



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CAMPUS DE SOBRAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

KÁTIA ALVES RIBEIRO

ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES OPIOIDES E RECEPTORES α -2-
ADRENÉRGICOS NO EFEITO GASTROPROTETOR DA LECTINA DE
SEMENTES DE *ABELMOSCHUS ESCULENTUS* EM CAMUNDONGOS

SOBRAL

2014

KÁTIA ALVES RIBEIRO

ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES OPIOIDES E RECEPTORES α -2-
ADRENÉRGICOS NO EFEITO GASTROPROTETOR DA LECTINA DE
SEMENTES DE *ABELMOSCHUS ESCULENTUS* EM CAMUNDONGOS

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mirna Marques Bezerra

Coorientador: Prof. Dr. Antonio Alfredo Rodrigues e Silva

SOBRAL

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca do Curso de Medicina – *Campus* de Sobral

-
- R37e Ribeiro, Kátia Alves.
 Envolvimento dos receptores opioides e receptores A-2-adrenérgicos no efeito gastroprotetor da lectina de sementes de *abelmoschus esculentus* em camundongos. / Kátia Alves Ribeiro. – 2014.
 73 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Curso de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Sobral, 2014.
 Área de Concentração: Biotecnologia.
 Orientação: Profa. Dra. Mirna Marques Bezerra.
 Coorientação: Prof. Dr. Antonio Alfredo Rodrigues e Silva.
1. *Abelmoschus* . 2. Receptores opioides. I. Título.

KÁTIA ALVES RIBEIRO

ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES OPIOIDES E RECEPTORES α -2-
ADRENÉRGICOS NO EFEITO GASTROPROTETOR DA LECTINA DE
SEMENTES DE *ABELMOSCHUS ESCULENTUS* EM CAMUNDONGOS

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

Aprovada em ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Mirna Marques Bezerra Brayner (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* Sobral

Prof. Dr. Antonio Alfredo Rodrigues e Silva (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus* Sobral

Profa. Dra. Tatiane Santi Gadelha
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Ao meu maior, melhor e único
amigo, a Deus.

AGRADECIMENTOS

Ao meu Senhor, meu Deus, Meu Rei, que sempre, sempre esteve comigo em todas as horas desde as difíceis e desistentes as mais felizes, que me deu forças, coragem, fé e dedicação para a realização desse sonho. Minha eterna gratidão.

Aos meus familiares em especial a minha mãe, essa rainha, guerreira que nunca mediu esforços para eu chegar até aqui.

À minha orientadora, Profa Dra Mirna Marques pela paciente orientação, ética, e por transmitir tanta sabedoria, conhecimento com imensa humildade e por compreender as minhas dificuldades.

Ao Prof. Dr. Antonio Alfredo Rodrigues e Silva pela ajuda durante os experimentos com úlcera, apoio e valiosas sugestões. Meu muito obrigado.

A profa Dra. Hellíada Vasconcelos pela orientação valiosa e pelo apoio, sempre me incentivou e estimulou durante todo a minha jornada na pesquisa Científica.

À Banca examinadora.

Ao Programa de Pós Graduação em Biotecnologia, pelo apoio durante o curso; aCoordenação do Programa, a Edílda secretária, sempre muito paciente comigo bem como aos professores do curso. Agradeço a todos pelos ensinamentos transmitidos.

A profa. Dra. Tatiane Gadelha, da UFPB, por ceder gentilmente a lectina utilizada nesse trabalho, e ao seu mestrando Talles que sempre esteve acompanhando-nos de perto e pela enorme ajuda quanto à extração, purificação e envio da lectina, fundamental para o término desse trabalho.

A Profa. Dra. Karuza Maria Alves Pereira, por contribuir para a realização das análises histopatológicas e pela amizade.

A Profa. Dra. Rosejane Albuquerque, pela atenção, ensinamentos, ajuda e principalmente pela maneira tão gentil em que sempre me atendeu.

A Profa. Dra. Lissiana Aguiar, pela atenção, compreensão e auxílio.

A toda equipe do laboratório de Farmacologia de Sobral da UFC – Sobral (LAF).

Agradecimento especial a todos os alunos de Iniciação Científica que acompanharam o desenvolvimento desse trabalho, Mateus Gomes, Dalyne, Samuel Mateus, Dina Andessa, Samuel Matos agradeço pelas contribuições e pelo apoio constante durante as realizações dos experimentos. Muito obrigada pela disposição e dedicação às longas horas de experimento.

A Jordânia Marques, Danielle do Val, Isabela Ribeiro e Débora Ribeiro pelos momentos tensos e pela enorme assistência e dedicação em prol da realização desse trabalho. Isabela obrigada por tudo.

Ao Samuca (mente gorda) pela ajuda constante em todos os momentos da realização desse trabalho, pelo convívio maravilhoso juntamente com a Alice, por estarem sempre disponíveis, e sempre me apoiando, valeu pelo o privilégio de compartilharmos uma grande amizade eterna.

Ao apoio técnico Angela, Francisco Gomes e a Adalberto Junior, vocês não só me forneceram auxílio como também me ofereceram a amizade e a dedicação com o meu trabalho.

Aos meus grandes amigos da Igreja Batista Esperança, pelas orações e pelo apoio em momentos meus de transição, mui obrigada, em especial ao pastor Pedro (por grandes ensinamentos), Crisleyane, Daniel, Faby, Alex, Patricia, Arteirinho, Arturzinho, Jú, Jailsinho, Milkas, Michelys, Patrick pela agradável convivência durante esses anos, pelas conversas e risadas em momento de descontração.

À Lúcio Aguiar, além de colega e amigo, é uma pessoa exemplo de prestatividade e humildade.

A todos os meus amigos do mestrado.

Ao Ivanildo Alves por todo amor, apoio durante todo o esse percurso que estive comigo, e pelas incansáveis conversas, pela motivação/conselhos e pela confiança que depositou em mim.

Aos meus amigos Ismael Nilo, José Ariévilo, Ricardo e Annyta, pela motivação na seleção de doutorado e todo apoio.

Aos animais que doaram suas vidas para o progresso da ciência.

Aos órgãos financiadores CAPES, UFC pela concessão da bolsa de estudo.

A todos aqueles amigos que passaram na minha vida e contribuíram para que eu chegasse até aqui. Muito obrigada!

RESUMO

O uso de vegetais como fonte de novos medicamentos vem sendo largamente utilizado pela indústria farmacêutica. Lectinas são proteínas que reconhecem sítios específicos em moléculas e ligam-se reversivelmente a carboidratos, sem alterar a estrutura covalente das ligações glicosídicas dos sítios. São distribuídas em uma ampla variedade de espécies de plantas, presentes em maior quantidade em grãos de leguminosas e gramíneas. *Abelmoschus esculentus* (AEL), vegetal pertencente à família Malvaceae, conhecida popularmente como quiabo, possui efeitos ~~atividade~~ anti-inflamatório, antinociceptivo e anticoagulante. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da lectina de sementes de AEL em camundongos, no modelo de lesão gástrica induzida por etanol absoluto e o (s) seu (s) possível (is) mecanismo (s) de ação. Para analisar os efeitos da lectina na lesão gástrica foram utilizados camundongos machos Swiss (25-30 g) em jejum de 24 h que intravenosamente (i.v.) receberam AEL (0,01; 0,1 ou 1 mg/kg) 30 min antes da administração (*per os*) de etanol absoluto (0,2 mL/animal). Grupos tratados com salina ou ranitidina (80 mg/kg, p.o.) foram utilizados como controles negativo e positivo, respectivamente. Após 30 min, os animais foram eutanasiados, sob anestesia, e os estômagos removidos, abertos na longa curvatura e analisados macro e microscopicamente (H&E). Para investigar o (s) possível (is) mecanismo (s) de ação da AEL, os grupos foram pré-tratados com: (1) naloxona (antagonista opioide não-seletivo) e morfina (agonista dos receptores μ); (2) misoprostol (análogo da prostaglandina E1) e indometacina (inibidor não seletivo da COX); (3) L-NAME (inibidor não seletivo da NOS) e L-arginina (substrato da NOS); e (4) clonidina (agonista α -2-adrenérgico) e ioimbina (antagonista seletivo α -2-adrenérgico). O trabalho demonstra que a AEL possui efeito gastroprotetor que envolve a ativação de receptores α -2-adrenérgicos, receptores opioides, mas não depende de prostaglandinas e óxido nítrico.

Palavras-chave: *Abelmoschus esculentus*. Lectina. Gastropatia. Receptores α -2-adrenérgicos. Receptores opioides.

ABSTRACT

The use of plants as sources of new drugs has been widely used by pharmaceutical industry. Lectins are proteins that recognize specific sites in the molecules and bind reversibly to carbohydrates without altering the covalent structure of the glycosidic sites. They are distributed in a wide variety of plant species having in greater amount in grain legumes and grasses. *Abelmoschus esculentus* (AEL) is an vegetable belonging to the Malvaceae family, popularly known as okra, exhibiting anti-inflammatory, antinociceptive and anticoagulant effects. The aim of this study was to investigate the gastroprotective effect of lectin from seeds of AEL using a model of absolute ethanol-induced gastric lesion in mice and its mechanisms of action were also studied. After fasting for 24 h, male Swiss mice (25-30g) received intravenously (i.v.) AEL (0.01, 0.1 or 1 mg/kg) 30 min before administration (*per os*) of absolute ethanol (0.2 ml/animal). Groups treated with vehicle (saline) or ranitidine (80 mg/kg, p.o.) were used as negative and positive controls, respectively. After 30 min, animals were euthanized under anesthesia, and the stomachs removed, opened in the long curvature and examined grossly and histologically (H & E). In another series of experiments to investigate the mechanisms of action of AEL, groups were pretreated with: (1) naloxone (nonselective opioid antagonist) and morphine (agonist receptors); (2) misoprostol (prostaglandin E1 analogue) and indomethacin (non-selective COX inhibitor); (3) L- NAME (non-selective NOS inhibitor) and L- arginine (the substrate of NOS); and (4) clonidine (α -2-adrenergic agonist) and yohimbine (α -2-adrenoceptor selective antagonist). AEL has gastroprotective effect that appears to involve the activation of α -2-adrenergic receptors and opioid receptors, but does not depend on prostaglandins and nitric oxide.

Keywords: *Abelmoschus esculentus*. Lectin. Gastropathy. α -2-adrenergic receptors. Opioid receptors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Regiões anatômicas do estômago e a mucosa gástrica.....	11
Figura 2 – Glândulas gástricas.....	12
Figura 3 – Regulação da secreção ácida gástrica. ACh: Acetilcolina; ECL: Células enterocromafins símiles; G: Célula G; D: Célula D; PGE2: prostaglandina E subtipo 2; M3: receptor muscarínico subtipo 3; H2: receptor histaminérgico subtipo 2; CCK2: receptor colecistocinina/gastrina subtipo 2.....	15
Figura 4 – <i>Abelmoschus esculentus</i>	33
Figura 5 – Efeito da lectina das sementes de <i>Abelmoschus esculentus</i> na gastropatia induzida por etanol	34
Figura 6 – Ausência de envolvimento do óxido nítrico na gastroproteção de AEL em modelo de gastropatia induzida por etanol.....	43
Figura 7 – Ausência de envolvimento de prostaglandinas na gastroproteção de AEL em modelo de gastropatia induzida por etanol.....	47
Figura 8 – Envolvimento de receptores opioides na gastroproteção da AEL em modelo de gastropatia induzida por etanol.....	48
Figura 9 – Envolvimento de receptores α -2-adrenérgicos na gastroproteção da AEL em modelo de gastropatia induzida por etanol.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Efeito protetor da lectina <i>Abelmoschus esculentus</i> sobre o aspecto microscópico das lesões gástricas induzidas pelo etanol.....	42
----------	---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido araquidônico
AC	Adenilatociclase
ACh	Acetilcolina
AEL	<i>Abelmoschus esculentos</i>
AINES	Anti-inflamatórios não esteroidais
AMPC	Monofosfato cíclico de adenosina
CCK ₂	Receptor de colecistocinina tipo 2
COX	Ciclooxigenase
COX-1	Ciclooxigenase-1
COX-2	Ciclooxigenase-2
ECL	Célulasenterocromafins
EGF	Fator de crescimento epidérmico
EP ₁ , EP ₂ , EP ₃ e EP ₄	Receptores de prostaglandinas 1, 2, 3 e 4, respectivamente
GC	Guanilatociclase
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
GRP	Peptídeo liberador de gastrina
GTP	Guanosina trifosfato
H&E	Hematoxilina e eosina
H ⁺ /K ⁺ -ATPase	Bomba de hidrogênio/potássio
HCl	Ácido clorídrico
HDC	Histidina descarboxilase
HGF	Fator de crescimento do hepatócito
IL-1 β	Interleucina 1 beta
IL-4, IL-6, IL- 8, IL-10	Interleucinas
IP ₃	Trifosfato de inositol
L-Arg	L-arginina
L-NAME	N _o -Nitro-L-arginina metil éster (inibidor da NOS)
L-NMMA	N ^G -monometil-L-arginina (inibidor da NOS)
M ₂ , M ₃ e M ₄	Receptoresmuscarínicos tipos 2, 3 e 4, respectivamente

NANC	Neurônios não adrenérgicos não colinérgicos
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NOSc	Óxido nítrico sintase constitutiva
NOSe	Óxido nítrico sintase endotelial
NOSi	Óxido nítrico sintase induzível
NOSn	Óxido nítrico sintase neuronal
PAACP	Peptídeo ativador da adenilatociclase da pituitária
PGE ₂	Prostaglandina E2
PGs	Prostaglandinas
PKC	Proteína-quinase C
PLA ₂	Fosfolipase A2
PLC	Fosfolipase C
SNC	Sistema nervoso central
SNE	Sistema nervoso entérico
TGF- α	Fator de crescimento transformante alfa
TGI	Trato gastrointestinal
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular

SUMÁRIO

1 -	INTRODUÇÃO	09
2 -	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 -	Anatomia e fisiologia do estômago	11
2.1.1 -	<i>Inervação do aparelho gastrointestinal</i>	13
2.1.2 -	<i>Secreção ácida gástrica</i>	14
2.1.2.1	Mecanismos estimulantes da secreção ácida.....	15
2.1.2.2	Mecanismos inibidores da secreção ácida.....	16
2.2 -	Agressão e proteção da mucosa gástrica	18
2.3 -	Úlcera Gástrica	20
2.4 -	Importantes sistemas e vias de regulação endógena da mucosa gástrica	21
2.4.1-	<i>Receptores opioides</i>	21
2.4.2-	<i>Prostaglandinas</i>	22
2.4.3-	<i>Óxido nítrico</i>	24
2.4.4-	<i>Receptores α2-adrenérgicos</i>	25
2.4.4.1-	<i>Ioimbina</i>	26
2.4.4.2-	<i>Clonidina</i>	27
2.5 -	Lesão gástrica induzida por etanol	27
2.6 -	Considerações Gerais sobre Lectina	29
2.6.1 -	<i>Lectinas Vegetais</i>	30
2.6.2 -	<i>Aplicações e Atividade biológicas das lectinas vegetais</i>	31
2.7	<i>Abelmoschus esculentus</i>	32
3 -	OBJETIVOS	34
4 -	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1 -	Animais	35
4.2 -	Material Vegetal	35
4.3 -	Drogas e reagentes	36
4.4 -	Úlcera gástrica induzida por etanol	37
4.5 -	Análise histopatológica	38

