).

Como as ciclooxigenase possuem papéis anatômicos e fisiológicos diferentes, a inibição diferenciada de cada uma ou a inibição em conjunto resultará em diferentes padrões de efeitos no organismo.

Apesar de muitos estudos afirmarem que a COX-2 é produzida em estados inflamatórios, o efeito da inibição da COX-2 na inflamação não está completamente elucidado. Camundongos nocauteados para COX-2 são tão

suscetíveis para inflamação quanto camundongos normais (MORHAM *et al.*, 1995; DINCHUK *et al.*, 1995). Paradoxalmente, camundongos nocauteados para COX-1 mostraram menos ulceração depois da administração de indometacina que os camundongos normais mesmo tendo uma taxa de prostaglandinas  $E_2$  diminuída em 99% (LANGENBACH *et al.*, 1995). Realmente, talvez a COX-2 possua propriedades antiinflamatórias. Usando um modelo animal de inflamação, pleurite induzida por carragenina, um estudo mostrou que a expressão máxima de COX-2 coincidiu com a resolução da inflamação e foi associada com a síntese menor de prostaglandina  $E_2$  (GILROY *et al.*, 1999). Outro estudo mostrou que os linfócitos T humanos expressam a isoenzima COX-2 e talvez desempenhe algum papel tanto na ativação inicial como tardia das células T, na produção de interleucina-2, de fator de necrose tumoral alfa e de interferon gama (INIGUEZ; PUNZON; FRENSNO, 1999).

Embora a inibição seletiva da COX-2 produza menos toxicidade gástrica, também pode estar envolvida com uma demora de cicatrização de lesões gástricas e pode aumentar a injúria em tecido inflamado, como no modelo experimental de colite (REUTER *et al.*, 1996; MIZUNO *et al.*, 1997; NEWBERRY; STENSON; LORENZ, 1999). Isso pode ser importante em pacientes com doença inflamatória intestinal, nos quais os AINEs podem exacerbar a doença (REUTER *et al.*, 1996). Alguns AINEs são seletivos para o receptor de COX-2 em baixas doses. Nabutone, por exemplo, parece ser mais efetivo na inibição de COX-2 que COX-1 em alguns estudos experimentais (ROTH, 1996). Cetorolaco também inibe a COX-2 mais que a COX-1 (PATRIGNANI *et al.*, 1994; GLASER *et al.*, 1995). Wallace (2000) refere sobre essa última droga (Cetorolaco), que na dose de 3mg/kg é inibidora seletiva da isoforma COX-1 (WALLACE *et al.*, 2000). Em geral, os AINES inibem, de forma variável, ambas as isoformas COX em suas dosagens terapêuticas. Deste modo, passaram a ser caracterizados de acordo com sua capacidade de inibição das COX-1 e 2. Se em sua dosagem terapêutica um determinado antiinflamatório inibe apenas a isoforma COX-2, sem interferência na atividade COX-1, denomina-se agente inibidor específico COX-2. Tais compostos foram intitulados coxibs (BROOKS, 1991; PAIRET; VAN-RYN, 1998). A esperança quanto à possibilidade de reter os efeitos antiinflamatórios de fármacos semelhantes ao ácido acetilsalicílico com menor potencial de toxicidade, principalmente a nível gástrico, levou aos esforços envidados para o desenvolvimento de AINES com maior seletividade para COX-2

versus COX-1 (MEADE; SMITH; DEWITT, 1993; MITCHELL *et al.*, 1993; MASSFERRER *et al.*, 1994; O'NEILL *et al.*, 1994). Os coxibs representam grande avanço farmacológico pelos menores efeitos colaterais e conseqüente maior segurança para o sistema gastrointestinal. Dois grandes ensaios clínicos, envolvendo cerca de 8000 pacientes, avaliaram a eficácia dos coxibs e o risco associado de complicações gastrointestinais: o *Vioxx Gastrointestinal Outcomes Research* (VIGOR), e o *Celecoxib Long-term Arthritis Safety Study* (CLASS). A conclusão em ambos foi a de que os coxibs são realmente mais seguros que os AINEs não seletivos, apresentando cerca de 40 a 60% de redução nas complicações gastrointestinais. Os inibidores específicos da COX-2 (coxibs) não inibem a COX-1 em doses terapêuticas, mas o efeito poupador da COX-1 nunca é completo, principalmente em altas dosagens (FITZGERALD; PATRONO, 2001). Os inibidores seletivos da COX-2 além de possuírem determinadas indicações terapêuticas como polipose adenomatosa familiar e, provavelmente, na prevenção de doenças neurológicas, como a demência de Alzheimer, também têm demonstrado interferir com tumorigênese e apoptose, podendo ser opção terapêutica e quimiopreventiva para pacientes com outros tipos de neoplasias. Maiores avaliações são necessárias para confirmação destas recentes indicações clínicas. Após a criação dos coxibs diversos estudos foram desenvolvidos como intuito de provar a maior segurança gastrointestinal desses medicamentos. Entretanto, esses mesmos estudos suscitaram dúvidas quanto à segurança cardiovascular dos mesmos. O primeiro estudo a levantar essas dúvidas foi o VIGOR (BOMBARDIER *et al.*, 2000), publicado em 2000, que visava comparar a toxicidade gastrointestinal de dois AINEs: rofecoxib e naproxeno. Ao analisarmos as classes de inibidores da cicloxigenase, temos que a aspirina provoca uma modificação covalente da enzima, bloqueando irreversivelmente sua atividade. Como as plaquetas humanas expressam apenas COX-1, a aspirina bloqueia irreversivelmente esta enzima e, conseqüentemente, sua produção de TXA<sub>2</sub>. A inibição funcional da ativação plaquetária dependente de TXA<sub>2</sub> requer supressão da capacidade de gerar esse prostanóide superior a 95% e somente a aspirina é comprovadamente capaz de sustentar tal efeito durante seu intervalo de administração. Apesar de também provocar supressão de prostaciclina, a supressão concomitante de tromboxano predomina e o efeito final é cardioprotetor (FITZGERALD, 2002). A classe de AINEs tradicionais inibe a produção de TXA<sub>2</sub> e de

prostaciclina a um grau semelhante, apesar de haver pequenas variações na seletividade bioquímica por cada isoforma entre os diversos medicamentos e este efeito é reversível durante o intervalo de administração. Portanto, a inibição intermitente da função plaquetária não produziria efeito final cardioprotetor. A dúvida restante, contudo, é sobre o efeito cardiovascular da supressão de prostaciclina sem concomitante supressão de tromboxano, determinada pelos inibidores específicos de COX-2. Estudos com a deleção de genes que codificam os receptores para prostaciclina (IP) e PGE2 (EP2) de camundongos não demonstram ocorrência de trombose espontânea, mas os animais cujos genes para IP foram deletados apresentaram responsividade aumentada a estímulos trombóticos (NARUMIYA; FITZGERALD, 2001; MURATA *et al.*, 1997). De tal modo, seria esperado um aumento de efeitos adversos cardiovasculares apenas em indivíduos predispostos. A COX-1 é a única isoforma presente em plaquetas, onde leva à formação de TXA2 (FITZGERALD; PATRONO, 2001). Os recentes resultados dos três últimos estudos envolvendo rofecoxib, celecoxib e valdecoxib fortaleceram evidências preexistentes (DRAZEN, 2005) e convenceram especialistas do maior risco de eventos adversos cardiovasculares da classe, como IAM, AVC, hipertensão e insuficiência cardíaca (BRESALIER *et al.*, 2005), (DRAZEN, 2005). Há indicativos de que a cardiotoxicidade seja dose-dependente e proporcional à seletividade para COX-2 (HUGHES, 2005).

Como toda nova medicação, os coxibs devem passar por uma observação criteriosa e adicionais análises clínicas em larga escala serão importantes para determinação do real benefício e segurança destes agentes. E por serem drogas de alto custo, torna-se fundamental uma correta avaliação custo-benefício para o uso adequado dos atuais e futuros inibidores seletivos da COX-2 (KUMMER; COELHO, 2002).

## **1.2 Breve abordagem da fisiologia do trato digestório**

Existem poucos estudos que mostrem detalhadamente a fisiologia e anatomia do trato gastrointestinal de ratos. Bredo e Odo (2010) descrevem as partes do aparelho digestório na espécie *Rattus norvegicus albinus*. Inicialmente a boca seguida pelo esôfago com suas partes torácica e abdominal; o estômago dividido em fundo, corpo, região pilórica; duodeno, com suas porções cranial, descendente,

flexura duodeno caudal, duodeno ascendente, flexura duodeno-jejunal; jejuno e íleo; continuando com o cecum e depois passando para o intestino grosso, composto pelo cólon ascendente flexura cólica direita, cólon transverso, flexura cólica esquerda, cólon descendente e reto. A anatomia e fisiologia humanas e dos ratos são semelhantes.

O trato gastrointestinal é a principal porta de entrada de água e eletrólitos no organismo. O tubo digestório inicia-se na cavidade oral e inclui a faringe, esôfago, estômago, intestino delgado e o intestino grosso. A estrutura do tubo digestório tem aproximadamente o mesmo arranjo ao longo de toda sua extensão, sobretudo a partir do terço inferior do esôfago. Tomando-se como exemplo um corte transversal do intestino delgado, podem-se identificar quatro camadas principais: mucosa, submucosa, muscular e serosa.

A digestão começa na cavidade oral, onde os alimentos são misturados à saliva, triturados e fragmentados pela ação da mastigação. Uma vez formado o bolo alimentar, este será então deglutido. A faringe participa do processo de deglutição. Ao final da faringe tem início o esôfago que atravessa toda a cavidade torácica e limita-se com o estômago. O esôfago conecta-se à faringe com o estômago. Sua função é transportar o bolo alimentar da faringe para o estômago. O estômago é um órgão oco, localizado na cavidade abdominal, comunicando-se com o esôfago e o intestino delgado. As camadas que constituem suas paredes estão estruturalmente preparadas para participar dos processos digestivos. Na maioria dos mamíferos, o estômago comporta-se como reservatório transitório de alimentos; promove a mistura destes com o suco gástrico, convertendo-os em massa pastosa de consistência uniforme, denominada quimo (CURI; ARAÚJO, 2009).

As células parietais do estômago secretam hidrogênio e cloreto que no lúmen gástrico formam ácido clorídrico. O estômago inicia a digestão de proteínas por intermédio da pepsina e continua a digestão do amido iniciada na boca pela amilase salivar. O esvaziamento gástrico do quimo para o intestino se dá de maneira lenta, sob estrito controle neuroendócrino. O estômago pode ser dividido em cárdia, corpo, fundo e região pilórica. O intestino delgado compreende a região imediatamente caudal ao piloro até o esfíncter ileocecal. Constitui-se de duodeno, jejuno e íleo. É nessa parte do TGI que a maioria das enzimas digestivas atua sobre as substâncias provenientes dos alimentos. No intestino delgado ocorre a maior



parte dos processos digestivos e absorptivos. Nele também ocorrem processos de controle endócrino, pois produz e secreta hormônios para o sangue. Com diâmetro maior que o intestino delgado, o intestino grosso compõe a parte final do TGI. Ele tem início após a válvula ileocecal e abrange o ceco, o apêndice vermiforme, o cólon (ascendente, transverso, descendente e sigmóide), o reto e o canal anal. Desempenha as seguintes funções: absorção de água e eletrólitos, produção de muco e formação do bolo fecal (CURI; ARAÚJO, 2009).

A absorção pode ocorrer por duas vias: entre células, chamada de absorção paracelular ou através de células, chamada de absorção transcelular. A via paracelular tem como limitação o tamanho da substância. Ou seja, muitos produtos da digestão de nutrientes podem ser grandes demais para passar entre células. Assim, a via paracelular é mais utilizada por íons, sendo que íons monovalentes são absorvidos mais prontamente do que íons divalentes (PAULINO; PINHEIRO, 2006).

A via transcelular implica na passagem da substância pelas duas membranas das células, a membrana apical e a membrana basolateral.

A via transcelular é a principal forma de absorção de nutrientes e nesta, a passagem através da membrana pode ocorrer de diferentes modos :

- a) Difusão passiva - quando a membrana é permeável e existe gradiente de concentração entre os dois lados da membrana.
- b) Difusão facilitada - quando existe gradiente de concentração mas a membrana não permite a passagem da substância. Nestes casos o transporte se dá com a ajuda de transportadores, que são proteínas inseridas na membrana.
- c) Transporte ativo – é contra gradiente, exige a presença de transportadores e, além disso, o transporte se faz com gasto de energia (PAULINO; PINHEIRO, 2006).

O trato gastrointestinal absorve diariamente grande quantidade de líquidos e solutos. A maior parte da absorção acontece no jejuno e íleo. Em termo de vias de transporte, cabe salientar que à medida que se caminha pelo intestino em direção ao ânus, modificações nas junções intercelulares vão tornando a via paracelular cada vez menos permeável, ou seja, os segmentos vão sucessivamente passando de epitélios *leaky* para epitélios do tipo *tight*, o que aumenta a participação da via transcelular nas porções finais do trato gastrointestinal. Isto confere às porções

distais do intestino a capacidade de regulação fina da absorção e secreção das substâncias (CURI; ARAÚJO, 2009). .

Os eletrólitos são absorvidos e secretados ao longo do intestino. O sódio, em sua maior parte, sofre absorção no duodeno e jejuno. No íleo e no cólon, a absorção encontra grandes barreiras pelo gradiente existente. O transporte na direção da luz intestinal é impedido pela baixíssima permeabilidade da via paracelular dos segmentos distais. A absorção de sódio requer a presença, na membrana basolateral das células, da bomba  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPase, associada à assimetria das membranas basolateral e luminal, em relação às suas propriedades de transporte. Esse arranjo cria uma situação extremamente favorável à absorção do  $\text{Na}^+$  a partir da luz intestinal por gerar uma diferença de potencial elétrico transepitelial, com a face intersticial negativa em relação à luminal e baixa concentração de  $\text{Na}^+$  intracelular. Assim, o  $\text{Na}^+$  que se encontra na luz intestinal possui força movente proveniente de seu gradiente de potencial eletroquímico para atravessar a membrana luminal em direção ao interior celular. Uma vez dentro da célula, é contínua e ativamente bombeado para o espaço intercelular e intersticial por ação das bombas  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPases. A absorção de  $\text{Na}^+$  ocorre de diferentes maneiras. Há o transporte acoplado aos monossacarídeos glicose e galactose, a aminoácidos e vitaminas hidrossolúveis. Além dessas vias o sódio pode ser absorvido por co-transporte com íons cloreto, mecanismo encontrado predominantemente no jejuno e íleo, onde se processa por acoplamento de um íon sódio e um íon cloreto, num transporte eletroneutro que responde por cerca de 20% da absorção de  $\text{Na}^+$  no intestino delgado. Outro mecanismo de transporte envolve a presença de um trocador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  na membrana celular do jejuno e íleo. O hidrogênio proveniente da hidratação do  $\text{CO}_2$  intracelular é lançado na luz em troca do  $\text{Na}^+$ . Da Hidratação do  $\text{CO}_2$ , também surge o íon  $\text{HCO}_3^-$ , que é lançado na luz por um trocador  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ . Da associação dos dois mecanismos resulta a absorção de  $\text{NaCl}$ . O Cloreto é absorvido por dois sistemas principais: a) por co-transporte eletroneutro com  $\text{Na}^+$  ( $\text{Na}^+:\text{Cl}^-$ ) e b) por cotransporte com  $\text{HCO}_3^-$  ( $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ ). Na membrana basolateral, a saída de  $\text{Cl}^-$  se dá de maneira passiva, possivelmente mediada por uma proteína transportadora. Além da via transcelular, a absorção pode ocorrer pelo espaço intercelular devido ao gradiente elétrico gerado pelo transporte de cátions, sobretudo de  $\text{Na}^+$ . O potássio tanto é absorvido quanto secretado pelo

epitélio intestinal. No intestino delgado, sobretudo no jejuno e íleo, o  $K^+$  é reabsorvido na borda em escova dos vilos, tanto passivamente através de canais, quanto ativamente por  $H^+ - K^+ATPase$ . Nas criptas, o  $K^+$  é secretado em função do gradiente elétrico que se estabelece pela absorção de íons positivos, como  $Na^+$  e  $H^+$ . Na membrana basolateral, o  $K^+$  é transportado para o interstício através de canais, ou seja, de forma passiva. No cólon, onde se dá a regulação fina dos transportes de íons e água, a absorção ocorre quando há aumento das concentrações luminiais do íon e secreção em caso de diminuição desta concentração, regulando a homeostase do  $K^+$  nas diferentes situações (CURI; ARAÚJO, 2009).

A regulação do transporte intestinal de eletrólitos, água, solutos e líquidos em geral, depende de propriedades intrínsecas dos enterócitos, de hormônios de ação local e sistêmica, fatores de crescimento, neurotransmissores e de uma interação complexa entre nervos da submucosa e células da imunidade na lâmina própria. Uma variedade de mediadores influenciam direta e indiretamente no transporte intestinal (quadro 1). Os enterócitos raramente encontram um único sinal, mas provavelmente um coquetel de sinais parácrinos e endócrinos simultaneamente ou sequencialmente (PÁCHA, 2000). Para entender a regulação fisiológica dos processos de transporte do intestino, uma abordagem integral é necessária, se levarmos em consideração a interação complexa e multifacetada entre as células mucosas, células endócrinas, neurônios, células do sistema imune, vasos linfáticos, sangue e músculos lisos, os quais tem uma relevância maior no controle deste transporte que o enterócito propriamente dito (BANKS; FARTHING, 2002).