4.6 -	Investigação do possível mecanismo de ação de <i>Abelmoschus</i> <i>esculentus</i> (AEL).....	38
4.6.1 -	Papel do óxido nítrico na gastroproteção de AEL.....	38
4.6.2 -	Papel das prostaglandinas na gastroproteção de AEL.....	38
4.6.3 -	Envolvimento dos receptores opioides na gastroproteção do AEL.....	39
4.6.4 -	Envolvimento dos receptores α -2-adrenérgicos na gastroproteção do AEL	39
4.7 -	Análises estatísticas.....	39
5 -	RESULTADOS.....	40
5.1 -	Efeito protetor do AEL na gastropatia induzida por etanol.....	40
5.2 -	Estudo histopatológico das mucosas gástricas de animais submetidos à indução de gastropatia por etanol.....	40
5.3 -	Papel do óxido nítrico na gastroproteção de AEL.....	40
5.4 -	Papel das prostaglandinas na gastroproteção de AEL.....	44
5.5	Envolvimento dos receptores opioides na gastroproteção de AEL.....	44
5.6-	Envolvimento dos receptores α -2-adrenérgicos na gastroproteção do AEL.....	44
6 -	DISCUSSÃO.....	48
7-	CONCLUSÃO.....	54
	REFERÊNCIAS.....	55

1- INTRODUÇÃO

A despeito do progresso no diagnóstico e tratamento, as úlceras pépticas continuam sendo uma causa comum de hospitalizações e cirurgias (SOSTRES *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2010). Embora dados da literatura mostrem uma gradativa diminuição na prevalência dessa condição, principalmente devido à introdução dos Inibidores de Bomba de Prótons no final da década de 1980, estes medicamentos ainda possuem custo financeiro elevado para a maioria da população. Diante deste cenário, é notório o crescente interesse no desenvolvimento de práticas complementares de atenção à saúde que possam abranger esta parcela da população.

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos para o tratamento de enfermidades. O semi-árido nordestino é considerado uma área com características sociais, econômicas e ecológicas bem particulares, uma vez que o sertanejo sobrevive, muitas vezes, à custa dos recursos bióticos para suprir suas necessidades, inclusive de medicamentos.

Em virtude da expansão mundial do uso da fitoterapia, um mercado promissor vem surgindo e, com ele, a preocupação com a segurança e eficácia dos produtos naturais, uma vez que na maioria das vezes o uso popular é baseado somente na tradição ou em suposições pueris.

O *Abelmoschus esculentus*, também conhecido como quiabo, é uma hortaliça pertencente à família Malvaceae, é originário da África e desenvolve-se melhor nas regiões tropicais, subtropicais e nas áreas mais quentes nas zonas temperadas, desenvolvendo-se bem em temperaturas entre 18 e 35°C (CASTRO, GODOY e CARDOSO, 2008).

Os frutos imaturos, que contêm vitaminas A, B1 e C, cálcio e ferro (BRAGA, 1978), são consumidos no Brasil, e cultivados nas regiões Nordeste e Sudeste. Ainda, suas sementes maduras são ricas em óleo e proteína (SOARES *et al.*, 2012). Essa planta apresenta algumas características desejáveis como ciclo rápido, custo de produção economicamente viável, resistência a pragas e alto valor alimentício e nutritivo (MOTA *et al.*, 2000).

Além do proveito na alimentação, *Abelmoschus esculentus* também é utilizado de forma empírica pela comunidade para tratamento de pneumonia, bronquite,

tuberculose pulmonar e laxante. Corroborando essas indicações, recentemente foi demonstrada a atividade anti-inflamatória e antinociceptiva da lectina de sementes de *A. esculentus* (SOARES *et al.*, 2012). Ainda, a lectina dessa semente não apresentou citotoxicidade frente hemácias do sistema ABO (PANERO *et al.*, 2009). A lectina de sementes de *A. esculentus* (quiabo) promove efeitos antitumorais seletiva sem células de câncer de mama humanos (MONTE *et al.*, 2013).

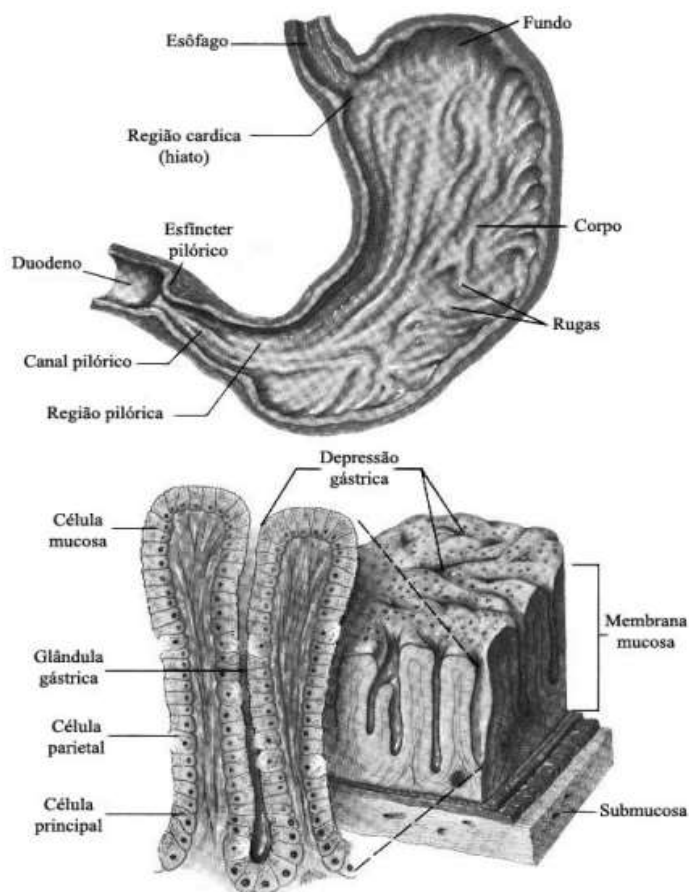
Portanto, este estudo tem como objetivo investigar a ação da lectina de sementes de *A. esculentus* na mucosa gástrica, contribuindo assim para o desenvolvimento de uma abordagem terapêutica complementar, na perspectiva do (1) desenvolvimento de opções terapêuticas que possam melhorar o curso evolutivo destes distúrbios; (2) aumentar as chances de êxito da terapia; e (3) contribuir para uma melhor qualidade de vida dos pacientes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1- Anatomia e fisiologia do estômago

O estômago é uma dilatação do trato digestivo e pode ser dividido em quatro áreas anatômicas sendo a (cárdia, corpo, fundo e antro) e duas áreas funcionais. As características estruturais das regiões do fundo e do corpo são idênticas, por isso, são consideradas apenas três regiões na divisão histológica (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KUMMAR *et al.*, 2010). As porções do estômago são limitadas por dois sistemas de esfíncteres, a saber: o esfíncter esofágiano, (parte superior/ proximal do estômago) e o esfíncter pilórico (parte inferior ou distal) (HOGBEN *et al.*, 1974) (FIGURA 1).

FIGURA 1. Regiões anatômicas do estômago e mucosa gástrica

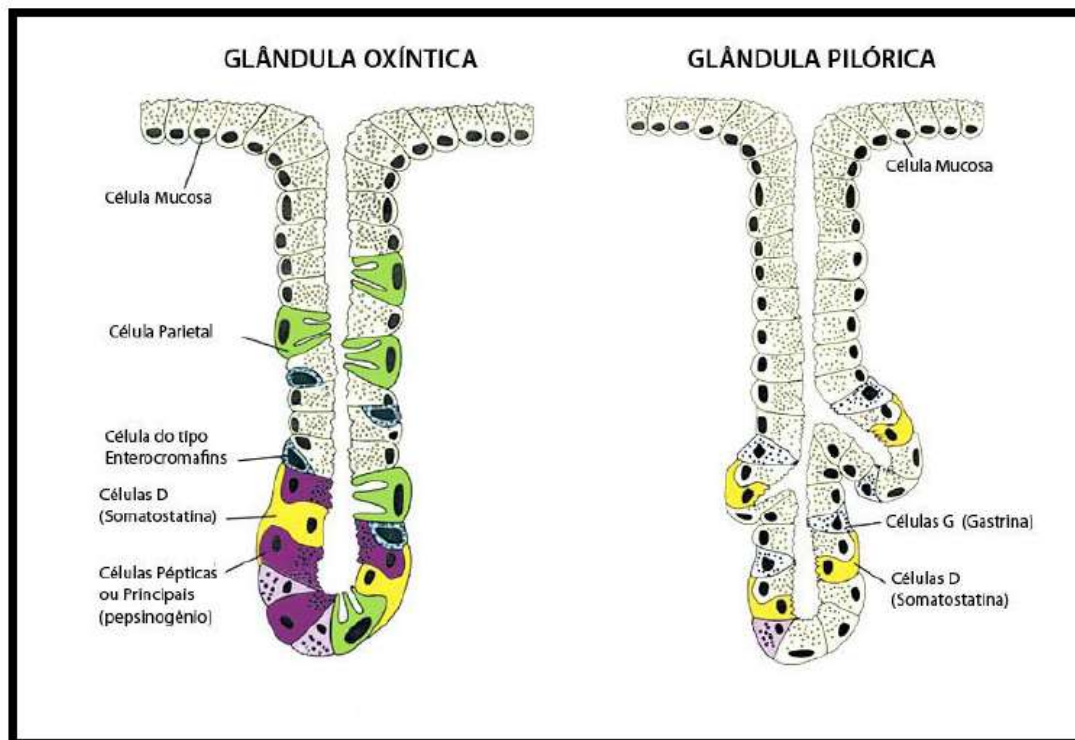


Fonte: Mader (2004).

As duas áreas funcionais incluem: (1) área glandular oxíntica e (2) área glandular pilórica (FIGURA 2). A primeira localiza-se nas regiões de fundo e corpo do

estômago (80% do órgão), é composta por células mucosas que secretam o muco, células parietais que secretam de ácido clorídrico (HCl), células principais ou pépticas (que produzem pepsinogênio), células D que secretam somatostatina e células enterocromafins (ECL) que liberam histamina. A área glandular pilórica, localizada na região antral, é composta pelos mesmos tipos celulares que as glândulas oxínticas (exceto as células principais) e principalmente por células G, produtoras de gastrina, (JASS, 2001; SAMUELSON e HINKLE, 2003; SCHUBERT e PEURA, 2008). Além disso, a superfície estomacal é recoberta por células mucosas superficiais que são especializadas em secretar grandes quantidades de um muco extremamente viscoso e alcalino. Esse muco cobre toda a parede do estômago, chegando a ter mais de um milímetro de espessura, proporcionando uma barreira física de proteção contra as secreções ácidas que são produzidas pelas células parietais, além de contribuir para a lubrificação do transporte do alimento (SCHUBERT e PEURA, 2008).

FIGURA 2. Glândulas gástricas



Fonte: Adaptado: Schubert e Peura (2008).

2.1.1-Inervação do aparelho gastrointestinal

O Trato Gastro Intestinal (TGI) possui um sistema nervoso próprio (rede neural interativa), denominado de Sistema Nervoso Entérico (SNE), cujo objetivo é controlar as ações contrátil e secretora das camadas musculares lisas e glândulas exócrinas do TGI por meio de inervação intrínseca (SNE) e extrínseca (sistema nervoso autônomo), hormônios e substâncias parácrinas. Estímulos extrínsecos vagais controlam a secreção do estômago, no entanto o SNE é capaz de realizar esse controle de modo independente (KUTCHAI, 2004; SCHUBERT e PEURA, 2008; CERSOSIMO e BENARROCH, 2008).

A inervação intrínseca é constituída por dois plexos principais, o plexo mioentérico ou plexo de Auerbach (plexo externo situado entre as camadas musculares longitudinal e circular), que inerva as camadas musculares e regula a função motora, ou seja, é responsável pelo controle motor (peristaltismo) (GUYTON e HALL, 1997; RANG *et al.*, 2004), e o plexo submucoso ou plexo de Meissner (plexo interno localizado na submucosa), que inerva a mucosa e regula a absorção e as secreções gastrointestinais, transporte de líquidos e fluxo sanguíneo (SCHUBERT e SHAMBUREK, 1990; PASRICHA, 2006).

Células nervosas de ambos os plexos recebem estímulos do sistema nervoso central. O sistema nervoso extrínseco é formado por fibras simpáticas e parassimpáticas. As fibras simpáticas originam-se nos gânglios pré-vertebrais, que inervam diretamente vasos sanguíneos, músculo liso e algumas células glandulares, onde inibem a secreção de Acetilcolina (ACh). Quanto às fibras parassimpáticas, originam-se no núcleo motor dorsal do vago na medula e no núcleo parassimpático vagal da coluna espinhal, que são, em sua maioria, colinérgicas e excitatórias, embora algumas sejam inibitórias. Essa comunicação neuronal existente permite a realização das funções motoras e secretoras do TGI (GUYTON e HALL, 1997; PASRICHA, 2006).

A maior parte das fibras nervosas extrínsecas inerva o estômago via nervo vago. As fibras vagais *eferentes* são fibras pré-ganglionares parassimpáticas, e o alvo dessas fibras é o gânglio mioentérico, pelo qual o controle central da motilidade e secreção gástrica são regulados (GERSHON, *et al.*, 1994). As fibras vagais *afferentes* são fibras pós-ganglionares simpáticas que possuem extensas projeções para a mucosa gástrica e artérias, e são de particular interesse na proteção da mucosa gástrica (HOLZER, 1998).

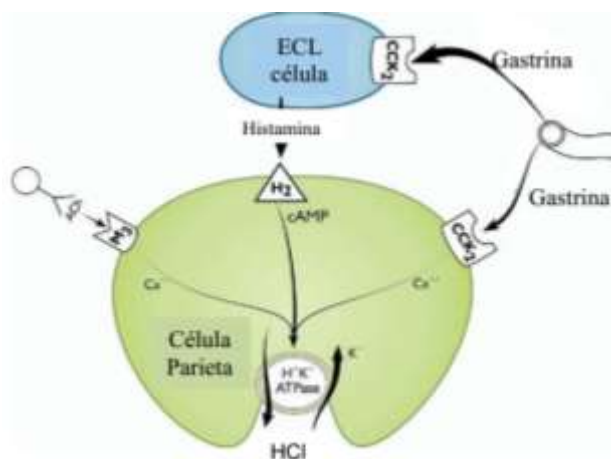
As fibras do parassimpático terminam nos gânglios do plexo mioentérico. As fibras aferentes do vago inervam diretamente a célula parietal e realizam sinapses com as células ganglionares do sistema nervoso entérico (SNE), estimulando a atividade motora e secretora do TGI (LONGHURST *et al.*, 1984).

2.1.2 - Secreção ácida gástrica

O suco gástrico é uma mistura das secreções das células epiteliais superficiais e glândulas gástricas e compreende: ácido clorídrico (HCl), pepsinas, fator intrínseco, muco, bicarbonato, água e sais (BERNE *et al.*, 2004). O ácido gástrico facilita a digestão de proteínas e absorção de ferro, cálcio e vitamina B-12, além de prevenir o desenvolvimento bacteriano e outras infecções entéricas (SCHUBERT e PEURA, 2008). Entretanto, quando os níveis de ácido (e pepsina) sobrepujam os mecanismos de defesa da mucosa, as lesões ocorrem.

A secreção do HCl ocorre mediante estimulação da célula parietal na glândula oxíntica, através da H^+K^+ /adenosina trifosfatase (H^+K^+ ATPase – bomba de prótons) (FUJII *et al.*, 2011). Esse mecanismo envolve elevação dos níveis intracelulares de Ca^{2+} e AMPc, seguida pela ativação de cascatas de proteínas-quinases que disparam a translocação e inserção de bombas H^+/K^+ -ATPase na membrana apical da célula parietal (YAO e FORTE, 2003).

FIGURA 3. Regulação da secreção ácida gástrica. ACh: Acetilcolina; ECL: Células enterocromafins símiles; M3: receptor muscarínico subtipo 3; H2: receptor histaminérgico subtipo 2; CCK2: receptor colecistocinina/gastrina subtipo 2.



Fonte: Adaptado de Schubert e Peura, 2008.

Acetilcolina – ACh (neurotransmissor parassimpático vagal), gastrina (hormônio sintetizado e secretado pela célula G do antro gástrico) e histamina (autacoide sintetizado a partir da histidina, pelas células enterocromafins) estimulam diretamente a secreção do ácido gástrico (FIGURA 3), a ACh liberada pelos neurônios pós-ganglionares do nervo vago estimula a secreção ácida por ação direta na célula parietal através da ativação dos receptores muscarínicos do tipo M₃. Dessa maneira estimula a secreção de histamina e liberação de gastrina, ativando os receptores de colecistocinina tipo 2 (CCK2), localizados na célula parietal, estimulando-as a secretarem H⁺, desencadeando na formação de ácido.

2.2.2.1 - Modulação da secreção ácida

Gastrina

A gastrina é o principal estimulante da secreção ácida durante ingestão de alimento, sendo secretada pelas células G na base das glândulas pilóricas. (SCHUBERT e PEURA, 2008). A principal função da gastrina é estimular a secreção ácida e o crescimento celular na mucosa gástrica. A ACh, o peptídeo liberador de gastrina – GRP (*gastrin-releasing peptide*), serotonina, agonistas beta 2 e 3 adrenérgicos, Ca⁺⁺, aminoácidos aromáticos e etanol estimulam a secreção de gastrina, enquanto que somatostatina, galanina, adenosina e bradicinina a inibem (PRINZ *et al.*, 2003; SCHUBERT, 2009).

A gastrina se liga a receptores CCK-2 presentes nas células ECL, promovendo um aumento de Ca⁺⁺ intracelular, que resulta em liberação de histamina. Assim, a histamina, atuando em receptores H₂ nas células parietais, irá induzir a secreção ácida (POMMIER *et al.*, 2003; MÖSSNER e CACA, 2005).

Histamina

A histamina é produzida no estômago pelas células ECL que residem na parte basal das glândulas oxínticas, estocada em vesículas secretórias e liberada por estimulação de determinados secretagogos, gastrina e peptídeo ativador de adenilato ciclase da pituitária - PAACP. Os receptores de histamina são classificados em quatro grandes subclasses: H₁, H₂, H₃ e H₄ (SCHUBERT e PEURA, 2008).

A histamina liberada estimula a secreção do ácido gástrico diretamente pela ligação em receptores H₂ na célula parietal, desencadeando uma cascata de eventos intracelulares, pois estes receptores são acoplados a proteína G. Quando ativados, estimulam a adenilato ciclase com geração de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPC), estimulando a bomba de prótons na célula parietal, resultando na secreção de ácido (JAIN *et al.*, 2007).

A histamina também induz a secreção de forma indireta pela ligação a receptores H₃ acoplados à inibição da somatostatina (SCHUBERT e PEURA, 2008; KAZUMORI *et al.*, 2004).

Acetilcolina

A ACh, liberada pelas terminações do sistema nervoso entérico, está envolvida no controle de praticamente todas as funções do Trato Gastrointestinal, de modo que a estimulação colinérgica causa um aumento da secreção ácida gástrica (TOBIN *et al.*, 2009). A ACh estimula diretamente a secreção de ácido através da ligação a receptores muscarínicos tipo M₃, o que ocasiona a elevação dos níveis intracelulares de Ca⁺⁺ (YAO e FORTE, 2003). A ACh também pode aumentar a secreção ácida gástrica de maneira indireta, através da estimulação de células ECL secretoras de histamina. A ativação de receptores muscarínicos nas células G produz estimulação da produção de gastrina, e nas células D promove inibição da secreção de somatostatina.

2.1.2.2 - Mecanismos de inibição da secreção ácida gástrica

Somatostatina

A somatostatina é o principal inibidor da secreção ácida, atuando diretamente nas células D da mucosa oxíntica e pilórica (TOBIN *et al.*, 2009; BITZIOU e PATEL, 2012). No estômago, as células produtoras de somatostatina estão intimamente ligadas a células alvo para somatostatina, como as células parietais, ECL e células G, seja por via direta ou indiretamente pela circulação (SCHUBERT e PEURA, 2008). A ação da somatostatina é mediada via cinco subtipos de receptores acoplados a proteína G, SSTR1 a SSTR5.

Prostaglandinas

As prostaglandinas (PGs) exercem efeito inibitório da secreção ácida por ação direta nas células parietais ou indiretamente pela inibição de gastrina. Nas células parietais, as PG inibem a secreção ácida por inibir a secreção de histamina (ATAY *et al.*, 2000). As PGs, principalmente PGE₂, inibem a secreção ácida através da ativação dos receptores EP₃, os quais estão acoplados a proteína G (HOOGERWERF e PASRICHA, 2001; GANOG, 2003).

2.2 - Agressão e proteção da mucosa gástrica

A mucosa gástrica é continuamente exposta a um amplo espectro de fatores que podem contribuir para a gênese das úlceras pépticas, incluindo: variações de temperatura, pH, osmolaridade, substâncias endógenas (pepsina, bile e ácido clorídrico), irritantes ingeridos como por exemplo, álcool, produtos bacterianos, infecção da mucosa gástrica pelo *Helicobacter pylori*, anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), inibição de síntese local de prostaglandinas E₂ e I₂ e óxido nítrico (SACHS *et al.*, 1995; ABDEL-SALAM *et al.*, 2001; ADEYEMI *et al.*, 2005; LAINE *et al.*, 2008; SMOLKA e BACKERT, 2012)

Em contrapartida a estes estímulos nocivos, a mucosa gastrointestinal apresenta fatores de proteção (DONG e KAUNITZ, 2006). Há mecanismos locais e neuro-hormonais, ambos atuando de forma dinâmica, controlando o fluxo sanguíneo da mucosa, o aporte de leucócitos, a taxa de descamação do epitélio, a secreção de muco, HCl, bicarbonato e o sistema imunológico. Em condições que possam comprometer a ação destes mecanismos, a mucosa gástrica passa a ficar mais susceptível aos danos induzidos por fatores irritantes luminiais e/ou sistêmicos (TULASSAY e HERSZÉNYI, 2010).

Secreção do muco alcalino, microcirculação da mucosa e motilidade agem como fatores funcionais, enquanto que prostaglandinas e óxido nítrico agem como fatores humorais (TSUKIMI e OKABE, 2001; REPETTO e LLESUY, 2002).

O muco combinado ao bicarbonato secretado pelas células epiteliais superficiais possui um papel-chave na proteção gástrica, cuja efetividade está regulada pela síntese de PGs (FIORUCCI *et al.*, 2001). Esta combinação/barreira é formada pelo

gel mucoso, bicarbonato e fosfolípidios surfactantes, os quais cobrem a superfície da mucosa. Esta barreira retém íons bicarbonato secretados e, assim, mantém o pH aproximadamente neutro na superfície das células epiteliais formando um microambiente estável mesmo frente ao ácido gástrico e adequado à cicatrização em sítios onde a superfície foi previamente danificada, acelerando o reparo (ALLEN e FLEMSTRO, 2005).

A produção de muco é estimulada por hormônios como gastrina e secretina, bem como por prostaglandina E2 (PGE2) e agentes colinérgicos (WALLACE, 2001; PHILLIPSON *et al.*, 2002; TANI *et al.*, 2002; LAINE *et al.*, 2008).

Substâncias ulcerogênicas como os AINEs e sais biliares causam a dissipação do muco, levando à lesão gástrica. Ainda, bactérias do tipo *Helicobacter pylori* podem liberar fosfolipases e íons amônio, reduzindo a efetividade da lâmina hidrofóbica do estômago.

O rompimento da barreira muco-bicarbonato estimula outros mecanismos protetores, incluindo a neutralização intracelular do ácido gástrico, reparo do epitélio e manutenção e distribuição do influxo sanguíneo entram em ação (TULASSAY e HERSZÉNYI, 2010).

Um importante papel na proteção contra danos à barreira de muco do estômago é feita pela microcirculação gástrica (KWIECIEN *et al.*, 2002), cuja função é distribuir oxigênio, nutrientes e hormônios aos tecidos. Participa da regulação da saída do ácido, produção de muco, secreção de bicarbonato, remoção dos produtos, retrodifusão de íons hidrogênio, e remoção de substâncias tóxicas da mucosa.

As PGs têm efeito na motilidade, secreção e citoproteção do TGI. As PGE2 e PGI2 previnem a formação da úlcera por um mecanismo adicional à inibição da secreção gástrica, chamado de citoproteção gástrica (TAKEUCHI *et al.*, 2001).

A PGE2 em baixas concentrações inibe a secreção ácida através da interação com receptores EP3, enquanto que em concentrações maiores estimulam a secreção ácida através da interação com receptores EP4. Ambos os receptores estão presentes nas células parietais e nas células principais da mucosa gástrica (DING *et al.*, 1997).

A PGI₂ e o NO mantêm a viabilidade das células endoteliais e previnem a aderência de plaquetas e leucócitos às paredes do endotélio vascular que poderia comprometer a microcirculação gástrica, causando obstrução da microvasculatura (GUTH, 1992; LAINE *et al.*, 2008).

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

2.3 - Úlcera gástrica

Úlcera é uma lesão profunda na mucosa, onde tanto os componentes do tecido epitelial e conjuntivo, como células do músculo liso, vasos e nervos podem ser destruídos (MILANI e CALABRÒ, 2001).

Epidemiologicamente a gastrite é uma das desordens do TGI superior que mais acomete a humanidade, o que a torna um importante problema de saúde pública. Diversos estudos sugerem que a sua etiopatogenia parece estar relacionada com o desequilíbrio entre os mecanismos de defesa (muco, bicarbonato, PGs e NO) e os agentes agressores (ácido gástrico e pepsina) da mucosa (SACHS *et al.*, 1995; ABDEL-SALAM *et al.*, 2001; ADEYEMI *et al.*, 2005; LAINE *et al.*, 2008; SMOLKA e BACKERT, 2012).

Além disso, outros fatores também podem alterar a proteção da mucosa gástrica como: estresse, deficiência alimentar, tabagismo, infecção bacteriana (*Helicobacter pylori*), abuso de álcool e uso prolongado de AINES (CARVALHO, 2000; BELAICHE *et al.*, 2002; JAHOVIC, *et al.*, 2007). No entanto, em muitos casos a gastrite parece ser o resultado da combinação de vários desses fatores (SMITH, 1989; WALLACE, 2008).

Com relação ao uso de drogas lícitas, como álcool etílico induz liberação de endotelinas, degranulação de mastócitos, inibição da síntese de PGs e diminuição da produção de muco, induz distúrbios na microcirculação e isquemia, resultando na produção de espécies reativas do oxigênio (PAN *et al.*, 2008; SAMONINA *et al.*, 2004).

Com relação ao uso de AINEs por períodos prolongados, o efeito sistêmico mais importante em termos de induzir ulceração gástrica refere-se à habilidade dessas drogas de suprimir a síntese de PGs (BELAICHE *et al.*, 2002; WALLACE, 2008).

Portanto, considerando seu aspecto multifatorial, o tratamento da gastrite ainda representa um desafio na clínica médica (SONNENBERG e EVERHART, 1996). Felizmente, ensaios pré-clínicos utilizando modelos de úlcera gástrica em pequenos roedores têm contribuído sobremaneira para a elucidação dos eventos celulares e moleculares que formam a base da etiopatogenia das úlceras (SIEGMUNDO *et al.*, 2002).

2.4 - Importantes sistemas e vias de regulação endógena na mucosa gástrica

2.4.1- Receptores opioides

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

Os opioides atuam sobre receptores específicos acoplados a proteínas G, que podem ser ativados por mediadores endógenos (peptídeos opioides) ou por opioides exógenos, como a morfina. Quatro tipos de receptores diferentes já foram descritos: μ (mu para morfina), κ (kapa para receptor de *ketociclazocine*), δ (delta para deferente) e N (de receptor para o peptídeo nociceptina). A ativação de receptores μ -opioides pré-juncionais inibem a liberação de ACh mediando a atividade contrátil da musculatura lisa do TGI (GELMAN *et al.*, 2010a; GELMAN *et al.*, 2010b). Os receptores opioides atuam em nível central e periférico. Agonistas seletivos de receptores δ e μ -opioides centrais exercem efeito protetor no modelo de úlceras induzidas por etanol, já os agonistas dos receptores κ -opioides (ISHIHARA *et al.*, 2001) estimulam a secreção ácida gástrica via neurônios vagais colinérgicos (WALDHOER, *et al.*, 2004).

A administração de baixas doses de opioides diretamente no SNC promove gastroproteção, o mesmo não acontece quando administrado em doses subcutâneas. A ativação periférica de receptores opioides (μ e δ) está relacionada à maior produção de NO e PGs, no modelo de lesões induzidas pelo etanol, embora o mesmo não ocorra no modelo produzido pela administração de AINES. O efeito gastroprotetor dos opioides é alcançado em doses inferiores às utilizadas para promover analgesia (GYIRES *et al.*, 1997; GYIRES e RÓNAI, 2001; GYIRES *et al.*, 2001).

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

2.4.2- Prostaglandinas

As prostaglandinas (PG) exercem várias funções nas reações inflamatórias (MONCADA *et al.*, 1973). A formação das PG está sob o controle das isoenzimas cicloxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2). As prostaglandinas são sintetizadas a partir do ácido araquidônico (AA) por ação da enzima cicloxigenase (COX). O AA é produzido a partir de fosfolipídios da membrana celular, sob a ação da enzima fosfolipase A2 (PLA2), ativada por estímulos químicos ou mecânicos, sendo convertidos em prostaglandinas no sítio catalítico das COX. A partir da descoberta de que o pré-tratamento com PGs prevenia os danos causados por agentes necrotizantes na mucosa gástrica, esta molécula tornou-se importante para a compreensão dos mecanismos de proteção da mucosa e de cicatrização de úlceras (BRZOSOWSKI *et al.*, 2005).