**Quadro 1.** Fatores que influenciam a absorção e secreção de água e eletrólitos

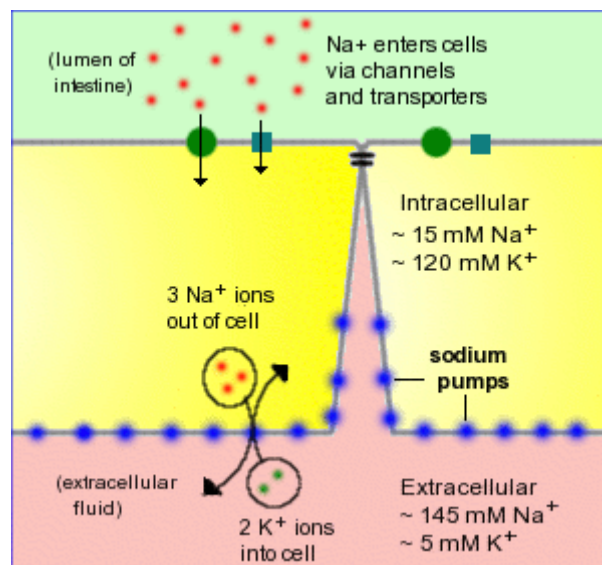
AGENTES QUE AUMENTAM A ABSORÇÃO E INIBEM A SECREÇÃO	AGENTES QUE AUMENTAM A SECREÇÃO E INIBEM A ABSORÇÃO
Nutrientes	Toxinas bacterianas
Glicose	Toxina víbrio colera
Aminoácidos	Toxina de escherichia coli
Peptídeos	Ácidos biliares
Neurotransmissores	Neurotransmissores
Neuropeptídeo Y	Acetilcolina
Noradrenalina	Prostaglandinas
Dopamina	Leucotrienos
Somatostatina	Serotonina
Encefalina	Histamina
Angiotensina	Peptídeo intestinal vasoativo
Glicocorticóides	Neurotensina
	Colecistocinina
	Glucagon
	Secretina
	Bradicinina
	Substância P
	Radicais livres de oxigênio
	Bombesina
	Fator de ativação plaquetária
	Trifosfato de adenosina (ATP)

**Fonte:** Read, 1992.

O intestino delgado absorve uma quantidade muito grande de água. Essa água é proveniente tanto da dieta quanto das secreções provenientes das glândulas salivares, estômago, pâncreas, fígado e do próprio intestino delgado. O movimento de água através das membranas celulares ocorre através de osmose. É importante entender que no intestino delgado, existe uma forte ligação entre a absorção de água e a absorção de solutos. Ou melhor, a absorção de água é absolutamente dependente da absorção de solutos, principalmente em se tratando do sódio. O sódio é absorvido através de vários mecanismos: diretamente por difusão eletrogênica, unido ao cloreto, em troca com hidrogênio ou unido a substâncias orgânicas como glicose e aminoácidos (CORTEGUERA, 1999). No co-transporte de

sódio com glicose e aminoácidos, a bomba de sódio estabelece uma osmolaridade elevada entre os espaços intercelulares adjacentes aos enterócitos e no espaço intercelular a água se difunde em resposta ao gradiente osmótico criado pelo sódio. A água, assim como o sódio, se difundem para os capilares sanguíneos dentro dos vilus. O intestino pode absorver água mesmo quando a osmolaridade no lúmen intestinal está alta, pela maior osmolaridade criada pela bomba de sódio embebida na membrana basolateral dos enterócitos (figura 4).

**Figura 4.** Absorção de sódio e água no intestino delgado



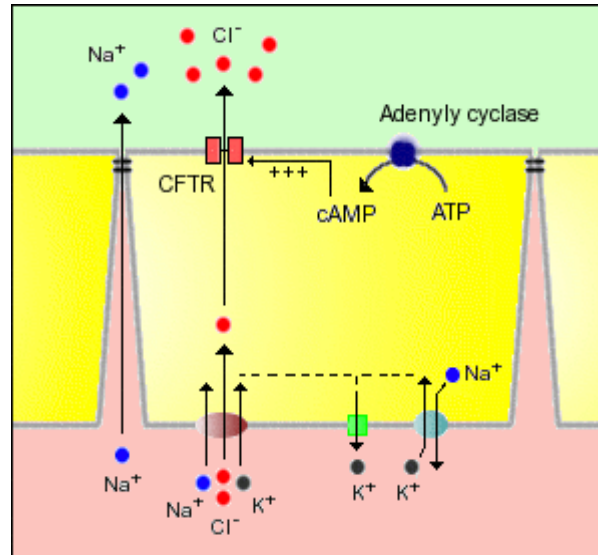
Fonte: Bowen, 1995

Em ratos, existem cerca de 150.000 bombas de sódio por enterócito que permite a célula transportar cerca de 4,5 bilhões de íons de sódio para fora da célula em um minuto (HARMS; WRIGHT, 1980).

Os íons cloreto entram nas criptas das células por co-transporte com sódio e potássio. O sódio é bombeado para fora da célula via bomba de sódio e o potássio flui através dos canais de potássio. A adenilciclase pode ser ativada por inúmeras substâncias secretagogas que levam à geração de monofosfato de adenosina cíclico (AMPc). Concentrações intracelulares elevadas de AMPc nas criptas ativam o canal regulador de condutância transmembrana da fibrose cística (CFTR) resultando em secreção de íons cloreto dentro do lúmen. Já o acúmulo de ânions cloreto nas criptas criam um potencial elétrico que atrai o sódio resultando em secreção de cloreto de sódio (NaCl) na luz intestinal. NaCl nas criptas cria um

gradiente osmótico através da junção celular e a água é drenada no lúmen (figura 5).

**Figura 5.** Absorção e secreção de eletrólitos no intestino delgado



Fonte: Bower, 2006.

Muitos tipos de bactérias produzem toxinas que afetam a produção de adenilciclase nas criptas dos enterócitos, levando a um aumento de AMPc o que ocasiona abertura permanente dos canais de cloro. Isso resulta em secreção massiva de água que se manifesta através de diarreia. A toxina do cólera é o melhor exemplo desse fenômeno (BOWEN, 2006).

O que foi relatado acima não passa de um resumo grosseiro da regulação fisiológica dos processos de transporte do intestino, que para serem realmente entendidos se faz necessária uma abordagem integral, levando em consideração a interação complexa e multifacetada entre as células mucosas, células endócrinas, neurônios, células do sistema imune, vasos linfáticos, sangue e músculos lisos, os quais tem uma relevância maior no controle deste transporte que o enterócito propriamente dito (BANKS; FARTHING, 2002).

### 1.3 COX e TGI

Uma variedade de fatores pode influenciar tanto na absorção como na secreção de substâncias no trato gastrointestinal incluindo mediadores inflamatórios que podem ser ativados por processos inflamatórios desencadeados por diversas causas incluindo agentes infecciosos.

Schotka, Stümpel e Jungermann (1999) sugeriram que a PGE<sub>2</sub> aumenta a atividade do co-transportador de glicose dependente de sódio e assim aumenta a absorção de glicose. Por outro lado, Sundaram *et al.* (1997) descreveram que o íleo inflamado em coelhos (com excesso de prostaglandinas) expressa baixos níveis do co-transportador de glicose acoplado ao sódio, o que indica que prostaglandinas (PGs) podem inibir a atividade destes co-transportadores. Kimberg *et al.* (1974), têm sugerido que PGs elevam a atividade da adenilato ciclase em seus sítios de ligação na mucosa do intestino delgado e assim inibem a atividade da Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>ATPase na mucosa do intestino (MOZSIK, 1970; PARKINSON *et al.*, 1972). Além do mais, uma queda na absorção de glicose devido ao aumento de PGs e citocinas tem sido observado tanto em pacientes com inflamação grave (SOMASUNDARAM; SADIQUI; SUBRAMONIAM, 1983) como em pacientes cirúrgicos (OHRI *et al.*, 1994; WICKS *et al.*, 1994).

Beubler *et al.* (2001) demonstraram que o estímulo à formação de PGE<sub>2</sub> pela toxina do cólera que resulta na secreção de fluidos, é mediado primariamente via Ciclooxygenase 2 (COX-2).

A COX-1 parece ter fundamental papel em manter a arquitetura glandular do estômago. Constitui-se na única isoforma identificada na mucosa gástrica de animais normais, incluindo humanos, estando intimamente envolvida na prevenção de erosões e ulcerações (BEEJAY; WOLFE, 1999). Entretanto, diante de infecções ou úlceras gástricas já formadas, assim como infecção pelo *Helicobacter pylori* (FITZGERALD; PATRONO, 2001), detecta-se maior expressão de COX-2 nas células epiteliais do estômago, induzindo a formação de prostaglandinas que contribuem para a cicatrização destas lesões (DUBOIS *et al.*, 1998; EMERY, 2001). Tais prostaglandinas (PG), dentre elas a do tipo E<sub>2</sub> com atividade predominante,

agem estimulando a secreção de fluidos e cloretos pela mucosa, o que impede a invasão de bactérias na circulação sistêmica (ECKMANN *et al.*, 1997).

O uso de antiinflamatórios não esteroidais (AINES) provavelmente pode afetar o transporte gastrintestinal de água e eletrólitos através da mucosa do trato digestório. Alterações no tônus gastrintestinal também são capazes, *per si*, de alterar esse transporte (LEVENS, 1983; FISHER; PEARSONS, 1953). Santos *et al.* (2007) afirmaram que a inibição de COX-2 retarda o esvaziamento gástrico e aumenta o tônus gastrintestinal em ratos acordados e anestesiados.

Tendo em vista que os AINES modificam a motilidade gastrintestinal, o que poderia por si só modificar a taxa de absorção/secreção intestinal e que essas drogas podem alterar a formação de PGs envolvidas na secreção gastrintestinal, esse estudo visa avaliar o efeito de AINES (inibidores seletivos das ciclooxigenases 1 e 2 e AINES não seletivos) sobre o transporte ileal de água e eletrólitos (sódio, potássio e cloreto) em ratos anestesiados.



## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

Estudar os efeitos de antiinflamatórios não esteroidais (AINES) sobre o transporte ileal de água e eletrólitos (sódio, potássio e cloro) em ratos anestesiados.

### **2.2 Objetivo específico**

Avaliar o efeito de inibidores seletivos (Cetorolac e Celecoxibe) sobre o transporte ileal de água e eletrólitos em ratos anestesiados.

Avaliar o efeito de inibidores não seletivos (Indometacina) da COX-1 e 2 sobre o transporte ileal de água e eletrólitos em ratos anestesiados.

Avaliar as alterações histopatológicas na mucosa ileal de ratos tratados com inibidores seletivos e não seletivos da COX-1 e 2.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais e princípios éticos**

Os experimentos foram realizados em ratos Wistar, machos, pesando entre 180 e 220g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará – UFC e abrigados no Biotério Setorial da FAMED-Sobral-UFC no Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Sobral. Os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com os princípios para uso e experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Esse trabalho foi aprovado na comissão de ética em pesquisa animal do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da UFC (Número: 3207).

#### **3.2 Drogas**

Todas as drogas utilizadas nesse estudo foram preparadas imediatamente antes da administração. Foram utilizadas cetorolaco (Inibidor seletivo da COX-1 na dose de 3mg/Kg) (SANTOS, 2007), indometacina (inibidor não-seletivo da COX - 5mg/Kg) (WALLACE *et al.*, 2000) e celecoxibe (Inibidor celetivo COX-2, 10 mg/Kg) (SOUZA *et al.*, 2003). Cetorolaco e celecoxibe foram diluídos em solução salina (NaCl a 0,9%) e indometacina em solução tampão fosfato (pH 8.0).

#### **3.3 Protocolos experimentais**

Após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram mantidos em repouso por 30min para a estabilização das parâmetros hemodinâmicos. Todos os animais foram monitorados por um período total de pelo menos 60min, sendo os 20min iniciais de monitoração considerados como período basal. A seguir, os animais foram distribuídos em um dos protocolos experimentais seguintes e tratados por 3 dias por gavagem com:

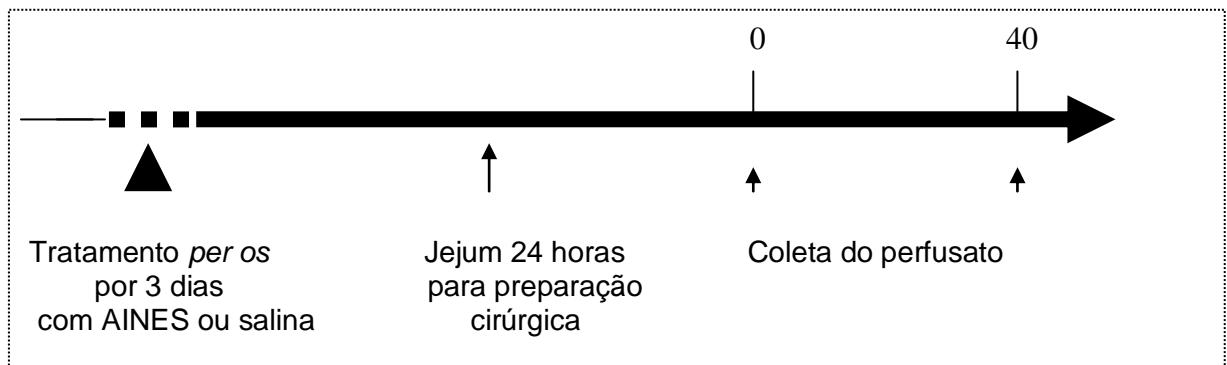
1. Protocolo 1: Cetorolaco (Inibidor seletivo da COX-1 na dose de 3mg/Kg) (SANTOS, 2007);

2. Protocolo 2: Celecoxibe (Inibidor celetivo COX-2, na dose de 10 mg/Kg) (SOUZA *et al.*, 2003);
3. Protocolo 3: Indometacina (inibidor não-seletivo da COX - 5mg/Kg) (WALLACE *et al.*, 2000);
4. Protocolo 4: Cetorolaco + Celecoxibe;
5. Protocolo 5: Salina 0,9% e
6. Protocolo 6: Tampão fosfato.

Todos os AINES aqui utilizados foram diluídos em solução salina (NaCl a 0,9%) exceto a indometacina que foi diluída em solução tampão fosfato (pH 8.0).

O perfusato foi colhido por 40 minutos, cada protocolo foi constituído aproximadamente de 6 animais (Figura 2).

**Figura 6.** Delineamento experimental utilizado para avaliação do efeito de AINES ou veículo sobre o transporte ileal de água e eletrólitos de ratos anestesiados.



### 3.4 Estudo do transporte de água e eletrólitos através da mucosa ileal

Os animais foram tratados durante três dias com os AINES já descritos *per os* e após jejum de 24 horas com livre acesso à água, os animais foram anestesiados com Uretana (1,2mg /kg corporal, i.p). A seguir, foi realizada uma laparotomia mediana de aproximadamente 5 (cinco) cm para visualização das vísceras. Foi realizado o isolamento em separado de segmento que dista aproximadamente 30 cm do íleo terminal (LIMA *et al.*, 2002) e 5 cm da flexura duodenojejunal (BEUBLER *et al.*, 2001). As cânulas foram introduzidas nas extremidades proximal e distal do segmento, mediante criação de fístulas. As fístulas

foram ocluídas e as cânulas fixadas. A seguir, o íleo e as extremidades das cânulas foram reintroduzidas na cavidade abdominal e a parede abdominal foi aproximada com pontos separados com fio de nylon 3.0. O segmento isolado e as cânulas formaram o circuito que foi perfundido.

Após a cirurgia, foi iniciada a perfusão mediante conexão da cânula proximal a uma bomba do tipo peristáltica (Mini-pump variable flow, Control Company, Edgewood Friendswood, TX, USA) promovendo fluxo de 0.14 mL/min, com solução modificada de ringer (NaCl 6,5g/L; KCl 0,14g/L; CaCl<sub>2</sub> 0,12g/L; NaHCO<sub>3</sub> 0,2g/L; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,01g/L) e fenolsulfaleína 50µg/mL, como marcador não absorvível para o cálculo do fluxo de água. O líquido perfusor foi mantido aquecido em banho-maria a 37°C.

Após estabilização de fluxo luminal, o perfusato foi coletado em tubos de ensaio após 40min (03 amostras). O volume de cada amostra foi medido em becker. Ao final do experimento, os animais foram sacrificados e o segmento ileal perfundido retirado, sendo imediatamente pesado. Nova medição de peso desse segmento foi realizada após o mesmo ser mantido em estufa a 100°C por 48h, de modo a permitir a correção dos parâmetros funcionais.

Alíquotas da solução perfusora foram obtidas no início (03 amostras) e no final (03 amostras) do experimento, para determinação dos parâmetros controle. Foram determinadas as diferenças entre as amostras controle e as coletas do perfusato quanto aos valores das concentrações de sódio, potássio e cloreto (mmol/L).