No início da década de 1990 foi demonstrada a existência de duas isoformas da COX: COX-1 e COX-2. A isoforma anteriormente considerada constitutiva, COX-1, é expressa levando à formação de pequenas quantidades de PG (SMITH *et al.*, 1994) envolvidas na regulação de funções fisiológicas como homeostasia renal, função plaquetária e citoproteção da mucosa gástrica.

A segunda isoforma, COX-2, seria expressa em resposta a estímulos inflamatórios (IL-1 e TNF) e mitogênicos em diferentes células (neutrófilos, monócitos, macrófagos e células endoteliais), contribuindo para produção de grandes quantidades de PG nos sítios inflamatórios (VANE e BOTING, 1995). A partir dessa observação foi então sugerido que a inibição da COX-2 seria responsável pelos efeitos terapêuticos dos AINES, enquanto que a inibição da COX-1 seria responsável pela toxicidade desses agentes. Atualmente existem 3 isoformas da COX, a saber: COX-1, COX-2 e COX-3, sendo esta última um *splincing* variante da COX-1. As COX tipo 1 e tipo 2 apresentam

60% de homologia, sendo a diferença entre elas ocasionada pelo tamanho da molécula de RNA mensageira transcrita da COX-2 ser maior (4,5 Kb) que a da COX-1 (2,8 Kb) (BOTTING, 2006).

As PGs atuam em receptores (EP₁, EP₂, EP₃ e EP₄) acoplados a proteínas G (SAMUELSSON *et al.*, 1978). Os subtipos EP₃ e EP₄ estão presentes em praticamente todos os tecidos, enquanto que a distribuição dos receptores EP₁ e EP₂ está restrita a rins, útero, SNC e estômago (USHIKUBI *et al.*, 2000).

No estômago, as PGs exercem atividades gastroprotetoras atuando de maneira diversa, podendo aumentar o fluxo sanguíneo gástrico, a secreção do muco, secreção do bicarbonato e reduz a secreção de ácido clorídrico (PESKAR *et al.*, 2002; AIHARA *et al.*, 2007). A inibição da síntese gastrintestinal de prostaglandinas pode causar diminuição da secreção de muco, bicarbonato e do fluxo sanguíneo da mucosa, bem como aumento do número de leucócitos aderentes ao endotélio vascular da microcirculação gastrintestinal. Conseqüentemente haverá dificuldade no reparo de danos epiteliais.

No TGI as PGs exercem algumas funções em comum com o NO de forma que a supressão de um desses mediadores pode ser compensada pelo estímulo da produção do outro. Entre estas funções estão: estimulação da secreção de muco, promoção de cicatrização e manutenção do fluxo sanguíneo (WALLACE, 2008). As PGs também exercem efeito protetor de forma indireta pela inibição da secreção de histamina a partir das células ECL, diminuindo potencialmente a estimulação da secreção ácida (SCHUBERT e PEURA, 2008).

Os AINES podem aumentar a susceptibilidade da mucosa a lesões, por reduzirem a produção de PGs (FIORUCCI *et al.*, 2001). Entretanto, sabe-se que a prevenção da adesão leucocitária induzida por AINES resulta em quase completa proteção contra o dano gástrico associado a essas drogas em modelos animais.

2.4.3 - Óxido Nítrico (NO)

O NO é um mediador gasoso endógeno, moderadamente solúvel em água e sua meia-vida varia de 3 a 60 segundos. É produzido a partir da atividade de enzimas intracelulares específicas que exerce papel regulatório importante, principalmente no sistema cardiovascular e na inflamação (SZABO, 2010). Pode ser citotóxico, vasodilatador e exercer ação pró ou anti-inflamatória, dependendo do tipo celular e do

estímulo. O NO é produzido a partir do aminoácido arginina, na presença de oxigênio molecular e a oxidação da L-arginina à L-citrulina e NO é catalisada por uma família de três isoformas de enzimas denominadas óxido nítrico sintases (NOS) (LANAS, 2008).

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

O NO apresenta importantes funções no TGI, incluindo o controle do fluxo sanguíneo da mucosa, manutenção da sua integridade e do tônus vascular. O NO também medeia o relaxamento não adrenérgico não colinérgico da musculatura longitudinal e circular do esfíncter esofágico, estômago, duodeno, intestino delgado e esfíncter anal interno. Há dois mecanismos de ação através do qual o NO regula essa musculatura lisa. Um deles ocorre via produção de GMPc. Independente de GMPc, se dá via oxidação de proteínas e lipídios no tecido gástrico. Dessa forma, o NO atua tanto contribuindo para a manutenção da homeostase do TGI, como também, em caso de lesões na parede do TGI (CERQUEIRA e YOSHIDA, 2002; LANAS, 2008).

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

Compostos sintéticos inibidores da produção de NO incluem: L-NMMA - *N^G-Methyl-L-arginine*, aminoguanidina e L-NAME - *N_ω-Nitro-L-arginine methyl ester*. Em virtude de sua atividade inibitória da produção de NO, os análogos da L-arginina, L-NMMA ou o L-NAME aumentam a adesão de leucócitos polimorfonucleares. Tais agentes também revertem os demais efeitos do NO (KUBES *et al.*, 1991; GRANIK e GRIGOR'EV, 2002).

Tendo em vista que o aumento do $[Ca^{2+}]$ citosólico é um componente central na secreção ácida gástrica, a diminuição da $[Ca^{2+}]$ pelo NO causa diminuição da secreção ácida. O Ca^{2+} facilita a reciclagem de membranas pela regulação do transporte e acoplamento das túbulo-vesículas com a membrana apical, sendo um elemento vital

na secreção, pois sua diminuição impede a translocação das H^+/K^+ ATPases para a membrana apical. Outro possível efeito seria pelo aumento da velocidade de degradação do AMPc pela fosfodiesterase celular em virtude da ativação alostérica que o GMPc exerce sobre esta enzima, que catalisa a degradação do AMPc (BERG *et al.*, 2005). O NO também inibe a secreção ácida gástrica estimulada por histamina, sendo produzido a partir de e agindo sobre células ECL. Estas atividades sugerem um papel de inibidor parácrino fisiológico do NO na secreção ácida (BERG *et al.*, 2004).

2.4.4- Receptores α -2 adrenérgicos

Os receptores adrenérgicos ou adrenoceptores pertencem à família de receptores ligados à proteína G, e são alvos das catecolaminas. No TGI os receptores α -2-adrenérgicos participam do controle de diversas funções como: inibição da secreção ácida, motilidade e trânsito gastrintestinal (YOKOTANI *et al.*, 1993).

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

Os principais grupos de receptores adrenérgicos (α e β) são distribuídos em diferentes níveis do TGI. O mesmo ocorre com a localização dos subtipos de receptores α -adrenérgicos (α -1 e α -2). Os receptores α 1-adrenérgicos localizam-se na membrana pós-sináptica da célula muscular lisa e, em menor proporção, em neurônios intrínsecos, enquanto que os receptores α -2-adrenérgicos estão localizados tanto pré- quanto pós-sinápticamente. Todavia, os α -2-adrenoceptores pré-sinápticos funcionam tanto como autorreceptores, inibindo a liberação de norepinefrina de terminações nervosas adrenérgicas, ou como heteroceptores, inibindo a liberação de outros neurotransmissores, especialmente ACh (DI PONTI *et al.*, 1996).

A ativação de receptores α_2 -adrenérgicos resulta na diminuição lesões na mucosa gástrica em modelos de úlcera tanto dependentes, quanto independentes de ácido. Diferentes subtipos de receptores α_2 -adrenérgicos estão envolvidos no mecanismo de gastroproteção (subtipo α_2B), e na modulação motora (subtipo α_2A), ou seja, inibindo o esvaziamento e a motilidade do estômago (FÜLOP *et al.*, 2005).

O efeito de agonistas α_2 -adrenoceptores na secreção ácida gástrica tem sido estudado através do uso de agonistas como clonidina e outras drogas (guanfacina, xilasina, guanabens, detomidine e medetomidine). Pequenas doses de clonidina são capazes de inibir a secreção ácida gástrica estimulada por atividade vagal. Tal inibição é observada da mesma forma na secreção basal, sendo interpretada como resultado da ação da clonidina em α_2 -adrenoceptores localizados tanto periférica como centralmente. Os agonistas α_2 -adrenérgicos também reduz secreção basal de pepsina de forma dose-dependente. A simples diminuição do efluxo de acetilcolina das terminações nervosas pode explicar os resultados (TAZI-SAAD *et al.*, 1992).

2.4.4.1- Ioimbina

A ioimbina é um alcaloide encontrado naturalmente nas espécies *Corynanthe Yohimbe* (Yohimbe) e *Pausinystalia johimbe* (Rubiaceae), que atua como antagonista seletivo dos receptores α_2 -adrenérgicos, sendo utilizado há mais de século como estimulante sexual. A ioimbina é utilizada como ferramenta farmacológica em estudos que envolvem a elucidação da função de α_2 -adrenoceptores (ANDERSSON, 2001; AL-MAJED *et al.*, 2006).

2.4.4.2- Clonidina

A clonidina é um agonista adrenérgico de ação direta no receptor adrenérgico α_2 , de ação central e periférica, prescrito historicamente como agente anti-hipertensivo, com efeito sedativo bradicárdico e descongestionante.

Estudos desde a década de 1980 mostram o efeito gastroprotetor da clonidina, o qual age sobre a secreção ácida, embora o mecanismo central ainda esteja objeto de estudos (CHENG *et al.*, 1981; BLANDIZZI *et al.*, 1995).

A descoberta da ação protetora gástrica da clonidina e a reversão do seu efeito pela ioimbina, bloqueador α -2 pré-sináptico, demonstrou a atividade de adrenoceptores α -2 nos mecanismos de proteção gástrica (GYIRES *et al.*, 2000).

anto adrenoceptores α -2 centrais quanto periféricos estão envolvidos no efeito gastroprotetor da clonidina. Os receptores α -2 periféricos estão localizados nos gânglios parassimpáticos intramurais, e sua estimulação diminui a descarga de acetilcolina mediada pelo vago, diminuindo conseqüentemente a secreção ácida gástrica. A ativação de α -2 adrenoceptores no sistema nervoso central (SNC) inibe a secreção ácida gástrica, em um efeito claramente supra espinhal (GYIRES *et al.*, 2000).

2.5 - Lesão gástrica induzida por etanol

Uma maneira eficaz de se estudar a fisiopatologia de uma doença é através do desenvolvimento de modelos animais que reproduzam as principais manifestações observadas em humanos com essa doença. Neste sentido, o modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos contribui para a investigação de ferramentas farmacológicas que podem representar uma nova opção terapêutica para a úlcera gástrica.

Esse modelo pode ser reproduzido por meio de gavagem (0,2 a 2,0 mL de etanol) em diferentes concentrações (50 a 100%). Passado um período de 30 minutos após a administração do etanol em ratos ou camundongos, é possível encontrar erosões hemorrágicas e úlceras em um percentual que varia entre 10 e 40% da porção glandular do estômago, dependendo da quantidade de etanol administrada. Há estudos que mostram que as lesões ocorrem entre o primeiro e o terceiro minutos após a gavagem (GLAVIN e SZABO, 1992). Estas lesões aparecem na forma de eritema e erosões superficiais, com aspecto friável e a hemorragia pode ser observada microscopicamente (LIEBER, 1997).

O álcool representa um dos principais agressores da mucosa gástrica humana, afetando a estrutura e função de vários elementos do TGI, além de causar efeitos no sistema nervoso central. A administração de etanol está associada com a alteração da secreção ácida, variando de acordo com a espécie e as concentrações utilizadas. Em seres humanos, bebidas com baixo teor de etanol (cerveja e vinho) provocam grande estímulo de secreção ácida gástrica e a liberação de gastrina.

O mecanismo de ação ulcerosa do etanol na mucosa gástrica parece ser tanto local quanto sistêmica, afetando a liberação de hormônios e a regulação das funções nervosas envolvidas na secreção ácida. A exposição prolongada ao etanol promove distúrbios da microcirculação, comprometendo a estrutura da mucosa, uma vez que inibe a absorção de nutrientes na parede intestinal e aumenta a absorção de toxinas (BODE e BODE, 1997).

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

2.6 - Considerações Gerais sobre Lectinas

Lectinas são proteínas ubíquas (SHARON e LIS, 2003) encontradas nos seres unicelulares (YAMAGUCHI *et al.*, 1998), animais pluricelulares (CHEN *et al.*, 1999; YE e NG, 2000) e vegetais (CAVALCANTI *et al.*, 1990; COELHO e SILVA, 2000) que possuem habilidade de se ligarem reversivelmente e seletivamente a carboidratos (LIS e SHARON, 1998). As lectinas representam um grupo estruturalmente heterogêneo de proteínas, de origem não imune, que apresentam propriedades em comum de se unir a carboidratos com alta especificidade (CAVADA *et al.*, 2001).

O termo “lectinologia”, primeiramente referido por Potav (1968), ainda hoje bastante aceito, enfatiza a existência de lectinas como precursoras de uma nova e promissora ferramenta biotecnológica de vasto potencial e aplicabilidade.

Em 1954, o termo lectina, do latim *legere* (escolher, selecionar), foi proposto por Boyd e Sharpleigh, enfatizando a propriedade de algumas proteínas de aglutinarem seletivamente distintos tipos celulares (VAN DAMME *et al.*, 1988; ZATTA e CUMMINGS, 1992). Além disso, as lectinas podem se ligar a componente da membrana das células sanguíneas, ocasionando aglutinação, o que constitui o principal atributo para a sua detecção, purificação e caracterização (LIS e SHARON, 1998).

O termo lectina foi redefinido com base em critérios funcionais e estruturais, sendo hoje empregado para designar todas as proteínas que possuem pelo menos um domínio não catalítico que se liga reversivelmente e especificamente a mono ou oligossacarídeos (NEUMANS e VANDAMME, 1999).

De acordo com a estrutura, as lectinas foram subdivididas em quatro classes distintas: merolectinas, hololectinas, quimerolectinas e superlectinas (PEUMANS e VAN DAMME, 1995):

- A) **Merolectinas:** lectinas que possuem um único domínio ligante a carboidratos, portanto não aglutinam hemácias;
- B) **Hololectinas:** possuem dois ou mais domínios ligantes a carboidratos, a maior parte das lectinas pertence a esse grupo, pois se comportam como hemaglutininas;
- C) **Quimerolectinas:** caracterizam-se por uma fusão de proteínas que possuem pelo menos um domínio ligante a carboidrato ou outro domínio com atividade catalítica;
- D) **Superlectinas:** São lectinas que possuem 2 ou mais domínios ligantes a carboidratos, sendo esses domínios têm especificidades para açúcares diferentes.

Vale ressaltar que a maioria dessas lectinas é encontrada nas plantas e animais superiores. As lectinas nos animais e micro-organismos podem servir na comunicação celular, desenvolvimento, defesa, metástase tumoral e inflamação (CAVADA *et al.*, 2001, MONTE *et al.* 2013). Já nas plantas servem como armazenamento ou transporte de carboidratos em sementes, inibição de crescimento em fungo (SHARON e LIZ, 2003) ou atividade inseticida (TRIGUEIROS *et al.*, 2003).

2.6.1- Lectinas vegetais

Lectinas vegetais vêm sendo amplamente estudadas quanto a atividades antifúngica (YAN *et al.*, 2005), bactericida, anti-viral, ação anti-inflamatória (ASSREUY *et al.*, 1999), pró-inflamatória, antinociceptiva e antitumoral (ELSASSER–BEILE *et al.*, 2001; DE MEJÍA e PRISECARU, 2005).

As plantas constituem uma rica fonte de lectinas e sua estocagem orgânica ocorre em folhas, frutos, raízes, caules, tubérculos, bulbos, rizomas ou cascas (RUDIGER, 1998) e predominantemente em sementes de muitas plantas (BOLINI e CHISPEELS, 1978). Em virtude desse achado, a maioria das lectinas tem sido

purificadas e caracterizadas a partir de sementes de leguminosas, representando cerca de 10% do conteúdo de proteína total. A maioria das lectinas nas sementes de leguminosas está localizada nos cotilédones que armazenam nutrientes e são usados na germinação.

Várias evidências indicam que as lectinas desempenham um papel no mecanismo de defesa na planta, protegendo-as de micro-organismos fitopatogênicos como bactérias e fungos, e até mesmo de animais predadores (PEUMANS e VAN DAMME, 1995).

Levando em consideração suas sequências, informações estruturais e clonagem de genes, foi possível subdividir as lectinas em sete famílias (MURDOCK e SHADE, 2002):

1. Lectinas de leguminosas;
2. Lectinas de curcubitáceas;
3. Lectinas ligadoras de manose em monocotiledôneas;
4. Lectinas ligadoras de quitina;
5. Lectinas semelhante à Jacalina;
6. Lectina semelhantes à amarantina;
7. Proteínas inovadoras de ribossomos (RIP'S) do tipo 2.

2.6.2 - Aplicações e atividades biológicas das lectinas vegetais

As funções fisiológicas das lectinas não estão claramente definidas. Porém a sua capacidade de se ligar especificamente a carboidratos ou substâncias que os contêm, proporcionando um imenso campo de aplicação biológica em diversas áreas, como na biotecnologia, agricultura, bioquímica, biomedicina, dentre outras, tornando-se úteis em diagnósticos de doenças, tipagem sanguínea e identificação de cepas de micro-organismos, essas têm sido alvo de pesquisas no mundo inteiro (DANGUY *et al.*, 1998; GABOR *et al.*, 2001;). Brando-Lima *et al.*, 2005, mostra que as lectinas possuem tanto propriedades inflamatória bem como anti-inflamatória, imunomoduladora ou imunoestimulante. Uma vez que as interações mediadas pela lectina estão envolvidas em muitos processos patológicos, pode ser potencialmente úteis como ferramentas ou moduladores terapêuticos estes processos.

Estudos realizados com as lectinas de sementes de *Dioclea violácea* e de *D. grandiflora* demonstram a capacidade de causar apoptose de células T e inflamação em

ratos (BARBOSA *et al.*, 2001), atividade analgésica e efeitos insulo-miméticos (CAVADA *et al.*, 2001). Esse é um dos exemplos que podem citar da atuação das lectinas.

2.7- *Abelmoschus esculentus*

Abelmoschus esculentus L. (popularmente conhecido como quiabo) (FIGURA 4) é uma dicotiledônea anual, que se situa entre as hortaliças folhosas de alto valor alimentício, com ciclo vegetativo rápido, fácil cultivo, resistência a pragas e alta rentabilidade (COSTA *et al.*, 1981), pertencente a família Malvaceae, originário da Etiópia – África. *A. esculentus* L encontra no Brasil condições excelentes para o seu cultivo, principalmente no que diz respeito ao clima, sendo cultivado nas regiões Nordeste e Sudeste (SOARES, 2010; PENDRE *et al.*, 2011). Desenvolve-se melhor nas regiões tropicais, subtropicais e nas zonas temperadas, desenvolvendo-se bem em temperaturas entre 18 e 35°C (CASTRO; GODOY e CARDOSO, 2007).

O quiabeiro possui a seguinte classificação filogenética: (1) Reino: *Plantae*; (2) Divisão: *Magnoliophyta*; (3) Classe: *Magnoliopsidia*; (4) Ordem: *Malvales*; (5) Família: *Malvaceae*; (6) Gênero: *Abelmoschus*; (7) Espécie: *Abelmoschus esculentus* (BAZÁN, 2006). Conhecido popularmente com os seguintes nomes: Kacang Bendi, qui kui, Okra, okura, Okro, Ochro, Quiabo, Okoro, Gumbo, Quingombo, Bamieh, Bamya, Quingumbo, Bamia, Ladies Fingers (dedos de senhora), Bendi, Gombo, Bhindi, Kopi Arab (JAIN *et al.*, 2012).

As folhas de quiabo são conhecidas por serem estreitas, podem ser utilizadas como salada (ZHU; LIU e WANG, 2008). Além disso, são popularmente indicados para tratamento de verminoses, diarreia, inflamação, irritação digestória, bronquite, pneumonias e tuberculose (LENGSFELD *et al.*, 2004; BAZÁN, 2006).

Os frutos do quiabo podem ser classificados com relação à forma da secção transversal em angular ou circular (MULLER, 1982; PEDROSA, 1983; MOTA *et al.*, 2000). Os componentes responsáveis pela qualidade nutricional dos produtos são vitaminas, minerais, açúcares solúveis, amido, fibras, hemiceluloses e lignina (KAYS, 1991). Embora o quiabo não seja uma fonte rica de carboidratos, o fruto fresco oferece, à nutrição humana fibras, proteína e vitamina C (ARAPITSAS, 2008), e as sementes são fontes principalmente de proteínas e óleos (GOPALAKRISHNAN *et al.*, 1982; MOTA *et al.*, 2000; OYELADE *et al.*, 2003; DETERS *et al.*, 2005 ; ADELAKUN *et*

al., 2009, SOARES *et al.*, 2012). São utilizados na culinária como espessante, uma vez que estes apresentam alto conteúdo de mucilagem. É benéfico para o sistema digestivo, contribui para o bom funcionamento do intestino, devido ao seu alto teor de polissacarídeos e microemulientes (ADELAKUN *et al.*, 2011).

Além de todos estes nutrientes, o quiabo também é conhecido por conter propriedades medicinais. Na medicina tradicional, tem sido usado para o tratamento de várias desordens, como câncer, infecções bacterianas, hipoglicemia, prisão de ventre, retenção urinária e inflamação (SOARES *et al.*, 2012; MONTE *et al.*, 2013). Outros autores ainda estudam a composição e a bioatividade de sementes de quiabo no combate as células do câncer de colo (BOLIKAL *et al.*, 2011). Ainda, essas sementes são ricas em lectinas, que representam o objeto de estudo do presente trabalho. Estudo mostra atividade anti-ulcerôgena de extrato da mucilagem de sementes de *A. esculentus* (JOSHI *et al.*, 2011).

Portanto, a investigação da possível atividade gastroprotetora da lectina obtida a partir das sementes de *A. esculentus* L. poderá contribuir sobremaneira para o desenvolvimento de uma nova abordagem terapêutica para o tratamento da úlcera gástrica.

FIGURA 4. *Abelmoschus esculentus*.



Fonte: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Abelmoschus_esculentus_01.JPG

3- OBJETIVOS

Geral

Investigar o possível efeito da lectina de *Abelmoschus esculentus* (AEL) em modelo lesão gástrica induzida por etanol e os possíveis mecanismos de ação envolvidos.

Específicos

- Analisar o envolvimento dos receptores opioides no efeito gastroprotetor da lectina de *Abelmoschus esculentus* em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol;
- Investigar o envolvimento dos receptores α_2 -adrenérgicos no efeito gastroprotetor da lectina de *Abelmoschus esculentus* em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol;
- Analisar a participação do óxido nítrico no efeito gastroprotetor da lectina de *Abelmoschus esculentus* em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol;
- Investigar a participação de prostaglandinas da série E (PGE₂) no efeito gastroprotetor da lectina de *Abelmoschus esculentus* em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol.

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Animais

Foram utilizados camundongos *Swiss* machos (25-30 g) provenientes do Bióterio Central do *Campus* do Pici da Universidade Federal do Ceará (UFC).

Os animais foram mantidos a $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, sob um ciclo de claro/escuro de 12/12 h, com água e comida *ad libitum*. Entretanto, 24 horas antes do início dos experimentos, os animais foram mantidos em jejum de sólidos. Todos os esforços foram feitos para minimizar o sofrimento e o número de animais utilizados. Os experimentos foram realizados de acordo com as Diretrizes para Cuidados e Usos de Animais de Laboratório (COBEA/SBCAL) e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal de Pernambuco (processo nº 23076009313/2003-04).

4.2 - Material Vegetal

No presente estudo foram utilizadas sementes de *Abelmoschus esculentus*, popularmente conhecidos como quiabo, coletadas no município de Conde - Paraíba, e transportadas a Universidade Federal da Paraíba para a identificação botânica, a excicata encontra-se depositada no Herbário da UFPB sob nº JPB 41386, e para a purificação da lectina segundo a metodologia desenvolvida por Soares *et al.* (2012) foi realizada no BioGeR (Laboratório de Bioquímica Genética e Radiobiologia). A lectina purificada foi utilizada para investigar o efeito gastroprotetor e o mecanismo de ação em modelo de lesões gástricas induzidas por etanol no laboratório de Farmacologia na Universidade Federal do Ceará, campus de Sobral.

Identificação Botânica

Para Preparo das excicatas, as folhas, galhos e frutos foram tratados, prensados e secos, acondicionados em folhas de papel jornal. A temperatura aplicada para secagem foi de aproximadamente, 38°C , por um período de 48 horas. Em seguida, as excicatas foram enviadas ao Herbário da UFPB, que efetuou a caracterização botânica da espécie com base nas características físicas do material coletado. De acordo com a caracterização botânica, a espécie de Quiabo estudado foi identificado pela Profa.

Dra. Rita Baltazar de Lima, do Departamento de Botânica da UFPB, como pertencente à família *Malvaceae*, cujo nome científico é *Abelmoschus esculentus*, conforme características do material coletado.

Extração da Lectina

A lectina, gentilmente cedida pela Profa. Dra. Tatiane Santi Gadelha, da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), foi obtida a partir das sementes maduras de *Abelmoschus esculentus*, conforme descrito por Soares (2010).

As sementes foram trituradas, formando uma farinha, que foi delipidada com n-hexano. Para a obtenção do extrato proteico a farinha de *Abelmoschus esculentus* foi colocada em contato por 3 horas em solução tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,4, com NaCl 0,15 M. O extrato foi centrifugado a 5.000 rpm a 4°C por 20 minutos, o precipitado foi descartado e o sobrenadante submetido à precipitação por sulfato de amônio, obtendo-se a fração lectínica na faixa de saturação 30-60%. A fração lectínica foi dialisada exaustivamente contra água, e depois liofilizada. Após a liofilização, a lectina presente na fração 30-60% foi isolada por meio de cromatografia de troca iônica em DEAE-Sephacel, equilibrada com fosfato de sódio bibásico 0,025 M, pH 7,4. A coluna foi lavada com o mesmo tampão de equilíbrio para a retirada das proteínas não retidas na fase estacionária da coluna cromatográfica. A eluição da lectina foi feita com gradiente de fosfato de sódio bibásico 0,025 M, pH 7,4, e NaCl 1 M. A eluição foi monitorada por espectrofotômetro em comprimento de onda de 280 nm. A lectina de *Abelmoschus esculentus*, após eluída, foi dialisada contra água, congelada e liofilizada, estando pronta para as análises.

4.3 - Drogas e Reagentes

Todos os reagentes utilizados apresentavam grau de pureza e propriedades analíticas adequadas. Os reagentes utilizados durante o desenvolvimento deste trabalho foram:

- Ranitidina (Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A. - Guarulhos, SP, Brasil);

- Morfina (Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA (Itapira, SP, Brasil);

- Ioimbina da Apsen Farmacêutica (Santo Amaro, SP, Brasil),

- Clonidina, Naloxona, Indometacina, Hidrocloreto de N ω -nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) e o hidrocloreto de L-arginina metil éster (L-Arg) (Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA);

- Etanol e formaldeído obtidos (Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brasil);

- Misoprostol (Biolab Searle, Independência, SP, Brasil);

Todas as drogas foram solubilizadas em solução 0,9% de NaCl estéril (salina).

4.4 - Úlcera gástrica induzida por etanol

A úlcera gástrica foi induzida pela administração de etanol 99,9% (0,2 mL/animal) em camundongos submetidos a jejum de 24 h. Os animais (n = 6/grupo) foram pré-tratados com a lectina de *Abelmoschus esculentus* – AEL (nas concentrações de 0,01; 0,1 ou 1 mg/kg; i.v.), ranitidina (80 mg/kg; p.o.) ou salina (5 mL/kg; i.v.) 30 min ou 60 antes da administração do etanol. Um grupo adicional não-tratado consistiu de camundongos que receberam (i.v.) apenas salina. Os animais foram anestesiados e eutanasiados por tração cervical 30 min após o procedimento lesivo. Os estômagos foram removidos e abertos ao longo da grande curvatura, lavados em solução salina, fixados entre placas de petri e fotografados (Sony Cyber-shot Dsc-h2) em resolução de 72 dpi (2816 × 2112 pixels). Lesões hemorrágicas ou ulcerativas foram medidas e comparadas à área total de cada estômago através do programa de planimetria computadorizada ImageJ® (National Institutes of Health, 9000 Rockville Pike, Bethesda, Maryland, USA).

4.5 - Análise histopatológica

A porção glandular dos estômagos foi fixada em formol tamponado 10% durante 24 h, sendo, depois, embebida em parafina. Secções de 4µm de espessura foram desparafinizadas, coradas em hematoxilina-eosina (H & E) e examinadas em microscópio óptico. Os espécimes foram avaliados por uma patologista (K.M.A.P.) em estudo cego, de acordo com os critérios de Laine *et al.* (2008) que inclui: perda de células epiteliais (escore: 0-3), edema na mucosa (escore: 0-4), hemorragia (escore: 0-4), e presença de células inflamatórias (escore: 0-3).