A concentração de fenolsulfaleína foi determinada mediante espectrofotometria (Spectrophotometer Model B382; Micronal S. A Aparelhos de Precisão; São Paulo, SP, Brasil), seguindo o método descrito por Schedl e Clifton (1961). As dosagens das concentrações de sódio e potássio no perfusato foram medidas por fotometria de chama (FC180 Celme ®). O método de colorimetria foi usado para determinação da concentração de cloretos (Labtest Bio. Diagnósticos; Belo Horizonte, MG, Brasil) foi realizado de acordo com as instruções do fabricante (LIMA *et al.*, 2002).

### **3.5 Análise histopatológica da mucosa ileal**

Após o sacrifício dos animais, foram retirados anéis de aproximadamente 0,5 cm das extremidades perfundidas do íleo para posterior análise histológica. A seguir, tais espécimes foram fixados em formol tamponado 10% e processados para coloração pelo método HE (hematoxilina-eosina) para exame em microscopia óptica (40x). A análise histopatológica envolveu a observação do aspecto de vilos e criptas, assim como da mucosa intestinal. Para a análise morfométrica, a medida de vilos foi verificada considerada desde o ponto de encontro entre dois vilos até o topo do vilos em mensurado (altura do vilos) e criptas intestinais (definida como o ponto de encontro entre dois vilos medidos até o início da camada submucosa), para a correlação para a capacidade absorptiva (razão da altura de vilos/ profundidade das criptas). A razão entre o comprimento dos vilos intestinais e as criptas de Lieberkühn foi calculada em  $\mu\text{m}$  utilizando-se o software ImageJ versão 1,36, sendo medidos entre 5 e 10 vilos e criptas por corte histológico.

### **3.6 Análise estatística dos resultados**

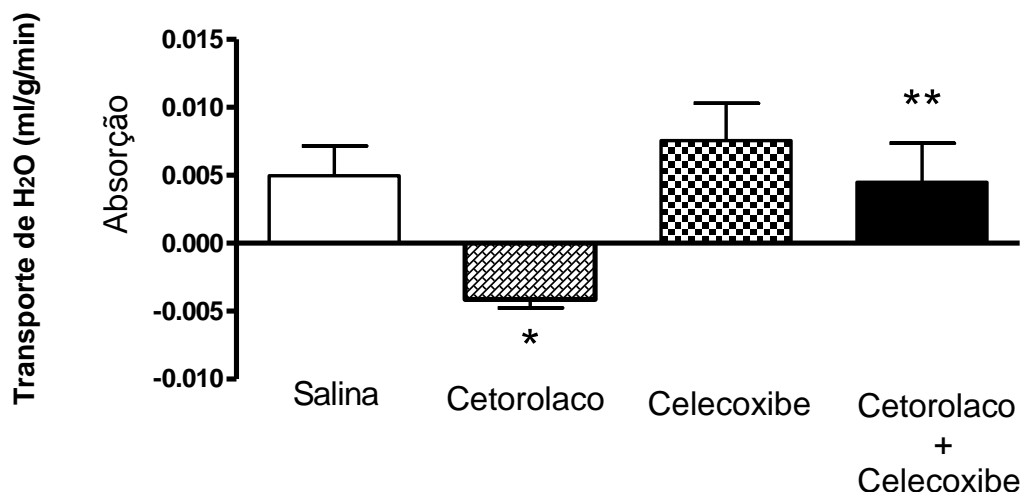
Os cálculos do fluxo foram feitos com o auxílio do programa Microsoft Excel 4.0 (Microsoft Corporation, Cupertino, CA, USA) para Windows, sendo os grupos testados usando o teste “t” de Student. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M, sendo as diferenças consideradas estatisticamente significativas quando  $p < 0,05$ .

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Efeitos do pré-tratamento com inibidores da ciclooxigenase 1 e 2 (cetorolaco, celecoxibe) sobre o transporte ileal de água (H<sub>2</sub>O) em ratos anestesiados

No gráfico 1 observa-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com cetorolaco, celecoxibe ou cetorolaco + celecoxibe sobre o transporte ileal de água. Em relação ao grupo controle (salina), a administração de cetorolaco aos animais promoveu secreção ileal de água ( $- 0,00414 \pm 0,00062$  ml/g/min vs  $0,0043 \pm 0,0021$  ml/g/min –  $p < 0,05$ , teste “t” de Student). O pré-tratamento com celecoxibe, apesar de promover absorção de água, não o fez de forma significativa em relação ao grupo controle ( $0,00756$  ml/g/min  $\pm 0,0027$ ml/g/min vs  $0,0021$  ml/g/min  $\pm 0,0021$ ml/g/min –  $p > 0,05$ , teste “t” de Student). O tratamento com cetorolaco + celecoxibe impediu o efeito do celecoxibe isoladamente ( $0,0045 \pm 0,0029$  ml/g/min vs  $0,0043 \pm 0,0021$  ml/g/min –  $p < 0,05$ , teste “t” de Student )

**Gráfico 1 – Efeitos do pré-tratamento com inibidores da ciclooxigenase 1 e 2 sobre o transporte ileal de água (H<sub>2</sub>O) em ratos anestesiados**

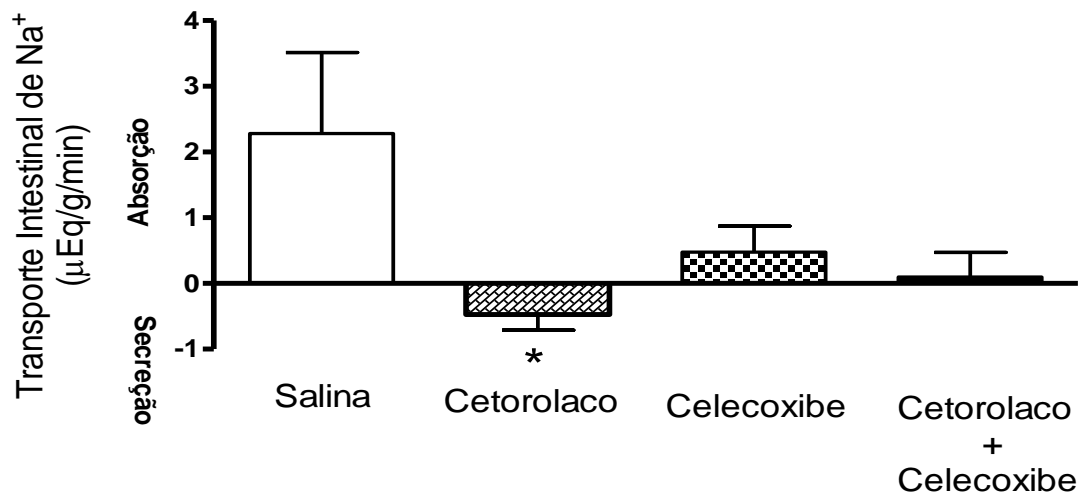


Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com salina (N=6), cetorolaco (N=6), celecoxibe (N=5) ou cetorolaco + celecoxibe (N=6). Decorridos 3 dias de tratamento, os animais foram anestesiados com uretana 1,2mg/100g e a seguir 30 cm do íleo terminal foram perfundidos com uma solução de Ringer modificada com vermelho de fenol (50µg/mL) utilizando uma bomba peristáltica (0,16ml/min) ao longo de 40min. Alíquotas da solução perfusora e do perfusato serviram para a determinação da concentração de H<sub>2</sub>O por meio da dosagem da concentração de fenolsulfaleína mediante espectrofotometria e as diferenças entre essas concentrações se prestaram para determinar o transporte ileal de H<sub>2</sub>O em ml/g/min.\*  $p < 0,05$  vs salina (controle), \*\* $p < 0,05$  vs cetorolaco, teste “t” de Student.

#### 4.2 Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 (cetorolaco, celecoxibe) sobre o transporte ileal de sódio ( $\text{Na}^+$ ) em ratos anestesiados

No Gráfico 2 observa-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com cetorolaco, celecoxibe ou cetorolaco + celecoxibe sobre o transporte ileal de sódio. Em relação ao grupo controle (salina), a administração aos animais de cetorolaco promoveu secreção ileal de sódio ( $-0,47 \pm 0,23 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $2,280 \pm 1,235 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p < 0,05$ , teste “t” de Student). Já o pré-tratamento com celecoxibe, demonstrou uma pequena absorção ileal não significativa de sódio ( $0,476 \pm 0,4 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $2,280 \pm 1,235 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p > 0,05$ , teste Anova). O pré-tratamento com cetorolaco + celecoxibe não mostrou alteração no transporte ileal de sódio ( $0,0966 \pm 0,395 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $2,280 \pm 1,235 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p > 0,05$ , teste “t” de Student).

**Gráfico 2 – Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 sobre o transporte ileal de Sódio ( $\text{Na}^+$ ) em ratos anestesiados**

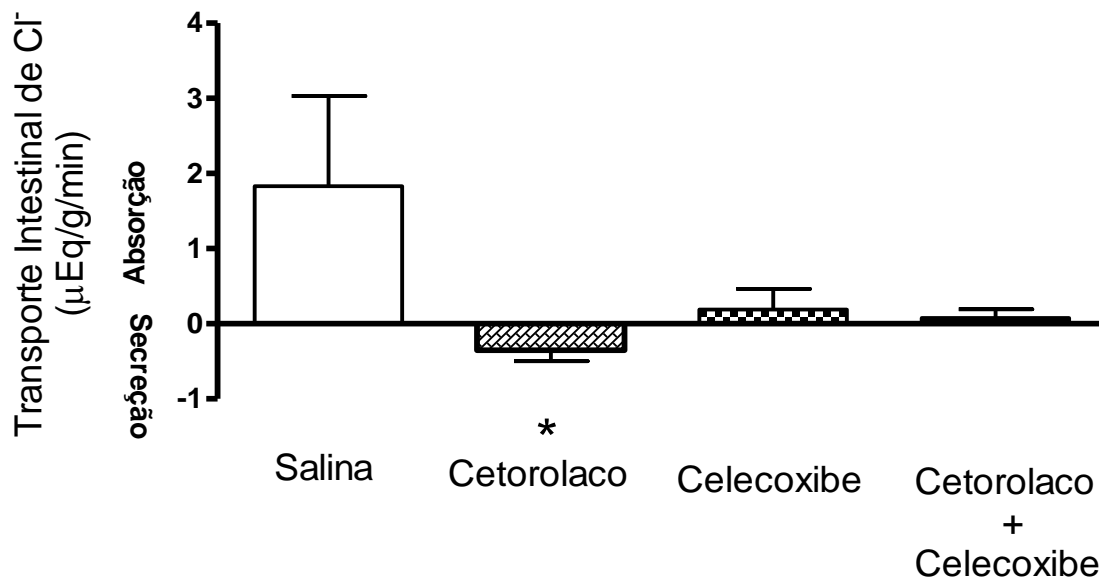


Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com salina (N=6), cetorolaco (N=6), celecoxibe (N=5) ou cetorolaco + celecoxibe (N=6). Decorridos 3 dias de tratamento, os animais foram anestesiados com uretana 1,2mg/100g, e a seguir 30 cm do íleo terminal foram perfundidos com uma solução de Ringer modificada com vermelho de fenol (50 $\mu\text{g/mL}$ ), utilizando uma bomba peristáltica (0,16ml/min) ao longo de 40min. Alíquotas da solução perfusora e do perfusato serviram para a dosagem da concentração de  $\text{Na}^+$  por meio de fotometria de chama e as diferenças entre essas concentrações se prestaram para determinar o transporte ileal de  $\text{Na}^+$  em  $\mu\text{Eq/g/min}$ . \*  $p < 0,05$  vs salina (controle), teste “t” de Student.

### 4.3 Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 (cetorolaco, celecoxibe) sobre o transporte ileal de cloro (Cl<sup>-</sup>) em ratos anestesiados

No Gráfico 3 observa-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com cetorolaco, celecoxibe ou cetorolaco + celecoxibe sobre o transporte ileal de Cloro (Cl<sup>-</sup>). Em relação ao grupo controle (salina), a administração de cetorolaco aos animais promoveu secreção ileal de cloro ( $-0,35 \pm 0,14 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $1,83 \pm 1,99 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p < 0,05$ , teste Anova). Já o pré-tratamento com celecoxibe, causou uma absorção mínima, sem significância, no transporte ileal de cloro ( $0,19 \pm 0,27 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $1,83 \pm 1,99 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p > 0,05$ , teste Anova). O pré-tratamento com cetorolaco + celecoxibe não mostrou alteração no transporte ileal de cloro ( $0,077 \pm 0,11 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $1,83 \pm 1,99 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p > 0,05$ , teste “t” de Student).

**Gráfico 3 – Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 sobre o transporte ileal de cloro (Cl<sup>-</sup>) em ratos anestesiados**



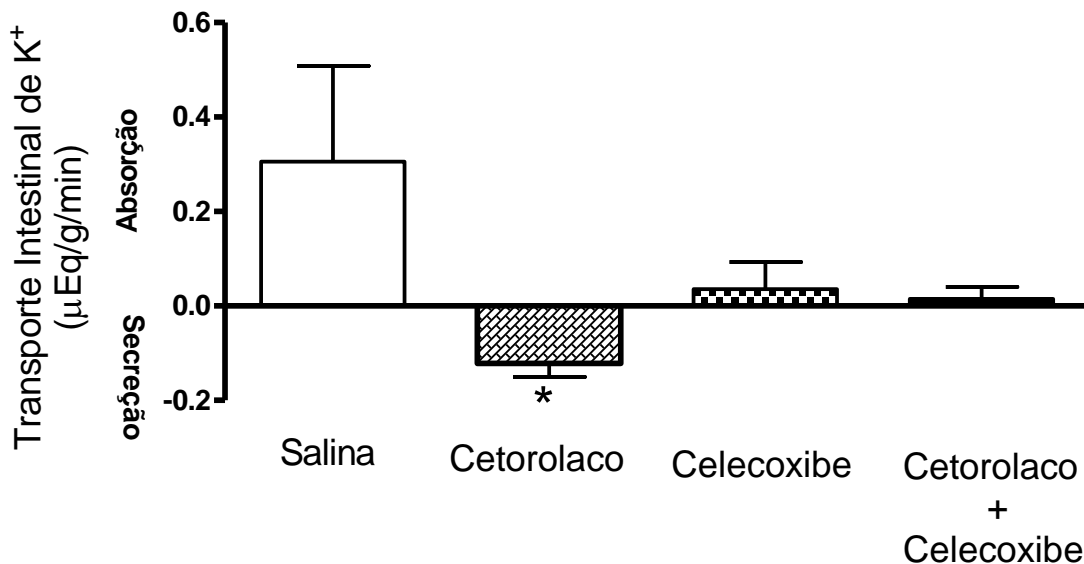
Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com salina (N=6), cetorolaco (N=6), celecoxibe (N=5) ou cetorolaco + celecoxibe (N=6). Decorridos 3 dias de tratamento, os animais foram anestesiados com uretana 1,2mg/100g e a seguir 30 cm do íleo terminal foram perfundidos com uma solução de Ringer modificada com vermelho de fenol (50μg/mL), utilizando uma bomba peristáltica (0,16ml/min) ao longo de 40min. Alíquotas da solução perfusora e do perfusato serviram para a dosagem da concentração de Cl<sup>-</sup> por meio de colorimetria e as diferenças entre essas concentrações se prestaram para determinar o transporte ileal de Cl<sup>-</sup> em μEq/g/min. \*  $p < 0,05$  vs salina (controle), teste “t” de Student.



#### 4.4 Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 (cetorolaco, celecoxibe) sobre o transporte ileal de potássio (K<sup>+</sup>) em ratos anestesiados

No Gráfico 4 observou-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com cetorolaco, celecoxibe e cetorolaco + celecoxibe sobre o transporte ileal de potássio. Em relação ao grupo controle (salina), a administração de cetorolaco aos animais promoveu secreção ileal significativa de potássio (K<sup>+</sup>) ( $-0,12 \pm 0,028 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $0,30 \pm 0,202 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p < 0,05$ , teste “t” de Student). Enquanto que os pré-tratamentos com celecoxibe e com cetorolaco + celecoxibe não promoveram alteração no transporte de Potássio (K<sup>+</sup>) ( $0,036 \pm 0,057 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $0,30 \pm 0,202 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p > 0,05$ , teste “t” de Student e  $0,015 \pm 0,025 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $0,30 \pm 0,202 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p > 0,05$ , teste “t” de Student).