4.6- Investigação do possível mecanismo de ação de AEL

4.6.1 - Papel do óxido nítrico (NO) na gastroproteção de AEL

Camundongos (6/grupo) receberam AEL (1 mg/kg; i.v.), L-Arg (600mg/kg, i.p.), ou salina (5ml/kg; i.v.). O dano gástrico foi induzido 30min após os tratamentos com AEL ou salina, e a administração de L-Arg. L-NAME (20 mg/kg; i.p.), um inibidor não-específico da óxido nítrico sintase (NOS), foi administrado 15 minutos antes dos tratamentos acima descritos. Os animais foram eutanasiados, sob anestesia, 30 min após administração do etanol, e os estômagos removidos e avaliados conforme descrito no item 4.5.

4.6.2 -Papel das prostaglandinas na gastroproteção de AEL

Camundongos (6/grupo) foram tratados com AEL (1 mg/kg; i.v.), misoprostol (50 µg/kg; p.o.), ou salina (5 ml/kg; i.v.) 30 min antes da indução do dano gástrico. Indometacina (20 mg/kg; p.o.) foi administrada 2 h antes dos tratamentos acima descritos. Após 30 min, os animais foram eutanasiados e tiveram seus estômagos avaliados descrito no item 4.5.

4.6.3 - Envolvimento de receptores opioides na gastroproteção de AEL

Camundongos (6/grupo) foram tratados com AEL (1 mg/kg; i.v.), morfina (5 mg/kg; s.c.), ou salina (5 ml/kg; i.v.) 30 min antes da indução do dano gástrico. A participação de receptores opioides foi avaliada pela administração de naloxona (2 mg/kg; i.p.) 15 min antes dos tratamentos descritos. Após 30 min, os animais foram eutanasiados e tiveram seus estômagos avaliados como descrito no item 4.5.

4.6.4 - Envolvimento dos receptores α 2-adrenérgicos na gastroproteção de AEL

O envolvimento de receptores α -2-adrenérgicos foi avaliado pela administração de ioimbina (2 mg/kg; s.c.) em camundongos (6/grupo) 20 min antes da administração de AEL (1 mg/kg; i.v.), clonidina (0,05 mg/k; p.o.), ou salina (5 mL/kg; i.v.). O dano etanólico foi promovido 1 h após estes tratamentos. Após 30 min, os animais foram eutanasiados e tiveram seus estômagos avaliados como descrito no item 4.5.

4.7 - Análise estatística

Os valores foram expressos como média \pm E.P.M. Para a área ulcerativa/hemorrágica utilizou-se ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações. Para análise histopatológica utilizou o teste de Kruskal–Wallis seguido pelo teste de Dunn para múltiplas comparações. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

FIGURA 5. Efeito da lectina das sementes de *Abelmoschus esculentus* na gastropatia induzida por etanol. AEL foi administrada por via i.v. Após 30 min, etanol absoluto (0,2 mL por animal) foi administrado por gavagem. O grupo controle foi tratado com salina. O dano gástrico foi quantificado após 30 min. Os resultados foram expressos como média ± EPM para cada grupo de 6 camundongos.

^op < 0,05 em relação ao grupo NT, * p < 0,05 em relação ao grupo etanol+salina. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações.

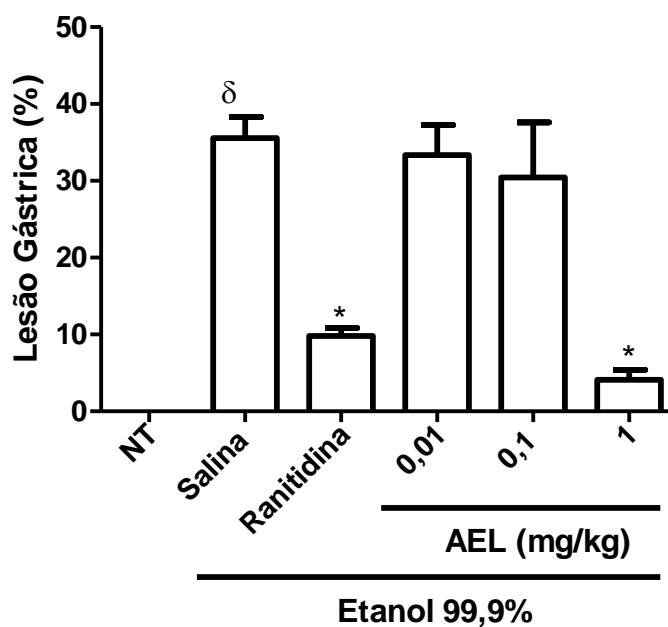
5 - RESULTADOS

5.1 Efeito da lectina das sementes de *Abelmoschus esculentus* na lesão gástrica induzida por etanol

A administração de etanol (0,2 mL/camundongo) produziu estriações hemorrágicas agudas na mucosa gástrica. O tratamento com AEL (1 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a área percentual de lesões gástricas, em comparação ao grupo que recebeu apenas o veículo (salina). Este efeito de AEL não foi diferente estatisticamente ($p > 0,05$) do exercido pela ranitidina (FIGURA 5).

5.2. Estudo histopatológico das mucosas gástricas de animais submetidos à indução de gastropatia por etanol

A TABELA 1 ilustra a capacidade do etanol em induzir perda de células epiteliais e edema, assim como a formação de hemorragia no tecido gástrico. A administração de AEL (1mg/kg) reduziu de forma significativa ($p < 0,05$) a gravidade dos parâmetros avaliados.



5.3. Papel do Óxido Nítrico na gastroproteção de AEL

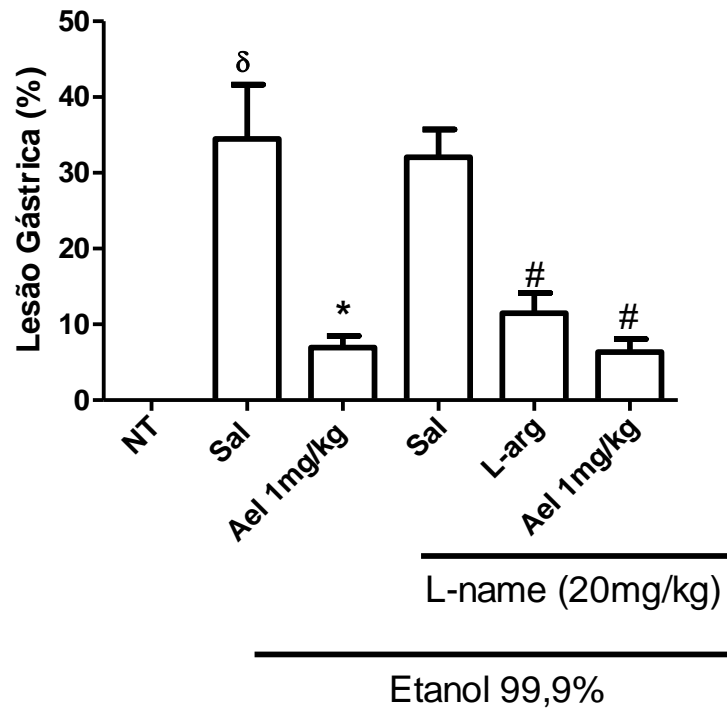
A administração simultânea de etanol e L-NAME (20 mg/kg, i.p.) produziu dano hemorrágico que foi parcialmente revertido pela injeção de L-Arg (600 mg/kg, i.p.). Em ambas as situações, com ou sem pré-tratamento com L-NAME, a AEL (1 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a área lesada ($6,35 \pm 1,698$ versus $32,0 \pm 3,638$ e $6,957 \pm 1,532$ versus $34,49 \pm 7,166$ área lesada %, respectivamente) (FIGURA 6).

TABELA 1. Efeito protetor da lectina *Abelmoschus esculentus* sobre o aspecto microscópico das lesões gástricas induzidas pelo etanol. A tabela ilustra valores de mediana seguidos por escores máximo e mínimo (entre parênteses).

^δp < 0,05 em relação ao grupo NT, * p < 0,05 comparado ao grupo etanol+salina. Teste de Kruskal–Wallis seguido do teste de Dunn.

Grupo experimental (n = 6)	Hemorragia (escore 0 – 4)	Edema (escore 0 – 4)	Perda de células epiteliais (escore 0 – 3)
Salina	0	0	0
Etanol + Salina	2 (0 - 4) ^δ	2 (0 - 3) ^δ	2,5 (1 - 3) ^δ
Etanol + Ranitidina	0 (0 - 1)*	0 (0 - 2)*	1 (0 - 3)*
Etanol + AEL(0,01 mg/kg)	0,5 (0 - 2)	2 (0 - 3)	1 (0 - 2)*
Etanol + AEL(0,1 mg/kg)	0,5 (0 - 2)	2 (0 - 3)	1 (0 - 2)*
Etanol + AEL(1 mg/kg)	1 (0 - 2)*	0,5 (0 - 3)*	1 (0 - 2) *

FIGURA 6. Ausência de envolvimento do Óxido Nítrico na gastroproteção da lectina de AEL em modelo de gastropatia induzida por etanol. Os animais foram tratados (i.v.) com salina (Sal), L-Arg (600 mg/kg) ou AEL (1 mg/kg). Uma segunda série experimental com administração prévia de L-NAME (20 mg/kg) avaliou a participação do NO no efeito da AEL. Os resultados estão expressos como média \pm EPM para cada grupo de seis animais. δ p < 0,05 em relação ao grupo NT. * p < 0,05 em relação ao grupo etanol+salina. # p < 0,05 em relação ao grupo etanol+L-NAME+salina. ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações



5.4 - Papel das prostaglandinas na gastroproteção de AEL

A administração simultânea de etanol e indometacina - INDO (20 mg/kg; p.o.) produziu dano hemorrágico que foi parcialmente revertido pela injeção de misoprostol (50 µg/kg; p.o.). Em ambas as situações, com ou sem pré-tratamento com INDO, AEL (1 mg/kg) reduziu significativamente ($p < 0,05$) a área lesada ($11,52 \pm 2,78$ *versus* $46,88 \pm 5,41$; $7,28 \pm 1,93$ *versus* $54,64 \pm 6,09$ área lesada %, respectivamente) (FIGURA 7).

5.5 - Envolvimento de receptores opioides na gastroproteção de AEL

O tratamento com morfina (5mg/kg; i.p) protegeu significativamente ($p < 0,05$) a mucosa gástrica contra o dano produzido pelo etanol. De forma semelhante, a administração de AEL (1 mg/kg) protegeu de forma significativa ($p < 0,05$) a mucosa gástrica contra o efeito do etanol ($7,2 \pm 1,9$ *versus* $49 \pm 5,4$ área lesada - %). O pré-tratamento com naloxona (2 mg/kg; s.c.) reverteu os efeitos protetores da AEL (1 mg/kg) ($57,6 \pm 7,4$ *versus* $47,6 \pm 7,1$ área lesada %) (FIGURA 8).

5.6 - Envolvimento dos receptores α -2-adrenérgicos na gastroproteção de AEL

O tratamento com clonidina (0,05 mg/kg; v.o.) protegeu significativamente ($p < 0,05$) a mucosa gástrica contra o dano produzido pelo etanol. A administração de AEL (1 mg/kg) protegeu de forma significativa ($p < 0,05$) a mucosa gástrica dos camundongos contra o efeito do etanol ($7,2 \pm 1,9$ *versus* $49 \pm 5,4$ área lesada %). O pré-tratamento com ioimbina (2 mg/kg; s.c.), entretanto, reverteu os efeitos protetores da clonidina e da AEL (1 mg/kg) ($58,6 \pm 7,7$ *versus* $56,1 \pm 8,3$ área lesada %) (FIGURA 9).

FIGURA 7. Ausência de envolvimento de prostaglandinas na gastroproteção de AEL em modelo de gastropatia induzida por etanol. Os animais foram tratados (i.v.) com salina (Sal), misoprostol (50 µg/kg) ou AEL (1mg/kg). Uma segunda série experimental com administração prévia de indometacina (20 mg/kg; p.o) avaliou a participação de PGs no efeito da AEL. Os resultados estão expressos como média ± EPM para cada grupo de seis animais. δ p < 0,05 em relação ao grupo NT. * p < 0,05 em relação ao grupo etanol+salina. # p < 0,05 em relação ao grupo etanol+indometacina+salina. ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações.

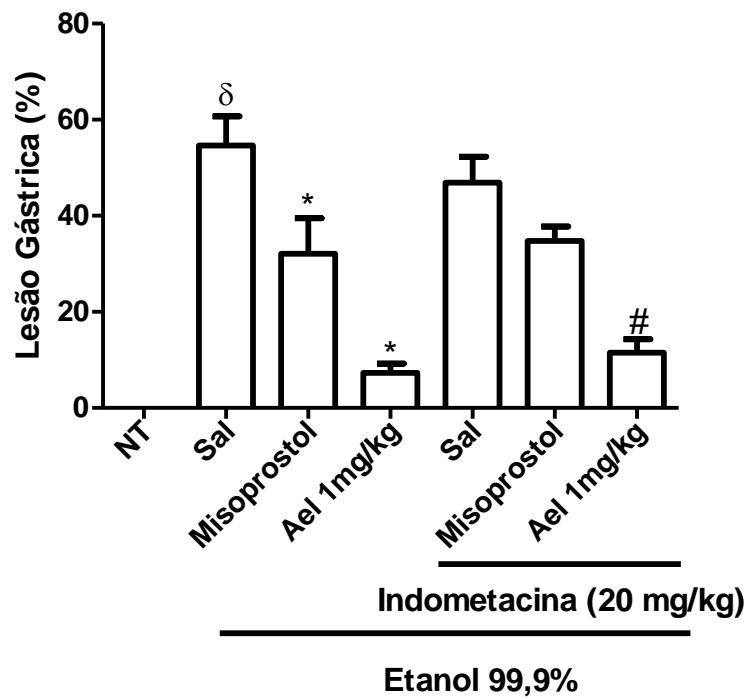


FIGURA 8. Envolvimento de receptores opioides na gastroproteção da AEL em modelo de gastropatia induzida por etanol. Os animais foram tratados (i.v.) com salina (Sal), morfina (5 mg/kg) ou AEL (1mg/kg). Uma segunda série experimental com administração prévia naloxona (2mg/kg) avaliou a participação dos opioides no efeito da AEL. Os resultados estão expressos como média \pm EPM para cada grupo de seis animais. δ $p < 0,05$ em relação ao grupo NT. * $p < 0,05$ em relação ao grupo etanol+salina. ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações..

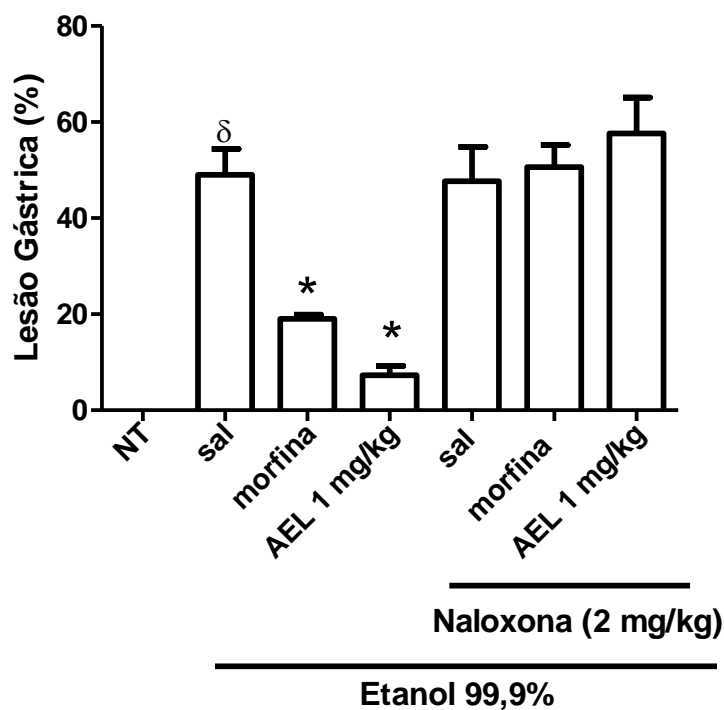
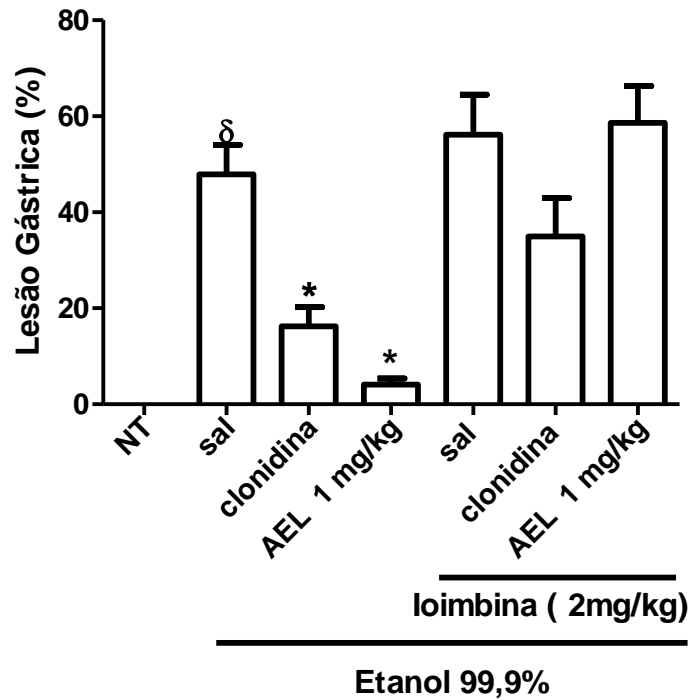


FIGURA 9. Envolvimento de receptores α -2-adrenérgicos na gastroproteção de AEL em modelo de gastropatia induzida por etanol. Os animais foram tratados (i.v.) com salina (Sal), clonidina (0,05 mg/kg) ou AEL (1mg/kg). Uma segunda série experimental com administração prévia de ioimbina (2 mg/kg) avaliou a participação dos receptores α -2-adrenérgicos. Os resultados estão expressos como média \pm EPM para cada grupo de seis animais. δ p < 0,05 em relação ao grupo NT. * p < 0,05 em relação ao grupo etanol+salina. ANOVA seguido pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações.



6- DISCUSSÃO

Este trabalho explorou as propriedades gastroprotetoras da lectina de *Abelmoschus esculentus* (*Malvaceae*) em camundongos, utilizando o modelo de úlcera gástrica induzida por etanol, um dos mais utilizados na avaliação de atividades antiulcerogênicas em animais. A ingestão de etanol caracteriza-se pelo desenvolvimento de lesões gástricas em seres humanos (LAINE e WEINSTEIN, 1988). Os possíveis mecanismos de ação do efeito gastroprotetor de AEL também foram analisados.

Neste modelo usado, o etanol absoluto é o principal fator que leva ao dano intenso da mucosa gástrica, promovendo o aparecimento de múltiplas bandas hemorrágicas ao longo eixo da porção glandular do estômago (MINCIS *et al.*, 1995). Um dos objetivos deste estudo foi investigar o possível efeito da lectina da farinha de *A. esculentus* no modelo de úlcera gástrica por etanol em camundongos.

O efeito protetor de AEL no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol, foi evidenciado após a administração da lectina AEL (1mg/kg) demonstrando ser capaz de diminuir significativamente o aparecimento das bandas hemorrágicas, semelhante a Ranitidina (80mg/kg) que também ofereceu proteção. A atividade gastroprotetora de AEL foi evidenciada pela redução do percentual de área gástrica lesionada pelo etanol nos camundongos. Nossos resultados são consistentes com outros estudos anteriores sobre os efeitos gastroprotetores observados para outras lectinas (VASCONCELOS *et al.*, 2010; ABDON *et al.*, 2012). O estudo farmacológico do extrato da mucilagem de sementes de *A. esculentus* realizado por Joshi e colaboradores (2011) já comprovava seu efeito antiulcerogênico no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol em camundongos. A lectina obtida a partir da farinha das sementes de AEL utilizados no atual trabalho apresentou a mesma atividade gastroprotetora. Além de poucos trabalhos etnofarmacológicos, estudos farmacológicos específicos com lectina de AEL mostraram sua atividade anti-tumoral, anti-inflamatória, anti-nociceptiva, e de hemaglutinação. Tais estudos demonstraram ausência de citotoxicidade sobre as hemácias (SOARES *et al.*, 2012; MONTE *et al.*, 2013). Sabitha e colaboradores (2011) e Kumar e colaboradores (2009) mostraram a segurança de *A. esculentus* no teste de toxicidade aguda e crônica, não sendo registrados, nesses trabalhos, sinais deletérios ou

mortalidade dos animais (camundongos) após administração de altas doses. Esses resultados somados ao uso empírico pela comunidade sugerem segurança para o uso de AEL (MAGANHA *et al.*, 2010).

No oriente, a mucilagem das sementes de *A. esculentus* apresenta diversas atividades, sendo usada no tratamento de úlcera gástrica, úlcera duodenal e diabetes (LENGSFELD *et al.*, 2002; AMEENA *et al.*, 2010).

As lesões gástricas induzidas por etanol representam um modelo clássico, extensamente utilizado para avaliação da atividade anti-ulcerogênica/citoprotetora de novos compostos. Está bem descrito que o etanol exerce sua ação lesiva através da agressão física da mucosa, causada pelo seu efeito direto sobre a mesma, caracterizando-se por esfoliação, erosão do epitélio, lesão vascular da mucosa e necrose celular (MIZUI e DOTEUCHI, 1983; SZABO *et al.*, 1985).

No presente estudo não foi detectado infiltrado de células inflamatórias em nenhum grupo experimental, provavelmente devido ao curto intervalo de tempo entre administração do etanol e eutanásia dos animais (30 min), como observado em outros estudos. Os resultados obtidos para os demais parâmetros microscópicos avaliados corroboram com os achados da macroscopia, nos quais a AEL exerceu efeito protetor da mucosa gástrica, tendo em vista a diminuição dos escores de hemorragia, perda de células epiteliais e edema. Considerando os parâmetros da análise histopatológica da mucosa gástrica após o desafio com o etanol, dados do nosso laboratório (SILVA *et al.* 2012) confirmam os resultados obtidos (SLOMIANY *et al.*, 1979; TRIOS *et al.*, 2010) que mostraram que a administração de etanol absoluto causa lesões na mucosa gástrica, caracterizadas pela formação de edema submucoso, além de hemorragia e perda de células epiteliais. Tais lesões são provocadas pelo efeito direto do etanol e também por mediadores locais que são liberados (citocinas, radicais livres, outros).

Desta forma, considerando o efeito gastroprotetor de AEL (1mg/kg), um estudo do (s) seu (s) possível (is) mecanismo (s) de ação foi delineado. A atividade gastroprotetora de um fármaco pode envolver mecanismos moleculares diferentes e, muitas vezes, complementares, promovendo resistência da mucosa ou uma diminuição de fatores agressivos ou ambos (RODRIGUES *et al.*, 2010). Neste sentido, investigamos o envolvimento de óxido nítrico, prostaglandinas, receptores opioides e α -2-adrenérgicos na atividade gastroprotetora de AEL. Em todos esses ensaios utilizou-se

AEL na dose de 1 mg/kg, uma vez que essa foi a dose mínima que exerceu efeito gastroprotetor nos ensaios preliminares.

A literatura relata que o óxido nítrico atua complementando o efeito gastroprotetor promovido pelas prostaglandinas, ou seja, podem agir de forma cooperativa (SAKAI *et al.*, 1995; WALLACE e GRANGER, 1996; MUSCARA e WALLACE, 1999). Sabe-se também que o NO é capaz de aumentar a permeabilidade vascular e a produção de prostaglandinas (RANG *et al.*, 2004).

O óxido nítrico (NO) é um potente vasodilatador que promove fluxo sanguíneo adequado, representando um mediador crucial na defesa da mucosa gastrointestinal. Ainda, o NO estimula a secreção de muco, promovendo cicatrização e manutenção do fluxo sanguíneo basal da microcirculação gástrica e do fluxo em resposta ao ácido gástrico (WALLACE, 2006; TULASSAY e HERSZEÉNYI, 2010). Desta forma, drogas que bloqueiam a síntese de NO agravam as lesões associadas ao etanol, e esses efeitos são reduzidos pela administração de L-arginina (substrato da NOS). Portanto, a utilização de inibidores da síntese de NO, como o L-NAME, foi realizada para avaliar o possível envolvimento desta via sobre o efeito gastroprotetor de AEL. A análise dos resultados com AEL mostram que o efeito gastroprotetor é independente da formação de NO, uma vez que o pré-tratamento com L-NAME, antagonista da síntese de NO, não influenciou na capacidade de AEL em proteger a mucosa gástrica após o desafio com etanol.

As Prostaglandinas, particularmente PGE2 e PGI2 (prostaciclina), desempenham um papel muito importante na modulação da defesa e reparo gastrointestinais (WALLACE e MA, 2001; HIGUCHI, 2010). A ação gastroprotetora das PGs é mediada pelo aumento na produção de muco e secreção de bicarbonato, modulação da secreção do ácido gástrico, inibição da liberação de mediadores inflamatórios por mastócitos e pela manutenção do fluxo sanguíneo (BATISTA *et al.*, 2004). Os efeitos benéficos dos análogos de prostaglandinas, como o misoprostol (análogo da PGE1) em seres humanos foram observados em doses que produzem inibição significativa da secreção ácida gástrica (WALLACE, 2008; PALILEO e KAUNITZ, 2011).

Para avaliarmos, uma efetiva participação das prostaglandinas no efeito gastroprotetor de AEL, utilizamos o misoprotol, bem como indometacina, inibidor dual de COX-1 e COX-2, que reduz a produção de PG.

Os resultados obtidos mostraram que o misoprostol (50ug/kg), reduziu significativamente o aparecimento das lesões gástricas induzidas por etanol, quando comparadas com grupo controle. Esses resultados já mostrados na literatura (HOLLADER *et al.*, 1984), indicam que o aparecimento de úlceras é inibido pela liberação de PG na mucosa gástrica. Igualmente, o efeito protetor do misoprostol foi revertido pela administração de indometacina. Mesmo após o tratamento com indometacina, o efeito de AEL não foi modificado. Portanto, a proteção exercida por AEL ocorre independentemente da supressão das PG exercida pela indometacina. Além disso, a proteção do AEL foi similar à observada para o grupo que recebeu misoprostol. Juntos, esses resultados sugerem que o mecanismo de ação de AEL provavelmente não está relacionado à produção de PGs.

Os opioides exercem efeito protetor no modelo de lesões gástricas induzidas por etanol e tanto receptores *mu* quanto *delta* parece estar envolvido nesta atividade (GYIRES *et al.*, 2000). De fato, a ativação de ambos os receptores (*mu* e *delta*) está relacionada com maior produção de NO e prostaglandinas no modelo de lesões gástricas induzidas pelo etanol (GYIRES *et al.*, 2001). Estes receptores podem ser ativados por mediadores opioides endógenos ou exógenos como morfina e derivados. A ativação dos receptores *mu* no TGI inibe a liberação de acetilcolina, reduzindo secreção ácida e contratilidade da musculatura lisa (GELMAN, 2010).

Para avaliar o possível envolvimento dos receptores opioides no efeito gastroprotetor de AEL foi utilizada morfina, que promoveu redução no percentual de lesão gástrica; e naloxona (antagonista opioide não-seletivo), que reverteu o efeito da morfina. Entretanto, na presença da naloxona o efeito gastroprotetor de AEL não se manifestou, sugerindo, portanto, que este efeito, no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol em camundongos, parece depender da ativação de receptores opioides.

Os receptores α -2-adrenérgicos centrais e periféricos promoveminibição da secreção ácida gástrica, da motilidade e do trânsito gastrintestinal. O papel de receptores α 2-adrenérgicos centrais na regulação gástrica ainda não está completamente elucidado com relação à motilidade gástrica, porém, a ativação de receptores α 2B está relacionada à proteção do estômago (FÜLOP *et al.*, 2005).

Os receptores α -2-adrenérgicos pré-sinápticos dos terminais colinérgicos do nervo vago modulam a secreção gástrica através da inibição da liberação de acetilcolina (BLANDIZZI *et al.*, 1995). A acetilcolina liberada de neurônios pós-ganglionares

estimula diretamente a célula parietal, *via* receptores muscarínicos subtipo M3. Por outro lado, a ACh também age indiretamente pela ativação de receptores muscarínicos subtipos M2 e M4 presentes na superfície das células D das glândulas gástricas, inibindo a secreção de somatostatina.

Neste estudo, o pré-tratamento dos animais com clonidina, agonista dos receptores α -2-adrenérgicos, reduziu o percentual de lesão gástrica induzida por etanol, demonstrando a modulação pelo sistema adrenérgico nesse modelo animal. O pré-tratamento dos animais com ioimbina, antagonista dos receptores α -2-adrenérgicos, reverteu os efeitos gastroprotetores tanto da clonidina quanto de AEL, sugerindo o envolvimento dos receptores α -2-adrenérgicos no mecanismo de ação gastroprotetor da lectina.

As análises sugerem que AEL previne a gastropatia induzida por etanol em camundongos, atuando tanto pela via opioide, responsável pelo aumento da produção de muco e bicarbonato, quanto pela via adrenérgica, especificamente via receptores α -2-adrenérgicos, inibindo a secreção de HCl.

7- CONCLUSÃO:

A lectina das sementes de *Abelmoschus esculentus* apresenta atividade gastroprotetora no modelo de gastropatia induzida por etanol absoluto.