**Gráfico 4 – Efeitos do pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 sobre o transporte ileal de potássio (K<sup>+</sup>) em ratos anestesiados**

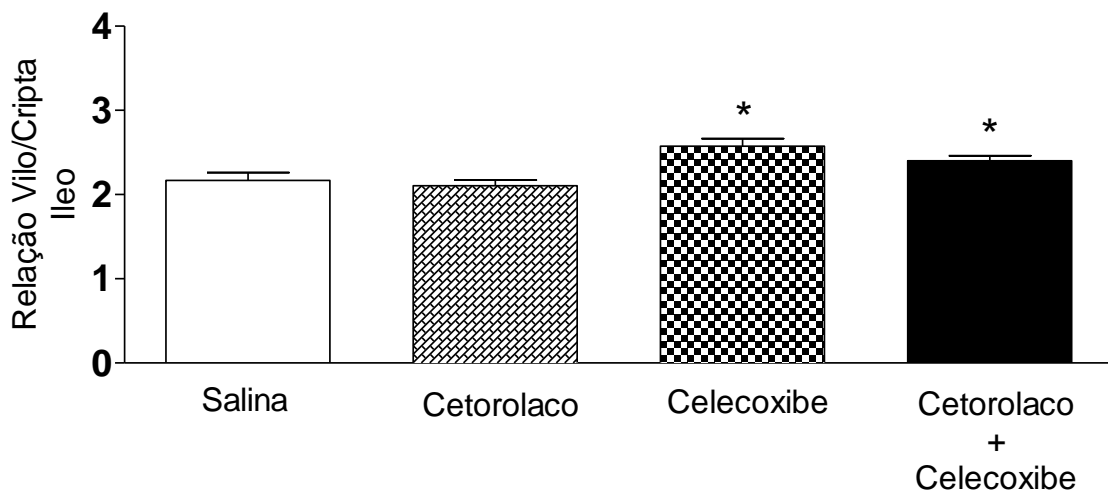


Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com salina (N=6), cetorolaco (N=6), celecoxibe (N=5) ou cetorolaco + celecoxibe (N=6). Decorridos 3 dias de tratamento, os animais foram anestesiados com uretana 1,2mg/100g e a seguir 30 cm do íleo terminal foi perfundido com uma solução de Ringer modificada com vermelho de fenol (50µg/mL), utilizando uma bomba peristáltica (0,16ml/min) ao longo de 40min. Alíquotas da solução perfusora e do perfusato serviram para a dosagem da concentração de K<sup>+</sup> por meio de fotometria de chama e as diferenças entre essas concentrações se prestaram para determinar o transporte ileal de K<sup>+</sup> em µEq/g/min. \*  $p < 0,05$  vs salina (controle), teste “t” de Student.

#### 4.5 Alterações morfométricas no íleo de ratos secundárias ao pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2 (cetorolaco, celecoxibe)

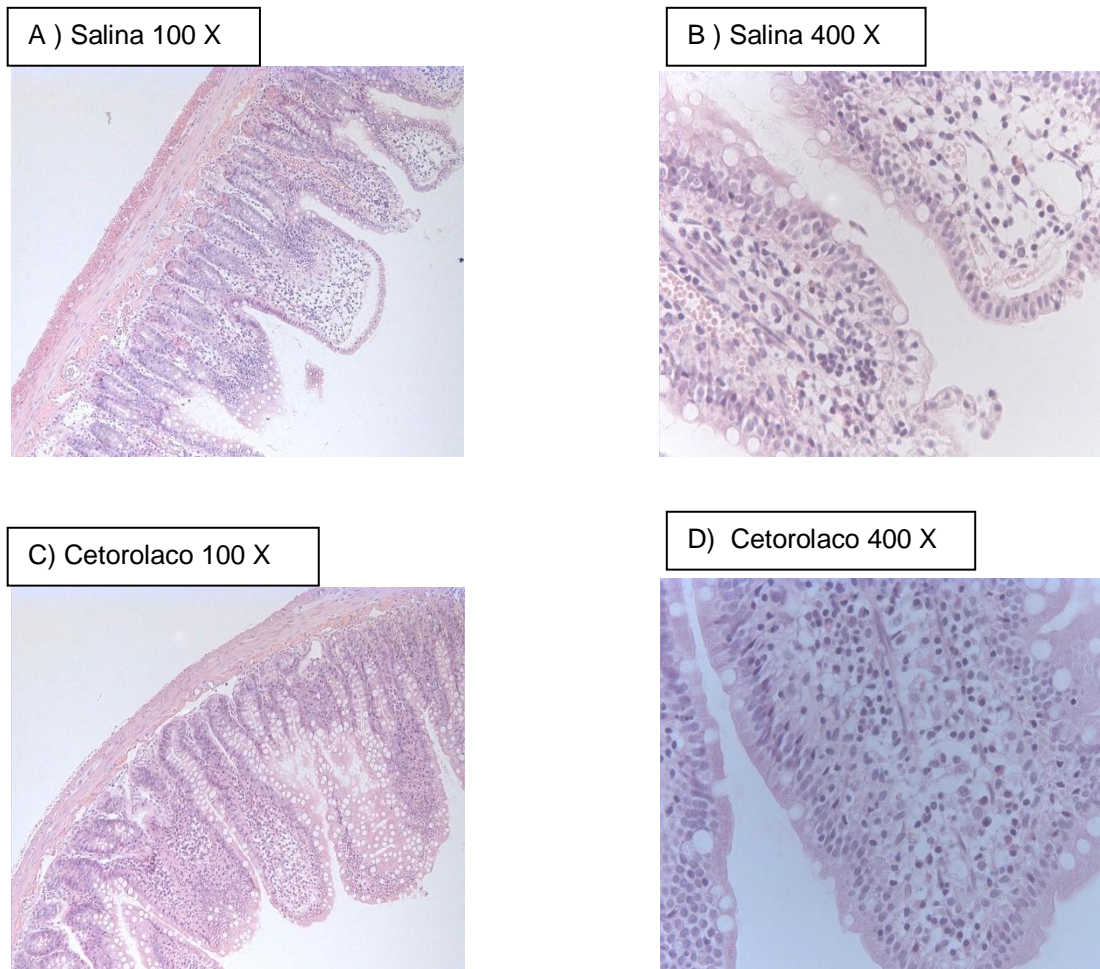
No gráfico 5 observa-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com cetorolaco celecoxibe ou cetorolaco + celecoxibe sobre a morfometria ileal. Em relação ao grupo controle (salina), a administração de cetorolaco aos animais não modificou a relação vilo/cripta ( $2,17 \pm 0,09$  vs  $2,10 \pm 0,06$  –  $p > 0,05$ , teste t student). Evidenciado no gráfico 5 e na figura 3. Enquanto que o pré-tratamento com celecoxibe (gráfico 5 e figura 2) ou a associação de cetorolaco + celecoxibe (gráfico 5 e figura 4 e 5) promoveram aumento da relação vilo/cripta ( $2,57 \pm 0,09$  ou  $2,40 \pm 0,06$  vs  $2,10 \pm 0,06$  –  $p < 0,05$ , teste t de student).

**Gráfico 5 – Alterações morfométricas no íleo de ratos secundárias ao pré-tratamento com inibidores da cicloxigenase 1 e 2**



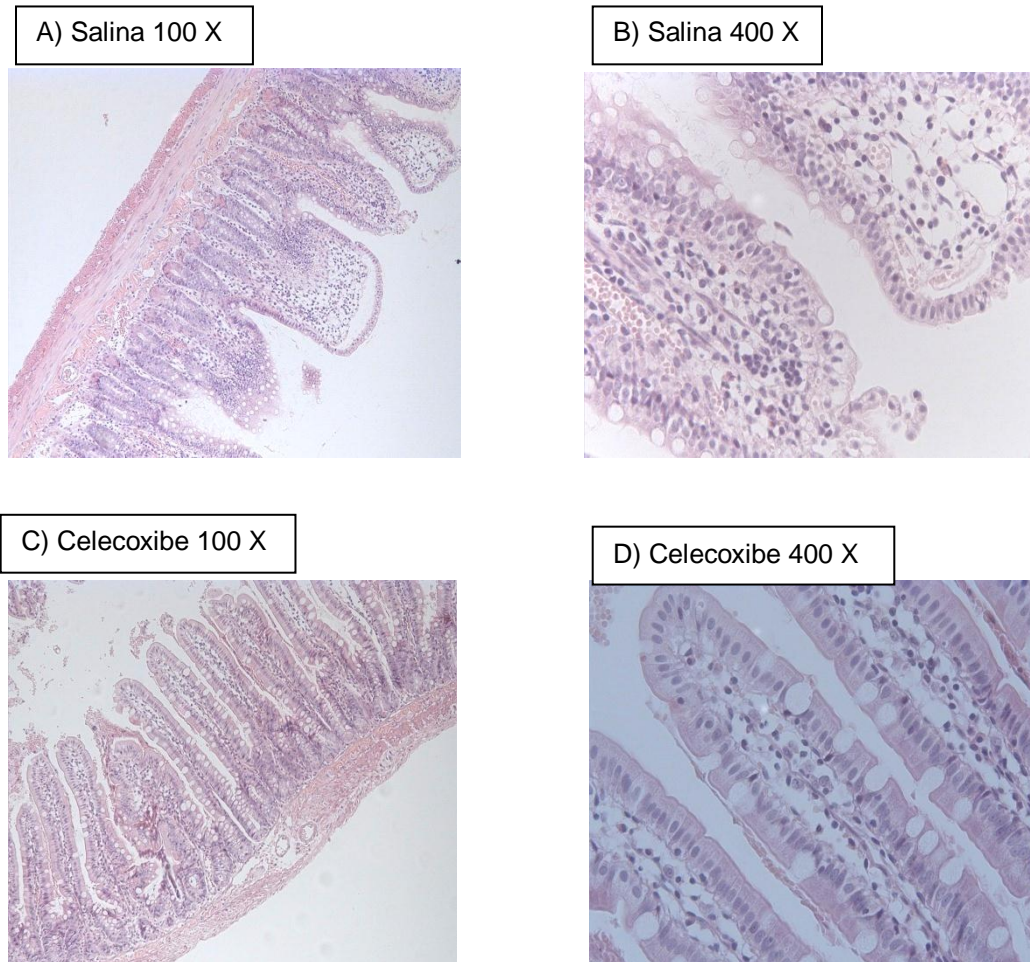
Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com salina (N=6), cetorolaco (N=6), celecoxibe (N=5) ou cetorolaco + celecoxibe (N=6). Após o sacrifício dos animais, Segmentos das extremidades do íleo foram coletadas, seguindo-se rotina histológica para H&E (hematoxilina-eosina) com posterior exame em microscopia óptica (100X e 400x). Para a análise morfométrica, a medida da altura dos vilos e a profundidade das criptas (calculada em  $\mu\text{m}$  - software ImageJ versão 1,36) serviu para determinar a razão vilo/cripta, expressa como média + E.P.M. \* $p < 0,05$ , vs salina (controle).

**Figura 7. A) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos controle B) ) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos controle C) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos em H&E E após tratamento com ceterolaco D) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos em H&E após tratamento com ceterolaco.**



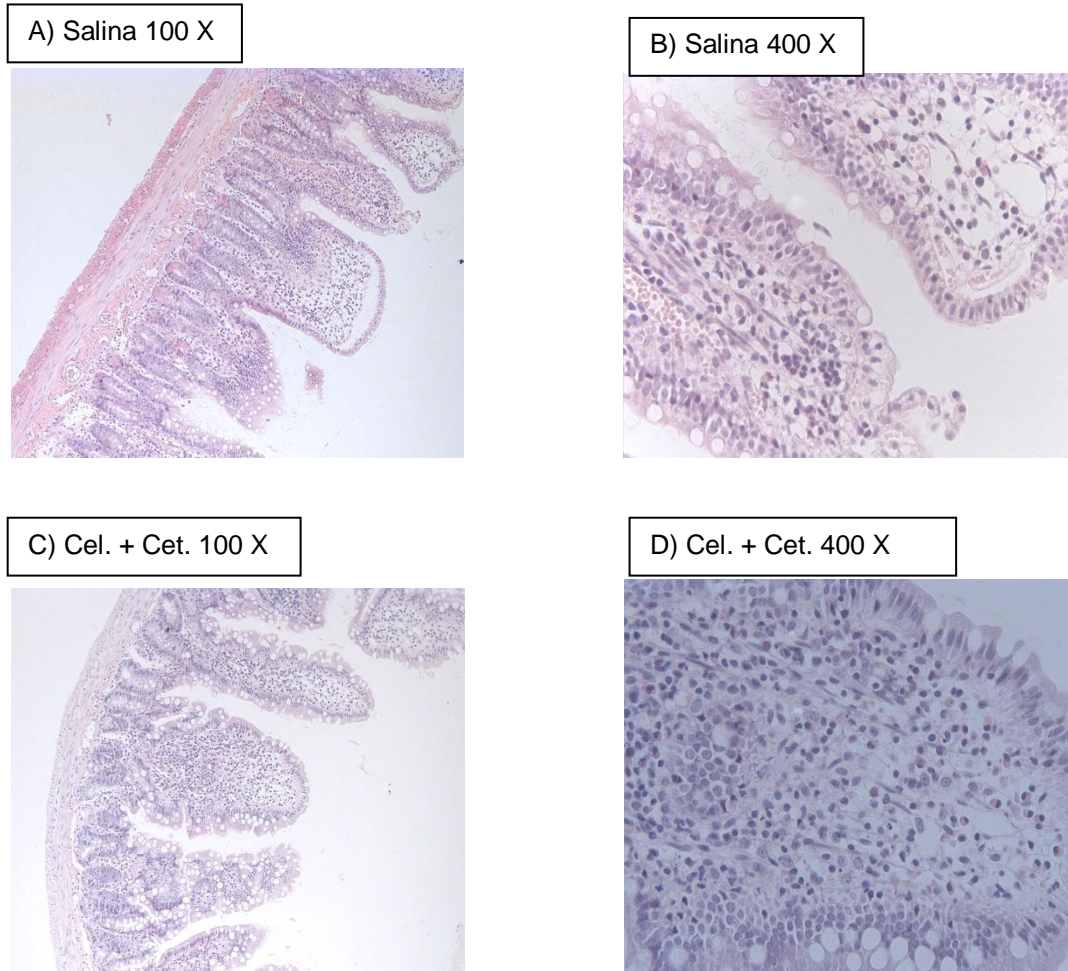
Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com salina (N=6) ou ceterolaco (N=6). Após o sacrifício dos animais, segmentos das extremidades do íleo foram coletadas, seguindo-se rotina histológica para H&E (hematoxilina-eosina) com posterior exame em microscopia óptica (100X e 400x).

**Figura 8. A) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos controle B) ) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos controle C) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos em H&E E após tratamento com celecoxibe D) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos em H&E após tratamento com celecoxibe.**



Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com salina (N=6) ou celecoxibe (N=6). Após o sacrifício dos animais, segmentos das extremidades do íleo foram coletadas, seguindo-se rotina histológica para H&E (hematoxilina-eosina) com posterior exame em microscopia óptica (100X e 400x).

**Figura 9. A) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos controle B) ) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos controle C) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos em H&E E após tratamento com ceterolaco + celecoxibe D) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos em H&E após tratamento com ceterolaco + celecoxibe.**

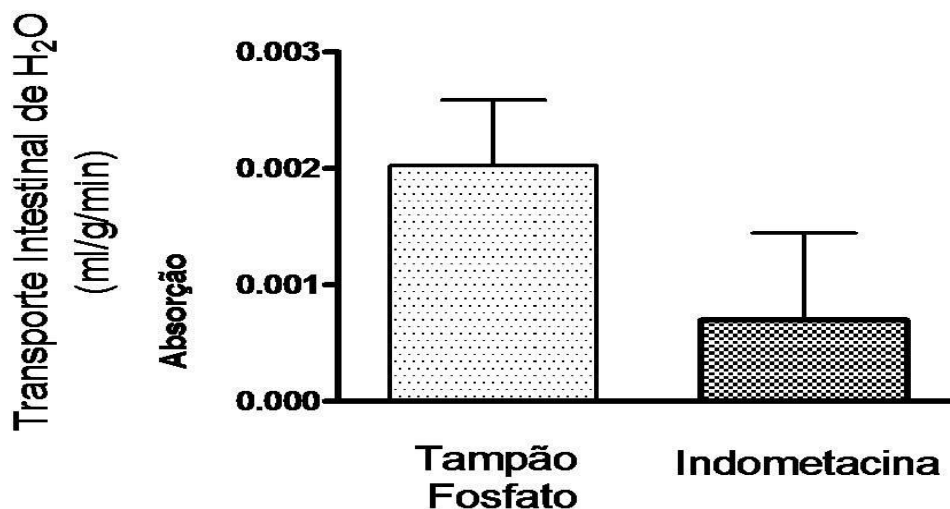


Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com salina (N=6) ou ceterolaco + celecoxibe (N=6). Após o sacrifício dos animais, segmentos das extremidades do íleo foram coletadas, seguindo-se rotina histológica para H&E (hematoxilina-eosina) com posterior exame em microscopia óptica (100X e 400x)..

#### 4.6 Efeitos do pré-tratamento com inibidor da não seletivo da cicloxigenase (indometacina) sobre o transporte ileal de água (H<sub>2</sub>O) em ratos anestesiados

No Gráfico 6 observa-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com indometacina sobre o transporte ileal de água. Em relação ao grupo controle (tampão Fosfato), a administração aos animais de indometacina promoveu uma diminuição na absorção ileal de água sem significância estatística ( $0,0007 \pm 0,0007$  ml/g/min vs  $0,0020 \pm 0,00056$  ml/g/min –  $p > 0,05$ , teste “t” de Student).

**Gráfico 6 – Efeitos do pré-tratamento com inibidor não específico da cicloxigenase sobre o transporte ileal de água (H<sub>2</sub>O) em ratos anestesiados.**

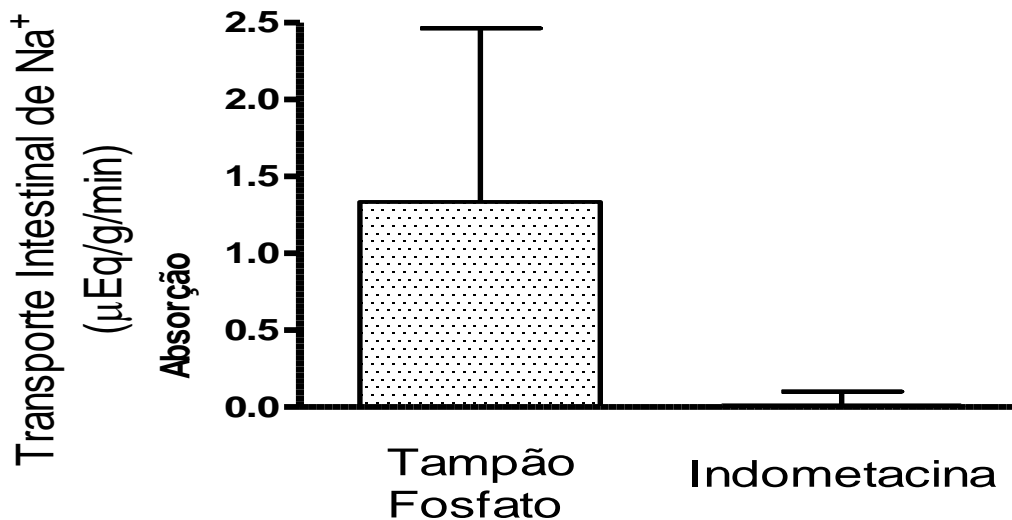


Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com Tampão fosfato (N=6) ou indometacina (N=6). Decorridos 3 dias de tratamento, os animais foram anestesiados com uretana 1,2mg/100g e a seguir 30 cm do íleo terminal foram perfundidos com uma solução de Ringer modificada com vermelho de fenol (50µg/mL), utilizando uma bomba peristáltica (0,16ml/min) ao longo de 40min. Alíquotas da solução perfusora e do perfusato serviram para a determinação da concentração de H<sub>2</sub>O por meio da dosagem da concentração de fenolsulfaleína mediante espectrofotometria e as diferenças entre essas concentrações se prestaram para determinar o transporte ileal de H<sub>2</sub>O em ml/g/min.

#### 4.7 Efeitos do pré-tratamento com inibidor da não seletivo da cicloxigenase (indometacina) sobre o transporte ileal de sódio (Na<sup>+</sup>) em ratos anestesiados

No Gráfico 7 observa-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com indometacina sobre o transporte ileal de sódio (Na<sup>+</sup>). Em relação ao grupo controle (Tampão Fosfato), a administração de indometacina aos animais não alterou o transporte ileal de sódio ( $0,006 \pm 0,094 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $1,33 \pm 1,12 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p > 0,05$ , teste “t” de Student) .

**Gráfico 7 – Efeitos do pré-tratamento com inibidor não específico da cicloxigenase sobre o transporte ileal de sódio (Na<sup>+</sup>) em ratos anestesiados.**

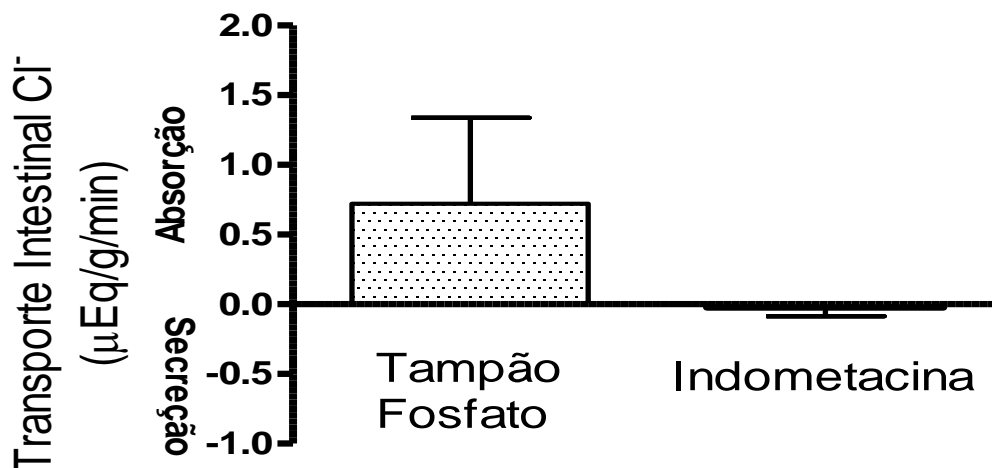


Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com Tampão fosfato (N=6) ou Indometacina (N=6). Decorridos 3 dias de tratamento, os animais foram anestesiados com uretana 1,2mg/100g e a seguir 30 cm do íleo terminal foram perfundidos com uma solução de Ringer modificada com vermelho de fenol (50µg/mL), utilizando uma bomba peristáltica (0,16ml/min) ao longo de 40min. Alíquotas da solução perfusora e do perfusato serviram para a dosagem da concentração de Na<sup>+</sup> por meio de fotometria de chama e as diferenças entre essas concentrações se prestaram para determinar o transporte ileal de Na<sup>+</sup> em µEq/g/min.

#### 4.8 Efeitos do pré-tratamento com inibidor da não seletivo da cicloxigenase (indometacina) sobre o transporte ileal de cloro (Cl<sup>-</sup>) em ratos anestesiados

No Gráfico 8 observou-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com indometacina sobre o transporte ileal de Cloro (Cl<sup>-</sup>). Em relação ao grupo controle (Tampão Fosfato), a administração de indometacina aos animais não promoveu alteração no transporte ileal de Cloro (Cl<sup>-</sup>) ( $-0,025 \pm 0,061 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $0,72 \pm 0,61 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p > 0,05$ , teste “t” de Student).

**Gráfico 8 – Efeitos do pré-tratamento com inibidor não específico da cicloxigenase sobre o transporte ileal de cloro (Cl<sup>-</sup>) em ratos anestesiados.**



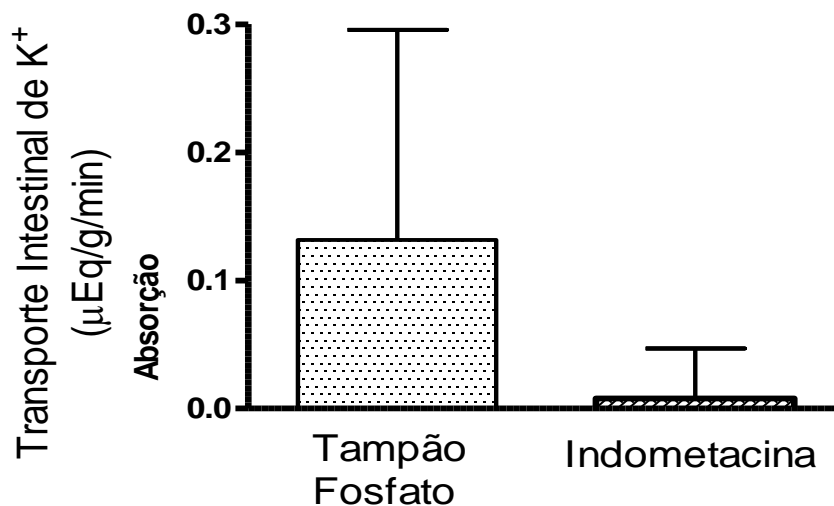
Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com tampão fosfato (N=6) ou indometacina (N=6). Decorridos 3 dias de tratamento, os animais foram anestesiados com uretana 1,2mg/100g e a seguir 30 cm do íleo terminal foram perfundidos com uma solução de Ringer modificado com vermelho de fenol (50μg/mL), utilizando uma bomba peristáltica (0,16ml/min) ao longo de 40min. Alíquotas da solução perfusora e do perfusato serviram para a dosagem da concentração de Cl<sup>-</sup> por meio de colorimetria e as diferenças entre essas concentrações se prestaram para determinar o transporte ileal de Cl<sup>-</sup> em μEq/g/min.



#### 4.9 Efeitos do pré-tratamento com inibidor não seletivo da cicloxigenase (indometacina) sobre o transporte ileal de potássio ( $K^+$ ) em ratos anestesiados

No Gráfico 9 observa-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com Indometacina sobre o transporte ileal de Potássio ( $K^+$ ). Em relação ao grupo controle (tampão Fosfato), a administração de indometacina aos animais não promoveu alteração no transporte ileal de Potássio ( $K^+$ ) ( $0,008 \pm 0,038 \mu\text{Eq/g/min}$  vs  $0,13 \pm 0,16 \mu\text{Eq/g/min}$  –  $p > 0,05$ , teste “t” de Student) .

**Gráfico 9 – Efeitos do pré-tratamento com inibidor não específico da cicloxigenase sobre o transporte ileal de potássio ( $K^+$ ) em ratos anestesiados.**

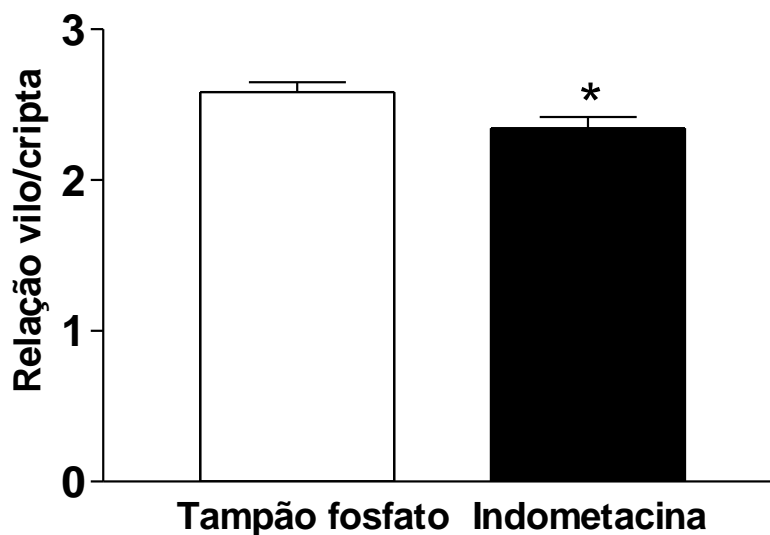


Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com Tampão fosfato (N=6) ou indometacina (N=6). Decorridos 3 dias de tratamento, os animais foram anestesiados com uretana 1,2mg/100g e a seguir 30 cm do íleo terminal foram perfundidos com uma solução de Ringer modificado com vermelho de fenol (50 $\mu\text{g/mL}$ ), utilizando uma bomba peristáltica (0,16ml/min) ao longo de 40min. Alíquotas da solução perfusora e do perfusato serviram para a dosagem da concentração de  $K^+$  por meio de fotometria de chama e as diferenças entre essas concentrações se prestaram para determinar o transporte ileal de  $K^+$  em  $\mu\text{Eq/g/min}$ .

#### 4.10 Alterações morfométricas no íleo de ratos secundárias ao pré-tratamento com inibidor não seletivo da cicloxigenase

No gráfico 10 observa-se o efeito do pré-tratamento dos ratos com indometacina sobre a morfometria ileal. Em relação ao grupo controle (salina), a administração de indometacina aos animais diminuiu a relação vilo/cripta ( $2,583 \pm 0,0663$  vs  $2,343 \pm 0,0747$  –  $p < 0,05$  teste t de studenti) . Evidenciado no gráfico 10 e na figura 6.

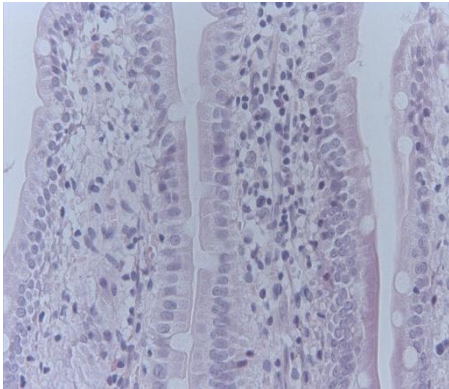
**Gráfico 10 – Alterações morfométricas no íleo de ratos secundárias ao pré-tratamento com inibidor não seletivo da cicloxigenase.**



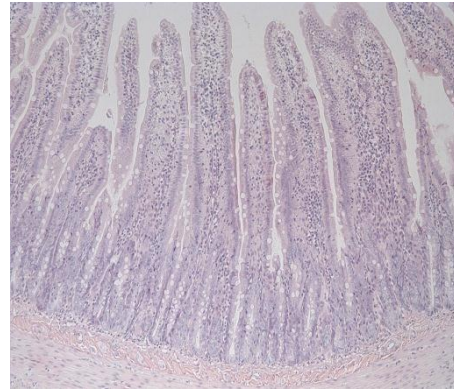
Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com tampão fosfato (N=6) ou indometacina (N=6). Após o sacrifício dos animais, segmentos das extremidades do íleo foram coletadas, seguindo-se rotina histológica para HE (hematoxilina-eosina) com posterior exame em microscopia óptica (40x). Para a análise morfométrica, a medida da altura dos vilos e a profundidade das criptas (calculada em  $\mu\text{m}$  - software Image J versão 1,36) serviu para determinar a razão vilo/cripta, expressa como média + E.P.M. \* $p < 0,05$ , vs tampão fosfato (controle), teste t de student.

**Figura 10. A) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos controle B) ) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos controle C) Fotomicrografia (100x) do íleo de ratos em H&E E após tratamento com indometacina D) Fotomicrografia (400x) do íleo de ratos em H&E após tratamento com indometacina.**

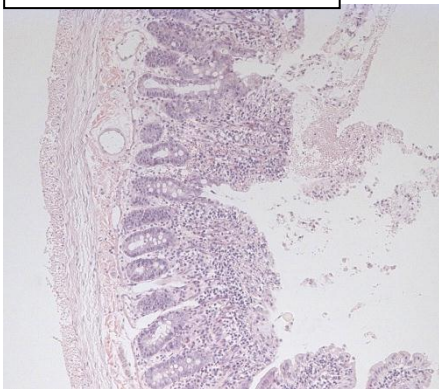
A) Tampão Fosfato 100 X



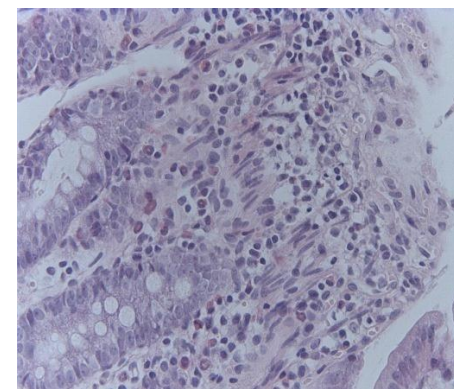
B) Tampão Fosfato 400 X



C) Indometacina 100 X



D) Indometacina 400 X



Os animais controle e experimentais foram tratados com 0,1 ml/100g, via oral, com tampão fosfato (N=6) ou indometacina (N=6). Após o sacrifício dos animais, segmentos das extremidades do íleo foram coletadas, seguindo-se rotina histológica para H&E (hematoxilina-eosina) com posterior exame em microscopia óptica (100X e 400x).

## 5 DISCUSSÃO

No presente trabalho mostrou-se que a inibição da COX-1 promove secreção ileal de água, bem como de eletrólitos (sódio, cloreto e potássio) em ratos anestesiados. Por outro lado, a inibição da COX-2 isoladamente não modifica o transporte ileal de água ou de eletrólitos. Já a associação de inibidores seletivos da COX-1 e da COX-2 reverte o efeito do inibidor da COX-1, no que se refere ao transporte ileal de água. A inibição não seletiva da COX não modifica o transporte ileal de água ou de eletrólitos em ratos anestesiados.

No tangente à arquitetura da mucosa ileal, a inibição seletiva da COX-1 não modifica sua morfologia, já a inibição seletiva da COX-2 ou a associação de inibidores da COX-1 e da COX-2 promoveram alteração morfométrica ileal. A relação vilo/cripta aumentou no íleo de ratos previamente tratados com celecoxibe ou com cetorolaco + celecoxibe. Já nos ratos pré-tratados com indometacina, essa relação vilo/cripta diminuiu e a análise histopatológica evidenciou achatamento de vilos e infiltrados de células.

Para avaliar o transporte intestinal de água e eletrólitos utilizou-se uma metodologia descrita por Lima *et al.* (2002) e reproduzida por nosso grupo em estudos com diferentes modelos (MEDEIROS *et al.*, 2008).

O método de perfusão ileal empregado nesse estudo, apesar de utilizar animais anestesiados, é simples, é facilmente reprodutível e efetivo quando se deseja estudar o transporte de eletrólitos e água. Essa metodologia permite comparar amostras do fluido perfusor obtidas antes e depois da perfusão do segmento de alça isolado (LIMA *et al.*, 2002). As medidas das concentrações dos eletrólitos e de fenolsulfaleína (para avaliar absorção/secreção de água) proporcionam uma medida direta da taxa de absorção e secreção pela mucosa ileal. No intuito de promover o bloqueio seletivo da COX, as drogas e as doses utilizadas nesse estudo foram selecionadas de acordo com sua seletividade ou não seletividade para COX. Sabe-se que o cetorolaco é inibidor seletivo da COX-1 quando utilizado na dose de 3mg/Kg (WALLANCE *et al.*, 2000). Já o celecoxibe, se utilizado na dose de 10mg/Kg, constitui-se em um inibidor seletivo da COX-2 (Souza, 2003). Quando feita a associação de cetorolaco na dose de 3mg/Kg com celecoxibe na dose de 10mg/Kg, objetivou-se inibição não seletiva da COX. Do mesmo modo, a

indometacina na dose de 5 mg/Kg (WALLACE *et al.*, 2000) é um potente inibidor não seletivo da COX.

O protocolo utilizado nesse estudo constituiu-se do pré-tratamento ao longo de 3 dias com as drogas selecionadas seja: cetorolaco, 3mg/Kg, 3 vezes ao dia por via oral; celecoxibe, 10 mg/Kg, 1 vez ao dia por via oral; indometacina 5mg/Kg, 2 vezes ao dia ou seus diluentes, constituíram o grupo experimental e grupo controle, respectivamente. Os grupos experimentais receberam cetorolaco e celecoxibe diluídos em salina, enquanto a indometacina foi diluída com tampão fosfato de acordo com Santos *et al.* (2007). Os respectivos grupos controle receberam, por seu turno, salina e tampão fosfato. Este protocolo de pré-tratamento pretendeu inibir a ação da ciclooxigenase no trato digestório. Tendo em vista que com a administração de uma única dose das drogas utilizadas nesse estudo já se verifica inibição das respectivas enzimas implicadas (WALLACE *et al.*, 2000; SOUZA, 2003; SANTOS *et al.*, 2007), o protocolo desenvolvido foi efetivo em inibir a ação da COX, seja nas suas isoformas 1 ou 2.

A mucosa do trato gastrointestinal possui características secretórias e absorptivas, seja de enzimas ou de água, eletrólitos, vitaminas, carboidratos e aminoácidos. O intestino delgado na suas porções proximais apresenta padrão secretório e absorptivo; já nas suas porções distais, predomina o padrão absorptivo. O íleo terminal é um sítio de absorção de água e eletrólitos (sódio, cloro e potássio) (CURI; ARAÚJO, 2009). O íleo foi a região escolhida para realizar a perfusão por apresentar uma seletividade maior em relação à absorção de água devido às junções celulares do tipo tight. A água, à medida que progride no TGI é cada vez mais absorvida contra um gradiente osmótico. Assim, o mecanismo desencadeado pelo uso de inibidores da COX-1 para provocar a secreção de água e eletrólitos provavelmente exclui a diferença de osmolaridade.

No presente estudo acrescentamos mais um ponto na compreensão da ação dos anti-inflamatórios, através da inibição das enzimas COX-1 e 2, na fisiologia do trato gastrointestinal.

Para o sistema digestório, a COX-1 é descrita como enzima constitutiva e já a COX-2 como induzida por inflamação (GOLDSTEIN *et al.*, 2001). O papel destas enzimas pode estar relacionado com os processos fisiológicos e/ou de respostas inflamatórias. Segundo Hotz-Behofsit *et al.* (2010), sabe-se que a COX-1

possui papel importante no controle da produção de prostaglandinas pela mucosa intestinal, tendo em vista que a inibição dessa enzima por AINES em camundongos ou ratos mostrou diminuição dos níveis de prostaglandina nesses tecidos. Logo, a produção de prostaglandinas que surgem como resposta à atividade tanto da COX-1 como da COX-2 pode modificar o padrão secretor gastrointestinal. No estômago, essa resposta é bem conhecida quando doenças pépticas podem surgir pelo bloqueio da COX-1 por AINES (GRAHAM; SMITH; DOBBS, 1983; GRAHAM; AGRAWAL; ROTH, 1988). Também alargam-se na literatura estudos relacionando o papel das prostaglandinas no controle secretor intestinal. A PGE<sub>2</sub> apresenta importante papel neste processo fisiológico (DEY *et al.*, 2006). Como demonstrado por Kase *et al.* (1998), a secreção intestinal induzida pela toxina do cólera é diminuída pelo bloqueio da produção de PGE<sub>2</sub>, desta forma, no intestino de rato, a PGE<sub>2</sub> está envolvida com o aumento da secreção intestinal.

Importante demonstrar, em primeira mão, que o pré-tratamento com cetorolaco promoveu secreção ileal tanto de água como de eletrólitos (sódio, cloro e potássio) nos animais tratados. Pacientes que utilizam inibidores da COX apresentam diarreia (BJARNASON *et al.*, 1993), o achado no presente estudo confirma o possível efeito secretor desta droga. Ainda sabe-se que o transporte de água e cloreto está intrinsecamente ligado ao transporte de sódio, esse padrão é respeitado quando se observa que a água e o cloreto seguem a absorção ou secreção de sódio pela mucosa intestinal (CURI; ARAÚJO, 2009).

Vale ressaltar que os estudos de outros autores relacionando os papéis da COX-1 e da COX-2 no controle da secreção intestinal foram realizados com animais diante de uma resposta inflamatória (BEUBLER *et al.*, 1989, 1990, 2001). Já esse estudo foi realizado com animais sem doença e/ou inflamação induzidas. O que pode explicar os resultados encontrados.

A presença de COX no trato gastrointestinal, seja nas isoformas 1 ou 2, já foi descrita por Wallace *et al.* (2000); Porsher *et al.* (2002, 2004); Tanaka *et al.* (2002). O presente estudo leva ao entendimento de um novo papel fisiológico para a ciclooxigenase constitutiva (COX-1) nessa região anatômica. Além das implicações fisiológica desta enzima nas respostas inflamatórias já descritas (WALLACE *et al.*, 1998), este estudo aponta um achado novo para a isoforma tipo 1 no controle do transporte intestinal de água e eletrólitos.

Está bem definido o papel da COX no controle da inflamação, bem como já foi descrita sua função no controle da motilidade gastrointestinal. Santos *et al.* (2007), mostraram que o cetorolaco retarda o trânsito intestinal o que poderia levar a uma maior absorção. Tanaka *et al.* (2004) e Porcher *et al.* (2004), demonstraram que inibidores seletivos da COX-1 promovem hiperomotilidade intestinal, o que poderia levar a uma menor absorção no TGI. Apesar dos dados serem contraditórios, eles reafirmam o importante papel fisiológico da motilidade no controle da secreção/absorção gastrointestinal. Não se sabe a real implicação da motilidade no achado desse estudo, mas sabe-se que o padrão motor gastrointestinal por si só pode modificar o transporte intestinal de água e eletrólitos através da mucosa. Lee (1983) observou que o aumento do tônus intestinal em ratos anestesiados promove uma diminuição da taxa de absorção de fluidos e de eletrólitos, enquanto que a diminuição do tônus fazia aumentar a taxa de absorção de fluidos e de eletrólitos. Tendo em vista que o cetorolaco promoveu diminuição da absorção intestinal de água e eletrólitos e que o aumento no tônus intestinal apresenta efeito similar sobre o transporte intestinal de água e eletrólitos e ainda sabendo-se que inibidores da COX-1 são capazes de alterar a motilidade intestinal, o efeito do cetorolaco sobre o transporte intestinal de água e eletrólitos pode ser decorrente de uma ação indireta via aumento da motilidade gastrointestinal.

Importante lembrar que a mucosa ileal esteve intacta e não houve alteração na relação vilo/cripta diante do tratamento com o inibidor da COX-1. Desse modo, podemos descartar que o efeito secretagogo do inibidor da COX-1 possa estar relacionado ao dano tecidual promovido pelos AINES.

O padrão motor, secretor ou absorptivo gastrointestinal “minuto-a-minuto” resulta de uma complexa interação entre uma série de neuro-transmissores adrenérgicos, colinérgicos e não-adrenérgicos-não-colinérgicos (NANC) ou ainda hormônios e outras substâncias com ação parácrina como já descrito anteriormente (quadro 01). Algumas delas apresentam ação excitatória, já outras inibitória. As vísceras gastrintestinais sofrem importante regulação autonômica por vias neurais simpáticas e/ou parassimpáticas, identificadas segundo o ponto de emergência do sistema nervoso central e a localização dos gânglios de onde partem os corpos celulares dos neurônios pós-ganglionares. Ademais, o TGI dispõe de uma complexa rede intramural de neurônios, o sistema nervoso entérico, cuja relevância pode ser

evidenciada pela preservação das funções secretoras, absortivas e motoras, mesmo após a completa desnervação extrínseca (WOOD, 2005).

Desta forma, não podemos descartar que a ação secretora do cetorolaco ainda possa resultar de um efeito direto neuromuscular gastrointestinal, tendo em vista que foram demonstradas tanto a isoforma 1 quanto 2 da ciclooxigenase nos tecidos neuromusculares gastrintestinais. Essa ação se dá por metabólitos (prostanóides) originados da ação de ambas as isoformas (PORCHER *et al.*, 2002; PORCHER *et al.*, 2004; FORNAI *et al.*, 2005) sobre o ácido aracdônico. Ainda, justificando essa idéia, observamos que o tratamento com inibidor seletivo da COX-1 não promoveu alteração da relação vilo/cripta, o que se leva a crer que a ação dessa droga não está relacionada à lesão da mucosa intestinal, mas provavelmente a uma alteração funcional.

Como demonstrado por Longo *et al.* (1998), a resposta do organismo no que se refere ao papel da COX-2, depende da indução da expressão e/ou do aumento da atividade desta enzima secundário a um estímulo - um precursor da enzima ou a indução de uma resposta inflamatória. Neste trabalho, o padrão secretor ileal não foi modificado pelo pré-tratamento com celecoxibe um conhecido inibidor de COX-2. Apesar desta droga ter modificado a arquitetura da mucosa ileal não se observou alteração da fisiologia desta porção intestinal. Lembrando que COX-1 e COX-2 são enzimas encontradas na mucosa ileal, mesmo em estado fisiológico, a expressão e o aumento da atividade da COX-2 está intimamente relacionado com uma resposta induzida. Podemos concluir que o papel fisiológico da COX-2 pode estar relacionado mais com a integridade do epitélio intestinal do que com o seu padrão fisiológico. Hotz-Behofsits *et al.* (2010), reafirma essa função da COX-2 em seu estudo sobre o papel da COX-2 na enteropatia provocada por AINES, onde conclui que a COX-2 parece ser mais importante na manutenção da integridade do intestino delgado que a COX-1. O padrão morfométrico de aumento da relação vilo/cripta encontrado no íleo de ratos pré-tratados com celecoxibe sugere (pela avaliação histopatológica) que houve prejuízo na fase de divisão das criptas, levando a uma diminuição das mesmas e não a um aumento de vilos. Como já descrito, não houve alteração no padrão de absorção/secreção no íleo dos ratos pré-tratados com celecoxibe, mas talvez aumentando a população estudada fosse possível encontrar uma resposta diferente.



Em estudos com ratos pré-tratados com toxina do cólera, Beubler *et al.* (2001) demonstraram que o padrão secretor gastrointestinal está exacerbado nesses animais. Embora exista uma cadeia de acontecimentos que levam a toxina do cólera a induzir secreção de fluidos, esses autores sugerem que essa toxina usa a prostaglandina  $E_2$  para enxertar sua imensa ação secretória. Eles demonstraram que o tratamento com inibidor seletivo da COX-2 preveniu a secreção induzida pela toxina do cólera. A ação inibitória de secreção de fluidos no trato gastrintestinal exercida por inibidores seletivos da COX-2 estaria ligada diretamente ao bloqueio da  $PGE_2$  produzida através do estímulo de receptores  $5-HT_2$  (BEUBLER; HORINA, 1990) que levaria a iniciação do metabolismo do ácido aracdônico e liberação dessas prostaglandinas (BEUBLER *et al.*, 1989; SIRIWARDENA *et al.*, 1993). Esses achados ajudam a entender o efeito pró-absortivo de água do celecoxibe encontrado no presente estudo. Mesmo não ultrapassando os valores do controle de forma significativa, o padrão de absorção de eletrólitos pelo íleo é mantido após o pré-tratamento com celecoxibe.

Reforçando essa idéia, como já foi citado anteriormente, o íleo em animais e humanos em situação fisiológica exerce a função de absorção de água e eletrólitos, já diante de uma injúria tecidual pode passar a secretar água e eletrólitos, o que pode ser revertido com a inibição de  $PGE_2$ . No presente estudo, não verificamos diminuição da secreção por terem sido utilizados animais em estado fisiológico, porém podemos perceber um efeito pró-absortivo com a inibição da COX-2, o que talvez ficasse mais evidente numa população maior. Do mesmo modo, observou-se aumento da relação vilo-crípta após o pré-tratamento com esse inibidor, o que pode ajudar a entender o efeito pró-absortivo desta droga.

O pré-tratamento com inibidor da COX-1 associado ao inibidor da COX-2 manteve o padrão de absorção de água semelhante ao controle, como o observado com inibidor da COX-2 isolado. Provavelmente esse fenômeno se deu pelo somatório de efeitos secretagogos do cetorolaco anulando os efeitos pró-absortivos do celecoxibe.

A indometacina, inibidor não seletivo da COX, teve como veículo o tampão fosfato, por sua diluição ser maior em pH tendendo ao básico e não se dissolver em salina (RAMA *et al.*, 2006). Por essa razão não pôde ser diretamente comparada aos resultados obtidos com celecoxibe e cetorolaco que foram diluídos

com salina. Entretanto, o pré-tratamento com indometacina manteve a tendência de absorção de água, assim como a associação de celecoxibe com ceterolaco. No tocante ao transporte ileal de sódio, cloro e potássio, o pré-tratamento com indometacina não provocou alteração significativa, se comportando de forma similar ao pré-tratamento com a associação das drogas seletivas para COX-1 e 2 (ceterolaco e celecoxibe).

É possível que os efeitos inibitórios da COX-1 pela indometacina ou pelos inibidores seletivos da COX-1 e 2 associados (ceterolaco e celecoxibe) sejam mais pronunciados que os efeitos dessas drogas sobre a COX-2. Talvez o pré-tratamento com a indometacina ou a associação de inibidores seletivos possa ter preferência pela inibição da COX-1, o que nos ajuda a entender os efeitos de diminuição da absorção de água e eletrólitos observados com tratamentos não seletivos para COX, que não se mostraram de uma maneira clara pela grande diferenças entre os resultados levando a um erro considerável. A diminuição da absorção de água e eletrólitos também pode estar relacionada às modificações morfológicas da mucosa ileal, já que se observaram alterações na relação vilos/cryptas secundárias aos pré-tratamentos com indometacina (inibidor não-seletivo para COX) ou com a associação de celecoxibe mais ceterolaco (inibidores seletivos para COX-1 e 2). Uma população maior deverá ser estudada para confirmação dessas hipóteses.

Em resumo, os resultados sugerem um papel fisiológico da isoforma constitutiva da ciclooxigenase 1 (COX-1) na regulação da absorção intestinal de água e eletrólitos a nível ileal de ratos. Já a COX-2 em situação fisiológica provavelmente não está relacionada aos processos de transporte intestinal de água e eletrólitos, entretanto, relaciona-se à manutenção da arquitetura da mucosa ileal, o que não descarta o envolvimento desta isoforma nos processos secretórios secundários às respostas orgânicas inflamatórias.

## 6 CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados do presente estudo, pode-se concluir que:

- a) A inibição da COX-1 pelo cetorolaco desencadeia alteração funcional na secreção de água e eletrólitos (sódio, potássio e cloro) no íleo de ratos anestesiados.
- b) Estas alterações funcionais não se associam com alterações histológicas.
- c) Tanto a inibição da COX-2 pelo celecoxibe como a inibição da COX-1 e 2 pela indometacina, apesar de desencadearem alterações histológicas no íleo, não induziram alterações funcionais na secreção de água e eletrólitos. Esses últimos dados necessitam de confirmação posterior utilizando uma população maior de ratos.

## REFERÊNCIAS

ALONSO, A.M.; ISERTE, J.T.; FERRANDO, J.R.; DOMINGUEZ, A.C.; GALLEGU, I.M.; DÍEZ, P.F. Conocimientos y actitud de los usuarios en relación al empleo de AINE. Estudio de intervención. **Atenc. Primaria**, v. 20, n. 3, p. 114-120, 1997.

BANKS, M. R.; FARTHING, M. J. Fluid and electrolyte transport in the small intestine. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, New York, v.18, n.2, p.176–181, Mar. 2002.

BEEJAY, V.; WOLFE, M. M. Cyclooxygenase 2 selective inhibitors: panacea or flash in the pan? **Gastroenterology**, Philadelphia, v.117, n. 4, p.1002-1005, Oct. 1999.

BJARNASON, I.; HAYLLAR, J.; MACPHERSON, A.J.; RUSSEL, A.S. Side Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the small and large intestine in humans. **Gastroenterology**, v.104; n.6, p.1832, June 1993.

BELARMINO-FILHO, J. N. **Modulação da resposta inflamatória com dexametasona reverte a dismotilidade gastrointestinal associada à mucosite intestinal induzida por irinotecano em camundongos**. 2010. 90 f. Dissertação. (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2010.. Disponível em: <belarmino\_jn@yahoo.com.br>. Acesso em: 19 out. 2010

BEUBLER, E.; HORINA, G. 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptor subtypes mediate cholera toxin-induced intestinal fluid secretion in the rat. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.99, n.1, p.83–89, July 1990.

BEUBLER, E.; KOLLAR, G.; SARIA, A.; BUKHAVE, K.; RASK-MADSEN, J. Involvement of 5-hydroxytryptamine, prostaglandin E<sub>2</sub>, and cyclic adenosine monophosphate in cholera toxin-induced fluid secretion in the small intestine of the rat in vivo. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 96, n. 2, p. 368-376, Feb. 1989.

BEUBLER, E.; SCHULIGOI, R.; CHOPRA, A. K. ; RIBARDO, D. A.; PESKAR, B. A. Cholera Toxin Induces Prostaglandin Synthesis via Post-Transcriptional Activation of Cyclooxygenase-2 in the Rat Jejunum. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 297, n. 3, p.940–945, June 2001.

BREDO, R. M.; ODO, N. V. Divisões do aparelho digestório em ratos wistar (*rattus norvegicus*). **Vet. Zootec.**, São Paulo, v. 17, n.3, p. 415-420, set. 2010.

BRESALIER, R.S.; SANDLER, R.S.; QUAN, H.; BOLOGNESE, J. A.; OXENIUS, B.; HORGAN, K.; LINES, C.; RIDDELL, R.; MORTON, D.; LANAS, A.; KONSTAM, M.A.; BARON, J.A. Adenomatous Polyp Prevention on Vioxx (APPROVe) Trial Investigators. Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. **N. Engl. J. Med.**, v. 352, n.11, p. 1092-1102, Mar. 2005.

BROOKS, P. M.; DAY, R. O. Nonsteroidal antiinflammatory drugs--differences and similarities. **N. Engl. J. Med.**, v. 325, n.10, p. 1716-1725, June 1991.

BOWEN, R. **Secretion in the Small Intestine**. 2006. Disponível em: <<http://www.vivo.colostate.edu>>. Acesso em: 9 June 2011.

BOWEN, R. **Absorption in the Small Intestine: general mechanisms**. 1995. Disponível em: <<http://www.vivo.colostate.edu>>. Acesso em: 9 June 2011.

CHANDRASEKHARAN, N. V.; DAI, H.; ROOS, K. L.; EVANSON, N. K.; TOMSIK, J.; ELTON, T. S.; SIMMONS, D. L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 99, n.21, p.13926-13931, Oct. 2002.

CURI, R.; ARAÚJO FILHO, J. P. **Fisiologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

DEY, I; LEJEUNE, M; CHADEE, K. Prostaglandin E2 receptor distribution and function in the gastrointestinal tract. **Br. J. Pharmacol.**, London, v.149, p.611–623, nov. 2006.

DEWITT, D. L.; EL-HARITH, E. A.; KRAEMER, S. A.; ANDREWS, M. J.; YAO, E. F.; ARMSTRONG, R. L. The aspirin and heme-binding sites of ovine and murine prostaglandin endoperoxide synthases. **J. Biol. Chem.**, v. 265, n.9, p. 5192-5198, Mar. 1990.

DEWITT, D. L.; MEADE, E. A.; SMITH, W. L. PGH synthase isoenzyme selectivity: The potential for safer nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Am. J. Med.**, New York, v. 95, n.2A, p. 40S-44S, Aug. 1993.

DINCHUK, J. E.; CAR, B. D.; FOCHT, R. J.; JOHNSTON, J. J.; JAFFEE, B. D.; COVINGTON, M. B.; CONTEL, N. R.; ENG, V. M.; COLLINS, R. J.; CZERNIAK, P. M.; GORRY, S. A.; TRZASKOS, J. M. Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II. **Nature**, London, v.378, n. 23, p. 406, Nov. 1995.

DRAZEN, J.M. COX-2 inhibitors: a lesson in unexpected problems. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 352, n. 11, p. 1131-1132, Mar. 2005

DUBOIS, R. N.; ABRAMSON, S. B.; CROFFORD, L.; GUPTA R.A.; SIMON, L. S.; VAN DE PUTTE, L. B. A.; LIPSKY, P. E. Cyclooxygenase in biology and disease. **FASEB J.**, v. 12, n.12 , p.1063-1073, Sept. 1998.

ECKMANN, L.; STENSON, W. F.; SAVIDGE, T. C.; LOWE, D. C.; BARRETT, K. E.; FIERER, J.; SMITH, J. R.; KAGNOFF, M. F. Induction of intestinal epithelial cells in the host secretory response to infection by invasive bacteria: bacterial entry induces epithelial prostaglandin H synthase-2 expression and prostaglandin E2 and F $\alpha$  production. **J. Clin. Invest.**, New York, v.100, n. 2, p.269-309, July 1997.

EMERY, P. Cyclooxygenase-2: A major therapeutic advance? **Am. J. Med.**, New York, v. 110, n.1A, p.42s-45s, Jan. 2001.

FISHER, R. B.; PARSONS, D. S. Glucose movement across the wall of the rat small intestine. **J. Physiol.**, Paris, v.119, n. 2/3, p.210-223, Feb. 1953.

FITZ GERALD, G. A. Cardiovascular pharmacology of nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and coxibs: clinical considerations. **Am. J. Cardiol.**, v. 89, n. 6A, p. 26D-32D, Mar. 2002.

FITZGERALD, G. A.; PATRONO, C. The coxibs, selective inhibitor of cyclooxygenase-2. **N. Engl. J. Med.**, v. 110, n. 6, p.433-442, Aug. 2001.

FORNAI, M.; BLANDIZZI, C.; COLUCCI, R.; ANTONIOLI, L.; BERNARDINI, N.; SEGNANI, C.; BARAGATTI, B.; BAROGI, S.; BERTI, P.; SPISNI, R.; DEL TACCA, M. Role of cyclooxygenase 1 and 2 in the modulation of neuromuscular functions in the distal colon of humans and mice. **Gut**, London, v. 54, n. 5, p. 608-616, May 2005.

GILROY, D. W.; COLVILLE-NASH, P. R.; WILLIS, D.; CHIVERS, J.; PAUL-CLARK, M. J.; WILLOUGHBY D. A. Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. **Nat. Med.**, New York, v.5, n. 6, p. 698-701, June 1999.

GLASER, K.; SUNG, M. L.; O'NEILL, K.; HARTMAN, D.; CARLSON, R.; KREFT, A.; KUBRAK, D.; HSIAO, C. L.; WEICHMAN, B. Etodolac selectively inhibits human prostaglandin G/H synthase 2 (PGHS-2) versus human PGHS-1. **Eur. J. Pharmacol.**, Amsterdam, v. 281, n.1, p.107, July 1995.

GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. CECIL. **Tratado de medicina interna**. 22. ed.: Rio de Janeiro, Elsevier, 2005.

GOLDSTEIN, J. L.; CORREA, P.; ZHAO, W.W.; BURR, A.M.; HUBBARD, R.C.; VERBURG, K.M.; GEIS, G.S. Reduced incidence of gastroduodenal ulcers with celecoxib, a novel cyclooxygenase-2 inhibitor, compared to naproxen in patients with arthritis. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v.96, n. 4, p.1019-1027, Apr. 2001.

GRAHAM, D.Y.; SMITH, J.L.; DOBBS, S.M. Gastric adaptation occurs with aspirin administration in man. **Dig. Dis. Sci.**, New York, v. 28, n. 1, p. 1-6, Jan. 1983.

GRAHAM, D.Y.; AGRAWAL, N.M.; ROTH, S.H. Prevention of NSAID induced gastric ulcer with misoprostol, multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**, Minneapolis, v. 2, n. 8623, p. 1277-1280, Dec.1988.

HANLON, J.T.; SCHMADER, K.E.; LANDERMAN, L.R.; HORNER, R.D.; FILLENBAUM, G.G.; PIEPER, C.F.; WALL, W. E.; KORONKOWSKI, M.J.; COHEN, H.J. Relation of Prescription Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Use to Cognitive Function among Community-Dwelling Elderly. **Ann. Epidemiol.**, New York, v. 7, n.2, p.87-93, Feb. 1997.

HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. **Goodman & Gilman's**: as bases farmacológicas da terapêutica. 10. ed. São Paulo: McGraw-Hill, 2002.

HARMS, V.; WRIGHT, E. M. Some characteristics of Na/K-ATPase from rat intestinal basal lateral membranes. **J. Membr. Biol.**, New York, v.53, n.2, p.119-128, apr. 1980.

HARRIS, R. C.; BREYER, M. D. Physiological regulation of cyclo-oxygenase-2 in the kidney. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 281, n.1, p. f1-f11, July 2001.

HINZ, B.; BRUNE, K. Cyclooxygenase-2- 10 years later. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 300, n. 2, p. 367-375, Feb. 2002.

HOTZ-BEHOFSITS, C.; SIMPSON, R.J.; WALLEY, M.; BJARNASON, I.T. Role of COX-2 in nonsteroidal anti-inflammatory drug enteropathy in rodents. **Scand. J. Gastroenterol.**, Oslo, v.45, n. 7/8, p. 822-827, Aug. 2010.

HUGHES, S. **Coxibs**: where do we go from here? 2005. Disponível em: <<http://www.theheart.org>>. Acesso: 9 June 2011

INIGUEZ, M. A.; PUNZON, C.; FRESNO, M. Induction of cyclooxygenase-2 on activated T lymphocytes: Regulation of T cell activation by cyclooxygenase-2 inhibitors. **J. Immunol.**, Baltimore, v.163, n.1, p.111-119, July 1999.

JONES, R. Nonsteroidal Anti-inflammatory drug prescribing: past, present and future. **Am. J. Med.**, New York, v.110, n.1A, p.4s-7s, Jan. 2001.

KASE, Y.; SAITOH, K.; YUZURIHARA, M.; ISHIGE, A.; KOMATSU, Y. Effects of Hange-shashin-to on cholera toxin-induced fluid secretion in the small intestine of rats. **Biol. Pharm. Bull.**, Tokyo, v.21, n. 2, p.117-20, Feb.1998.

KIMBERG, D.V.; FIELD, M.; JOHNSON, J.; ANTÔNIA HENDERSON, A.; ELAINE GERSHON, E. Stimulation of intestinal mucosal adenylcyclase by cholera enterotoxin and prostaglandins. **J. Clin. Invest.**, New York, v. 50, n.6, p.1215-1230, June 1974.

KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (cox-2): aspectos atuais. **Rev. Bras. Anestesiol.**, Rio De Janeiro, v. 52, n.4, p. 498-512, Aug. 2002.

LANGENBACH, R.; MORHAM, S. G.; TIANO, H. F.; LOFTIN, C. D.; GHANAYEM, B. I.; CHULADA, P. C.; MAHLER, J. F.; LEE, C. A.; GOULDING, E. H.; KLUCKMAN, K. D.; KIM, H. S.; SMITHIES, O. Prostaglandin synthase 1 gene disruption in mice reduces arachidonic acid-induced inflammation and indomethacin-induced gastric ulceration. **Cell**, v. 83, n. 3, p. 483-492, Nov. 1995.

LEE, J. Relationship between intestinal motility, tone, water absorption and lymph flow in the rat. **J. Physiol.**, Paris, v. 345, p. 489-499, Dec. 1983.

LEE, S. H.; SOYOOLA, E.; CHANMUGAM, P.; HART, S.; SUN, W.; ZHONG, H.; LIOU, S.; SIMMONS, D.; DANIEL HWANG, D. Selective expression of mitogen-induced cyclooxygenase in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v.267, n.36, p. 25934, Dec. 1992.

LEVENS, N. Response of rat jejunum to angiotensin III; pharmacology and mechanism of action. **Am. J. Physiol.**, Washington, v. 245, n.4, p. G511-G518, Oct.1983.



LIGA DE NEUROCIRURGIA SISTEMA NERVOSO.COM. **Mecanismos da inflamação:** metabolismo dos eicosanóides. Disponível em: <<http://www.sistemanervoso.com/pagina.php?secao=11&ma...>>. Acesso em: 10 set. 2005.

LIMA, A. A.; CARVALHO, G. H.; FIGUEIREDO, A. A.; GIFONI, A. R.; SOARES A. M.; SILVA, E. A.; GUERRANT, R. L. Effects of an alanyl-glutamine-based oral rehydration and nutrition therapy solution on electrolyte and water absorption in a rat model of secretory diarrhea induced by cholera toxin. **Nutrition**, New York, v.18, n.6, p.458-462, June 2002.

LONGO, W.E.; PANESAR, N.; MAZUSKI, J.; KAMINSKI, D.L. Contribution of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 to prostanoid formation by human enterocytes stimulated by calcium ionophore and inflammatory agents. **Prostaglandins. Other Lipid Mediat.**, New York, v. 56, n. 5/6, p. 325-339, Aug. 1998.

MARNETT, L.J.; ROWLINSON, W.S.; GOODWIN, D.C.; KALGUTKAR, A.S.; LANZO, C.A. Arachidonic acid oxygenation by COX-1 e COX-2. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v.274, n.33, p.22903-22906, Aug. 1999.

MASFERRER, J.L.; ZWEIFEL, B. S.; MANNING, P.T.; HAUSER, S.D.; LEAHY, K.M.; SMITH, W.G.; ISAKSON, P.C.; SEIBERT, K. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase-2 in vivo is antiinflammatory and nonulcerogenic. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 93, n.8, p.228-3232, Apr. 1994.

MEADE, E. A.; SMITH, W. L.; DEWITT, D. L. Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. **J. Biol. Chem.**, Bethesda, v.268, n.9, p.6610-6614, Mar. 1993.

MEDEIROS, B. A.; SANTOS, C. L.; PALHETA JR, R.C.; QUEIROZ, D.A.F.; GRAÇA, J.R.V.; SANTOS, A.A.; ROLA F.H.; LIMA, A.A.M.; GONDIM, F.A.A. Spinal cord transection modifies ileal fluid and electrolyte transport in rats. **Auton. Neurosci.**, Amsterdam, v.139, n. 1/2, p. 24–29, Jan. 2008.

MITCHELL, J.A.; AKARASEREENONT, P.; THIEMERMANN, C.; FLOWER, R.J.; VANE, J.R. Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 90, n. 24, p. 11693-11697, Dec. 1993.

MIZUNO, H.; SAKAMOTO, C.; MATSUDA, K.; WADA, K.; UCHIDA, T.; NOGUCHI, H.; AKAMATSU, T.; KASUGA, M. Inhibition of cyclooxygenase 2 in gastric mucosal

lesions and its inhibition by the specific antagonist delays healing in mice. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.112, n. 2, p. 387, Feb. 1997.

MORHAM, S.G.; LANGENBACH, R.; LOFTIN, C.D.; TIANO, H.F.; VOULOUMANOS, N.; JENNETTE, J.C.; MAHLER, J.F.; KLUCKMAN, K.D.; LEDFORD, A.; LEE, C. A.; SMITHIES, O. Prostaglandin synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse. **Cell**, v. 83, n. 3, p. 473, Nov. 1995.

MOZSIK, G.V. Direct inhibitory effect of adenosine monophosphates on Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> dependent ATPase prepared from human gastric mucosa. **Eur. J. Pharmacol.**, Amsterdam, v. 193, n.2, p.265-275, Feb. 1970.

MURATA, T.; USHIKUBI, F.; MATSUOKA, T.; HIRATA, M.; YAMASAKI, A.; SUGIMOTO, Y.; ICHIKAWA, A.; AZE, Y.; TANAKA, T.; YOSHIDA, N.; UENO, A.; OH-ISHI, S.; NARUMIYA, S. Altered pain perception and inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor. **Nature**, London, v.388, n.6643, p. 678-682, Aug.1997.

NEWBERRY, R.D.; STENSON, W.F.; LORENZ, R.G. Cyclooxygenase-2-dependent arachidonic acid metabolites are essential modulators of the intestinal immune response to dietary antigen. **Nat. Med.**, New York, v.5, p.900-906, Aug. 1999.

NARUMIYA, S.; FITZGERALD, G.A. Genetic and pharmacological analysis of prostanoid receptor function. **J. Clin. Invest.**, v.108, n.1, p. 25-30.21, July 2001.

O'NEILL, G.P.; MANCINI, J. A.; KARGMAN, S.; YERGEY, J.; KW AN, M.Y.; FALGUEYRET, J. P.; ABRAMOVITZ, M.; KENNEDY, B. P.; OUELLET, M.; CROMLISH, W. Over expression of human prostaglandin G/H synthase-1 and 2 by recombinant vaccine virus: inhibition by nonsteroidal anti-inflammatory drugs and biosynthesis of 15-hydroxyeicosatetraenoic acid. **Mol. Pharmacol.**, v.45, n.2, p. 245-254, Feb.1994.

O'BANION, M. K.; WINN, V. D.; YOUNG, D. A. cDNA cloning and functional activity of a glucocorticoid-regulated Inflammatory cyclooxygenase. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.89, n.11, p. 4888-4892, June 1992.

OHRI, S. K.; SOMASUNDARAM, S.; KOAK, Y.; MACPHERSON, A.; KEOGH, B. E.; TAYLOR, K. M.; MENZIES, I. S.; BJARNASON, I. The effect of intestinal hypoperfusion during cardiopulmonary bypass surgery on saccharide permeation and intestinal permeability in man. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.106, n.2, p.318-323, Feb.1994.

PÁCHA, J. Development of Intestinal Transport Function in Mammals. **Physiol. Rev.**, Baltimore, v.80, n.4, p.1633-1667, Oct. 2000.

PAIRET, M.; VAN-RYN, J. Experimental models used to investigate the differential inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 by non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Inflamm. Res.**, Basel, v.47, Suppl., p.93S-101S, Oct.1998.

PARKINSON, D.K. ; EBEL, H. ; DIBONA, D.R. ; SEARP, G.W.G. Localization of the action of cholera toxin on adenylyl cyclase in mucosal epithelial cells of rabbit intestine. **J. Clin. Invest.**, New York, v.51, n.9, p.2292-2298, Sept. 1972.

PATRIGNANI, P.; PANARA, M.R.; GRECO, A.; FUSCO, O.; NATOLI, C.; IACOBELLI, S.; CIPOLLONE, F.; GANCI, A.; CRÉMINON, C.; MACLOUF, J. Biochemical and pharmacological characterization of the cyclooxygenase activity of human blood prostaglandin endoperoxide synthases. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, Baltimore, v.271, n.3, p.1705-1712, Dec.1994.

PAULINO, M. L. M. V.; PINHEIRO, D. F. **Ingestão e Digestão de Alimento. Departamento de Fisiologia.** Botucatu: Instituto de Biociências/UNESP, 2006.  
Disponível em:  
<[http://www.ibb.unesp.br/departamentos/Fisiologia/material\\_didatico/Bases\\_Fisiologia\\_Anilal/apostila/capitulo2.PDF](http://www.ibb.unesp.br/departamentos/Fisiologia/material_didatico/Bases_Fisiologia_Anilal/apostila/capitulo2.PDF)>. Acesso em: 14 jul. 2010.

PORCHER, C.; HOROWITZ, B.; BAYGUINOV, O.; WARD, S. M.; SANDERS, K. M. Constitutive expression and function of cyclooxygenase-2 in murine gastric muscles. **Gastroenterology**, Philadelphia, v. 122, n.5, p.1442-1454, May 2002.

PORCHER, C.; HOROWITZ, B.; WARD, S. M.; SANDERS, K. M. Constitutive and functional expression of cyclooxygenase 2 in the murine proximal colon. **Neurogastroenterol. Motil.**, Oxford, v.16, n.6, p. 785-799, Dec. 2004.

RAMA, A.C.R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I.V.; SOUSA, A.; CAMARONA, M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina. Estudos de dissolução e de coeficiente de participação. **Braz. J. Pharm.Sci.**, São Paulo, v.42, n.1, p. 59-68, jan./mar. 2006.

READ, N. W. **Secretory Diarrhoea.** Basel: Sandoz Pharma AS, 1992.

### Revisão sobre origem dos AINES e substratos.

[http://www.uff.br/mfl/outras\\_disciplinas/med\\_integral\\_infancia\\_adolescente/cox2.htm](http://www.uff.br/mfl/outras_disciplinas/med_integral_infancia_adolescente/cox2.htm)  
#Revisa. Acesso em: 2 mar. 2011

REUTER, B. K.; ASFAHA, S.; BURET, A.; SHARKEY, K. A.; WALLACE, J. L. Exacerbation of inflammation-associated colonic injury in rat through inhibition of cyclooxygenase-2. **J. Clin. Invest.**, New York, v.98, n.9, p.2076-2085, Nov. 1996.

RIVERON CORTEGUERA, R. L. Fisiopatología de la diarrea aguda. **Rev. Cubana Pediatr.**, Ciudad de la Habana, v. 71, n. 2, p.86-115, June 1999.

ROBERTSII, L. J.; MORROW, J. D. Analgésico, antiperéticos, agentes antiinflamatórios e fármacos utilizados no tratamento da gota. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; GILMAN, A. G. **As bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2003. cap. 27, p.517-555.

ROTH, S. H. NSAID gastropathy. A new understanding. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v.156, n.15, p.1623-1628, Aug. 1996.

SANTOS, C. L.; MEDEIROS, B. A.; PALHETA-JUNIOR, R. C.; MACEDO, G. M.; SOUZA, M. A. N.; TRONCON, L. E. A.; SANTOS, A. A.; SOUZA, M. H. L. P. Cyclooxygenase-2 inhibition increases gastric tone and delays gastric emptying in rats. **Neurogastroenterol Motil.**, Oxford, v.19, n.3, p.225–232, Mar. 2007.

SCHEDL, H.P.; CLIFTON, J.A. Small intestinal absorption of steroids. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.41, n.5, p.491-499, 1961.

SCHOLTKA, B.; STÜMPPEL, F.E.; JUNGGERMANN, K. Acute increase, stimulated by prostaglandin E2, in glucose absorption via the sodium dependent glucose transporter-1 in rat intestine. **Gut**, London, v.44, n.4, p.490-496, Apr. 1999.

SCHWAB, J.M.; SCHLUESENER, H.J.; LAUFER, S. COX-3: just another COX or the solitary elusive target of paracetamol? **Lancet**, v.361, n.9362, p.981-982, Mar. 2003.

SHIMOKAWA, T.; KULMACZ, R.J.; DEWITT, D.L; SMITH, W.L. Tyrosine 385 of prostaglandin endoperoxide synthase is required for cyclooxygenase catalysis. **J. Bio. Chem.**, Bethesda, v.265, n. 33, p. 20073-20076, Nov. 1990.

SHIMOKAWA, T.; SMITH, W. L. Essential histidines of prostaglandin endoperoxide synthase. His-309 is involved in heme binding. **J. Bio. Chem.**, Bethesda, v.266, n.10, p. 6168-6173, Apr. 1991.

SHIMOKAWA, T.; SMITH, W. L. Prostaglandin endoperoxide synthase. The aspirin acetylation region. **J. Bio. Chem.**, Bethesda, v. 267, n.17, p. 12387-12392, June 1992.

SINGH, G.; RAMEY, D.R.; MORFELD, D.; SHI, H.; HATOUM, H.T.; FRIES, J.F. Gastrointestinal tract complications of nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment in rheumatoid arthritis. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v.156, n.14, p.1530-61996, July 1996.

SIRIWARDENA, A.K.; SMITH, E. H.; BORUM, E. H.; KELLUM, J. M. Identification of a 5-hydroxytryptamine (5-HT<sub>2</sub>) receptor on guinea pig small intestinal crypt cells. **Am. J. Physiol.**, Washington, v. 265, n. 2, Pt 1, p.G339–G346, Aug. 1993.

SOMASUNDARAM, S.; SADIQUE, J.; SUBRAMONIAM, A. Influence of extra-intestinal inflammation on the invitro absorption of C<sup>14</sup>-Glucose and the effects of anti-inflammatory drugs in the jejunum of rats. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.10, n.2, p.147-152, Apr. 1983.

SOUZA, M. H.; LIMA, O. M.; ZAMUNER, S. R.; FIORUCCI, S.; WALLACE, J. L. Gastritis increases resistance to aspirin-induced mucosal injury via COX-2 mediated lipoxin synthesis. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, Bethesda, v.285, n.1, p. 54–61, July 2003.

SUNDARAM, U.; WISEL, S.; RAJENDRAN, V. M.; WEST, A. B. Mechanism of inhibition of Na<sup>+</sup>-glucose cotransport in the chronically inflamed rabbit ileum. **Am. J. Physiol.**, Baltimore, v.273, n.4, p.G913-G919, Oct. 1997.

TANAKA, A.; HASE, S.; MIYAZAWA, T.; OHNO, R.; TAKEUCHI, K. Role of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 inhibition in nonsteroidal antiinflammatory drug-induced intestinal damage in rats: relation to various pathogenic events. **J. Pharmacol. Exp.The.**, v. 303, n.3, p.1248-1254, Dec. 2002.

TOH, H. Prostaglandin endoperoxide synthase contains an EGF-like domain. **FEBS Lett.**, Amsterdam, v.258, n.2, p.317-319, Dec.1989.

VANE, J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nat. New Biol.**, v. 231, n.25, p.232-235, June 1971.

WALLACE, J.L.; BAK, A.; MCKNIGHT, W.; ASFAHA, S.; SHARKEY, K.A.; MACNAUGHTON, W.K. Cyclooxygenase 1 Contributes to Inflammatory Responses

in Rats and Mice: Implications for Gastrointestinal Toxicity. **Gastroenterology**, Philadelphia, v.115, p.101–109, 1998.

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**, Philadelphia, v.119, n.3, p.706-714, Sept. 2000.

WICKS, C.; SOMASUNDARAM, S.; BJARNASON, I.; ROUTLEY, D.; POTTER, D.; TAN, K. C.; WILLIAMS, R. Comparison of enteral feeding and total parenteral nutrition after liver transplantation. **Lancet**, v. 344, n. 8926, p.837-840, Sept. 1994.

WOOD, J. D. Neurogastroenterologia e Motilidade Gastrintestinal. In: RHOADES, R. A.; TANNER, G. A. **Fisiologia médica**. 2. ed. São Paulo: Guanabara, 2005. p.439-469.

## ANEXO A

CETOROLACO DOSAGEM DE ÁGUA	T01	T02	T03	TM1	TM2	TM3	TF1	TF2	TF3
R1	0,020	-0,001	-0,002	0,007	-0,001	-0,001	0,026	-0,001	-0,001
R2	0,022	-0,001	-0,001	0,008	0,000	0,000	0,019	-0,001	0,000
R3	0,024	0,000	-0,001	0,011	0,001	0,000	0,021	0,001	0,000
R4	0,023	0,000	0,000	0,034	0,003	0,001	0,018	0,001	0,000
R5	0,023	0,002	0,001	0,015	0,002	0,001	0,024	0,001	0,001
R6	0,027	0,002	0,001	0,018	0,002	0,002	0,024	0,002	0,003

CETOROLACO CLORO mEq/l	T0	TM	TF
R1	146	129	123
R2	118	129	115
R3	133	124	128
R4	126	137	140
R5	143	142	151
R6	110	129	139

CETOROLACO SÓDIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	157	141	170
R2	118	138	128
R3	119	126	139
R4	132	149	136
R5	119	142	132
R6	88	146	135

CETOROLACO POTÁSSIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	2,50	2,60	2,80
R2	2,00	2,70	2,10
R3	1,50	2,00	2,40
R4	1,80	2,90	2,20
R5	1,60	2,50	2,20
R6	1,20	2,70	2,30

TAMPÃO FOSFATO									
DOSAGEM DE ÁGUA	T01	T02	T03	TM1	TM2	TM3	TF1	TF2	TF3
R1	0,020	0,001	0,001	0,022	0,002	0,001	0,025	0,002	0,001
R2	0,028	0,002	0,002	0,022	0,002	0,001	0,030	0,001	0,001
R3	0,027	0,004	0,001	0,025	0,002	0,000	0,028	0,001	0,001
R4	0,025	0,002	0,002	0,030	0,004	0,002	0,033	0,002	0,001
R5	0,030	-0,002	-0,001	0,032	0,004	0,000	0,023	0,001	0,001
R6	0,024	0,001	0,001	0,019	0,007	0,001	0,039	0,001	0,000

TAMPÃO FOSFATO			
CLORO mEq/l	T0	TM	TF
R1	141	168	172
R2	119	142	120
R3	143	159	144
R4	163	150	146
R5	127	129	120
R6	113	156	127

TAMPÃO FOSFATO			
SÓDIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	110	148	119
R2	132	152	132
R3	152	141	125
R4	123	150	148
R5	144	140	99
R6	114	72	136

TAMPÃO FOSFATO			
POTÁSSIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	1,40	3,10	2,00
R2	2,20	2,90	1,70
R3	2,90	2,80	1,90
R4	2,10	3,00	2,00
R5	2,50	2,80	1,70
R6	2,00	2,00	2,30



SALINA									
DOSAGEM DE ÁGUA	T01	T02	T03	TM1	TM2	TM3	TF1	TF2	TF3
R1	0,003	0,001	0,001	0,034	0,002	0,002	0,010	0,003	0,002
R2	0,019	0,004	0,002	0,034	0,005	0,004	0,019	0,004	0,005
R3	0,019	0,001	0,001	0,041	0,003	0,002	0,026	0,004	0,002
R4	0,019	0,002	0,002	0,039	0,003	0,002	0,032	0,002	0,002
R5	0,026	0,002	0,002	0,091	0,013	0,003	0,002	0,002	0,002
R6	0,029	0,003	0,002	0,025	0,004	0,003	0,028	0,003	0,003

SALINA			
CLORO mEq/l	T0	TM	TF
R1	116	117	115
R2	140	121	114
R3	114	128	116
R4	117	119	118
R5	115	154	129
R6	87	126	137

SALINA			
SÓDIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	104	206	125
R2	137	110	111
R3	101	95	154
R4	140	142	210
R5	124	181	161
R6	92	141	158

SALINA			
POTÁSSIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	1,70	4,30	2,50
R2	2,70	2,70	1,80
R3	1,50	1,80	2,50
R4	1,70	3,10	3,50
R5	2,0	4,40	2,60
R6	1,40	3,90	2,50

CELECOXIBE DOSAGEM DE ÁGUA	T01	T02	T03	TM1	TM2	TM3	TF1	TF2	TF3
R1	0,012	0,000	0,000	0,033	0,004	0,000	0,018	0,002	0,000
R2	0,005	0,004	0,002	0,027	0,002	0,001	0,017	0,001	0,002
R3	0,019	0,016	0,003	0,017	0,004	0,002	0,021	0,002	0,003
R4	0,014	0,003	0,002	0,037	0,005	0,003	0,021	0,003	0,003
R5	0,020	0,003	0,003	0,016	0,005	0,002	0,020	0,003	0,003
R6	0,026	0,004	0,004	0,039	0,007	0,003	0,022	0,003	0,004

CELECOXIBE CLORO mEq/l	T0	TM	TF
R1	125	.....	135
R2	129	167	135
R3	123	166	119
R4	148	135	120
R5	125	136	125
R6	140	128	129

CELECOXIBE SÓDIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	123	.....	135
R2	125	140	143
R3	136	166	130
R4	141	140	134
R5	130	145	130
R6	129	108	161

CELECOXIBE POTÁSSIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	2,10	.....	1,90
R2	1,80	2,50	1,60
R3	1,90	2,90	1,50
R4	2,00	2,60	1,60
R5	2,00	2,40	2,00
R6	1,80	1,90	1,70

CETOROLACO + CELECOXIBE		T01	T02	T03	TM1	TM2	TM3	TF1	TF2	TF3
DOSAGEM DE ÁGUA										
R1		0,021	0,000	0,000	0,030	0,003	0,000	0,020	0,000	0,000
R2		0,007	-0,011	-0,011	0,024	0,002	-0,001	0,021	0,000	0,000
R3		0,016	0,000	-0,002	0,018	-0,001	-0,002	0,021	0,000	-0,001
R4		0,086	0,007	0,000	0,079	0,001	-0,001	0,022	0,000	-0,001
R5		0,022	-0,002	-0,002	0,031	0,002	-0,002	0,024	-0,003	-0,003
R6		0,022	-0,003	-0,003	0,049	0,002	-0,002	0,025	-0,002	-0,003

CETOROLACO + CELECOXIBE		T0	TM	TF
CLORO mEq/l				
R1		128	126	127
R2		120	126	119
R3		119	120	111
R4		132	125	144
R5		115	121	77
R6		105	126	119

CETOROLACO + CELECOXIBE		T0	TM	TF
SÓDIO mEq/l				
R1		125	130	105
R2		93	108	103
R3		112	115	92
R4		120	93	126
R5		109	125	68
R6		99	134	121

CETOROLACO+ CELECOXIBE		T0	TM	TF
POTASSIO mEq/l				
R1		2,20	2,70	2,00
R2		1,80	2,30	1,90
R3		2,10	2,70	1,90
R4		2,40	2,00	2,50
R5		2,10	2,80	1,50
R6		2,00	3,20	2,10

INDOMETACINA DOSAGEM DE ÁGUA	T01	T02	T03	TM1	TM2	TM3	TF1	TF2	TF3
R1	0,020	-0,006	-0,007	0,021	-0,004	-0,007	0,013	-0,008	-0,008
R2	0,011	-0,008	-0,010	0,011	-0,008	-0,011	0,002	-0,008	-0,011
R3	0,006	-0,010	-0,011	0,008	-0,009	-0,011	0,011	-0,010	-0,011
R4	0,011	-0,010	-0,011	0,011	-0,009	-0,010	0,011	-0,010	-0,010
R5	0,012	-0,010	-0,011	0,037	-0,003	-0,010	0,009	-0,010	-0,011
R6	0,010	-0,010	-0,009	0,008	-0,009	-0,011	0,010	-0,010	-0,011

INDOMETACINA CLORO mEq/l	T0	TM	TF
R1	118	126	118
R2	118	129	126
R3	122	129	123
R4	124	129	122
R5	121	128	122
R6	123	127	122

INDOMETACINA SÓDIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	121	139	126
R2	120	129	124
R3	126	133	123
R4	119	120	0,69
R5	88	127	139
R6	126	142	137

INDOMETACINA POTÁSSIO mEq/l	T0	TM	TF
R1	2,80	2,00	1,90
R2	1,90	1,90	1,90
R3	1,90	1,70	2,00
R4	1,80	1,60	0,80
R5	1,10	2,20	2,00
R6	1,40	3,00	2,10