O mecanismo de ação envolvido na atividade gastroprotetora não está relacionado com o aumento da produção de óxido nítrico ou de prostaglandina, porém envolve a participação de receptores opioides e α -2-adrenérgicos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-SALAM, O.M.; CZIMMER, J.; DEBRECENI, A.; SZOLCSANYI, J.; MOZSIK, G. Gastric mucosal integrity: gastric mucosal blood flow and microcirculation. An overview. **Journal Physiol Paris**, v. 95, p. 105-27, 2001.
- ADELAKUN O.E.; OYELADE O.J.; ADE-OMOWAYE B.I.; ADEYEMI I.A.; VAN DE VENTER M.; KOEKEMOER T.C. Influence of pre treatment of yield chemical and antioxidant properties of Nigerian Okra seed (*Abelmoschus esculentus*). **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p. 657-661. 2009
- ADELAKUN, O. E. et al. Mineral composition and the functional attributes of Nigerian okra seed (*Abelmoschus esculentus Moench*) flour. **Research International**, v.47, p.348–352, 2011.
- ADEYEMI, E.O. *et al.* Mechanisms of action of leptin in preventing gastric ulcer. **World Journal Gastroenterology**. v.11, n.27, p. 4154-4160, 2005
- AIHARAM, E.; NOMURA, Y.; SASAKI, Y.; ISE, F.; KITA, K.; TAKEUCHI, K. Involvement of prostaglandin E receptor EP3 subtype in duodenal bicarbonate secretion in rats. **Life sciences**, v.80, p. 2446-2453, 2007.
- AMEENA, K.; DILIP, C.; SARASWATHI, R. ; KRISHNAN, P. N.; SANKAR, C.; SIMI, S. P. Isolation of the mucilages from *Hibiscus rosasinensis* linn. and Okra (*Abelmoschus esculentus linn.*) and studies of the binding effects of the mucilages, **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 3, p. 539-543, 2010.
- ANDERSSON, K. E. Pharmacology of penile erection. **Pharmacological Reviews**, v. 53, n.3, p. 417-450, 2001.
- ARAPITSAS P. Identification and quantification of polyphenolic compounds from Okra seeds and skins.**Food Chem**, v.110, p. 1041-1045, 2008
- ASSREUY, A. M.; MARTINS, G. J.; MOREIRA, M. E.; BRITO, G. A.; CAVADA, B. S.; RIBEIRO, R.A.; FLORES, C.A. Prevention of cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis by glucose-mannose binding plant lectins. **Journal of Urology**, v. 161, n. 6, p. 1988-1993, 1999.
- ATAY, S.; TARNAWSKI, A. S.; DUBOIS, A. Eicosanoids and the stomach.**Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v.61, n.3-4, p.105-124, 2000.

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

BARBOSA, T.; ARRUDA, S.; CAVADA, B.; GRANJEIRO, T.; FREITAS, L. A.R.; BARRAL-NETTO, M. In vivo Lymphocyte Activation and Apoptosis by Lectins of the Diocleinae Subtribe. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 96, p. 673-678, 2001.

BAZÁN, U.R.A. Avaliação de germoplasmas de quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*) quanto à resistência ao Oídio (*Erysiphe cichoracearum*). **Tese doutorado, UNESP**, p.59, 2006.

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

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

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

BERNE, R.M.; LEVY, M.N.; KOEPPEN, B.M. STANTON, B.A. Fisiologia: 5ª Edição Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2004.

BITZIOU, E.; PATEL, B. A. Simultaneous detection of gastric acid and histamine release to unravel the regulation of acid secretion from the guinea pig stomach. **Am Journal Physiology Gastrointest Liver Physiology**, Epub ahead of print, 2012.

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

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

BOLIKAL, S. et al. Composition and bioactivity of okra seed extracts: Effect on colon cancer cells. Abstracts Of Papers Of **The American Chemical Society**, v.241, 2011.

BOLINI, R.; CHISPEELS, M.J. Characterization and subcellular localization of vivilin and phytohemagglutinin, the two major reserve proteins of *Phaseolus vulgaris* L. **Planta**, v.142, p. 292-298, 1978

BOTTING, R. Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927-2004), J Therm Biol Second International Meeting on **Physiology and Pharmacology of Temperature Regulation**. v. 31, p.208-219, 2006.

BOYD, W. C. & SHAPLEIGH, E. Separation of individuals of Any Blood Group into Secretors and Non-Secretors by Use of a Plant Agglutinin (Lectin). **Blood**.v.9, p. 1195-1198, 1954.

BRANDO-LIMA, A.C.; SALDANHA-GAMA, R.F.; HENRIQUES, M.G.; MONTEIRO-MOREIRA, A.C.; MOREIRA, R.A; BARJA-FIDALGO, C.F., a galactose-binding lectin, induces chemotaxis and rearrangement of actin cytoskeleton in human neutrophils: involvement of tyrosine kinase and phosphoinositide 3-kinase. **Toxicol Appl Pharmacol**. v. 208, p. 145-54, 2005

BRAGA, C.S. Quiabo. In: Grande manual globo de agricultura, pecuária e receituário industrial. Porto Alegre: **Globo**, v.3, p.109-111, 1978.

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

CARVALHO, A.S.T. Úlcera péptica. **Jornal de Pediatria**, v. 76, p. 127 – 134, 2000.

CASTRO, M. M.; GODOY, A. R.; CARDOSO, A. I. I. Qualidade de sementes de quiabeiro em função da idade e do repouso pós-colheita dos frutos. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 1491-1495, 2008.

CAVADA. B.S.; BARBOSA, T.; ARRUDA, S.; GRANGEIRO, T.B.; BARRAL-NETTO, M. Revisiting *proteus*: Do minor changes in lectin structure matter in biological activity? Lessons from and potential biotechnological uses of the Diocleinae subtribe lectines. **Current Protein and Peptide Science**, Hil versum, v.2, p.123-135, 2001

CAVALCANTI, M.S.M.; ALMEIDA, A.M.P. & COELHO, L.C.B.B. Interaction of lectins with *Yersinia pestis* strains. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 26, p. 125-131, 1990

CERQUEIRA, N. F.; YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico. Revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 17, n. 6, p. 417-423, 2002

CERSOSIMO, M. G.; BENARROCH, E. E. Neural control of the gastrointestinal tract: implication for Parkinson disease. **Movement Disorders**, v. 23, p. 1065-1075, 2008.

CHEN, C.; ROWLEY, A.F.; NEWTON, R.P. & RATCLIFFE, N.A. Identification, purification, and properties of a beta-1,3-glucan-specific lectin from the serum of the cockroach, *Blaberus discoidalis* which is implicated in immune defence reactions. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v. 122, p. 309- 319, 1999.

CHEN, J. *et al.* A novel sialic acid-specific lectin from *Phaseolus coccineus* seeds with potent antineoplastic and antifungal activities. **Phytomedicine**.v.16, 2009.

CHENG, H. C.; GLEASON, E. M.; NATHAN, B. A.; LACHMANN, P. J.; WOODWARD, J. K. Effects of Clonidine on Gastric Acid Secretion in the Rat. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, v. 217, p. 121-126, 1981.

COELHO, L.C.B.B. & DA SILVA, M.B.R. Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *bauhinia monandra*. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p. 1-6, 2000.

COSTA, M.C.B.; OLIVEIRA, G.D.; HAAG, H.P. Nutrição mineral de hortaliças - Efeito da omissão dos macronutrientes e do boro, no desenvolvimento e na composição química de hortaliças. In: HAAG, H.P.; MINAMI, K. **Nutrição mineral em hortaliças**. Campinas: Fundação Cargil. p.257-276, 1981.

DANGUY, A.; DECAESTECKER, C.; GENTEN, F.; SALMON, I.; KISS, R. Applications of lectins and neoglycoconjugates in histology and pathology. **Acta Anatomica**, v. 161, p. 206-218, 1998.

DE MEJÍA, E. G.; PRISECARU, V.I. Lectins as Bioactive Plant Proteins: A Potencial in Cancer Treatment. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**.v. 45. p. 425-445, 2005

DETERS AM, LENGSELD C, HENSEL A. Oligo and polysaccharides exhibit a structure dependent bioactivity on human keratinocytes in vitro. **J Ethnopharmacol** v.102, p. 391-399. 2005

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

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

DONG, M.H.; KAUNITZ, J.D. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**. v.22, p. 599 – 606, 2006

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

ELSASSER-BEILE, U.; RUHNAU, T.; FREUDENBERG, N.; WETTERAUER, U.; MENGES, U. Antitumoral effect of recombinant mistletoe lectin on chemically induced urinary bladder carcinogenesis in a rat model. **Cancer**, v. 91, p. 998- 1004, 2001.

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

FIORUCCI, S.; ANTONELLI, S.; MORELLI, A. Mechanism of non-steroidal anti-inflammatory drug-gastropathy. **Digestive and Liver Disease**, v. 33, p. 35-43, 2001.

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

FUJII, T.; FUJITA, K.; TAKEGUCHI, N.; SAKAI, H. Function of K^+ - Cl^- cotransporters in the acid secretory mechanism of gastric parietal cells. **Biol Pharmacology Bull**, v.34, p.810-2, 2011.

GABOR, F.; KLAUSEGGER, U.; WIRTH, M. The interaction between wheat germ agglutinin and other plant lectins with prostate cancer cells Du-145. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 221, p. 35-47, 2001.

GANOG, W.F. **Review of medical physiology**. 21 ed. San Francisco: Lange Medical Books, 2003.

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

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

GERSHON, M.D.; KIRCHGESSNER, A.L.; WADE, P.R. Functional anatomy of the enteric nervous system. In: JOHNSON, L.R. **Physiology of the gastrointestinal tract**. New York: p.381 – 422, 1994.

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

GOPALAKRISHNAN, N.; KAIMAL, T.N.B.; LAKSHMINARAYANA, G. Fatty acid changes in *Hibiscus esculentus* tissues during growth. **Phytochemistry**, v.21, p.565-568, 1982.

GRIEVE, M.. A Modern Herbal., 3rd ed. **Tiger Books International**, London, 1994.

GUTH, P. H. Current concepts in gastric microcirculatory pathophysiology. **Yale Journal Biol Med.**; v.65, p. 677-688, 1992

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiología médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 715-723.

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

GUO, J. S.; CHO, C. H.; WANG, W. P.; SHEN, X. Z.; CHENG, C. L.; KOO, M. W. L. Expression and activities of three inducible enzymes in the healing of gastric ulcers in rats. **World Journal of Gastroenterology**, v. 9, p. 1767-1771, 2003

GYIRES, K.; MÜLLNER, K.; FÜRST, S.; RÓNAI, A. Z. Alpha-2 adrenergic and opioid receptor-mediated gastroprotection. **Journal of Physiology (Paris)**, v. 94, p. 117–121, 2000.

GYIRES, K.; MÜLLNER, K.; RÓNAI, A.Z. Activation of central opioid receptors may induce gastric mucosal defense in the rat. **Journal of Physiology (Paris)**, v. 95, p. 189–196, 2001.

GYIRES, K.; RÓNAI, A.Z. Supraspinal δ - and μ -Opioid Receptors Mediate Gastric Mucosal Protection in the Rat. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 297, p. 1010-1015, 2001.

GYIRES, K.; RÓNAI, A.Z.; TÓTH, G.; DARULA, ZS.; FÜRST, S. Analysis of the role of delta opioid receptors in gastroprotection in the rat. **Life Sciences**, v. 60, p. 1337-1347, 1997.

HIGUCHI, K.; UMEGAKI, E.; YODA, Y.; TAKEUCHI, T.; MURANO, M.; TOKIOKA, S. The role of prostaglandin derivatives in a treatment and prevention for gastric ulcers in the aged patients. **Nihon Rinsho.**, v. 68, p. 2071-5, 2010.

HOGBEN, C.A.M; KENT, T.H.; WOODWARD, P.A.; SILL, A.J. Quantitative histology of gastric mucosa: Man, dog, cat, guine pig, and frog. **Gastroenterology**; v.67, p. 1143-1154, 1974

HOLZER, P. Neural emergency system in the stomach. **Gastroenterology**, v. 114, p. 823- 839, 1998.

HOOGERWERF, W.; PASRICHA, P.J. Agentes usados para o controle da acidz gástrica e no tratamento de úlceras pépticas e da doença do refluxo gastroesofágico. In: **Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica**, Joel Hardman e Lee E. Limbird, 10 ed. , Rio de Janeiro, 2003.

ISHIHARA, S., TSUCHIYA, S., HORIE, S., MURAYAMA, T., WATANABE, K. Stimulatory effects of centrally injected n-opioid receptor agonists on gastric acid secretion in urethane-anesthetized rats. **European Journal Pharmacology**. v. 418, p.187-194, 2001.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

JAIN, N.; JAIN, R.; SURENDRA, J. A review on : *Abelmoschus esculentus*, *Pharmacia*, v.1 , ISSN 0976-9692, 2012.

JAHOVIC, N.; ERKANLI, G.; ISERI, S.; ARBAK, S.; ALICAN, I. Gastric protection by α -melanocyte-stimulating hormone against ethanol in rats: Involvement of somatostatina. **Life Sciences**, v. 80, p. 1040 - 1045, 2007.

JAIN, K.S.; SHAH, A.K.; BARIWAL, J.; SHELKE, S.M.; KALE, A.P.; JAGTAP, J.R.; BHOSALE, A.V. Recent advanceds in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 1181 – 1205, 2007.

JASS, J.R.; WALSH, M.D. Altered mucin expression in the gastrointestinal tract: a review. **Journal Cell Mol Med**, v.5, p. 327, 2001

JOSHI B, LEKHAK S, SHARMA A. Antibacterial property of different medicinal plants: *Ocimum sanctum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Xanthoxylum armatum* and *Origanum majorana*. Kathmandu University **Journal Sci Eng Tech**, v. 5, p.143-150, 2009

KAYS, S.J. Postharvest physiology of perishable plant products. New York: **Van Nostrand Reinhold**, p. 453, 1991.

KAZUMORI, H.; ISHIHARA, S.; RUMI, M.A.K. Transforming growth factor-directly augements histidine decarboxylase and vesicular monoamine transporter 2 production in rat enteochromaffin-like cells. *Am. Journal Gastrointest.Liver Physiology*.v.286, p. 508-514, 2004.

KUBES, P.; SUZUKI, M.; GRANGER, D.N. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA**, v. 88, p. 4651-4655, 1991.

KUMMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ASTER, J.C. Robbins & Cotran, Bases Patológicas das Doenças. 8 ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2010

KUMAR, R.; PATIL M. B.; PATIL, S. R.; PASCHAPUR, M. S. Evaluation of *Abelmoschus Esculentus* Mucilage as Suspending Agent in Paracetamol Suspension. **Journal of PharmTech Research**. v.1, p.658-665, 2009.

KUTCHAI, H. C. Regulação gastrointestinal e Motilidade. *In*: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Fisiologia**. 5. ed., p. 573-600, 2004.

KWIECIEN, S.; BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P. C.; KONTUREK S. J. The role of reactive oxygen species in action of nitric oxide-donors on stress-induced gastric mucosal lesions. **Journal of Physiology and Pharmacology**.v.53, p.761-73, 2002.

LAINE, L.; WEINSTEIN, W.M.,. Histology of alcoholic hemorrhagic __gastritis“: a prospective evaluation. **Gastroenterology** v. 94, p. 1254–1262, 1988

LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, p. 41 – 60, 2008.

LANAS, A. Role of nitric oxide in the gastrointestinal tract. **Arthritis Research & Therapy**, v. 10, p. S4, 2008.

LENGSFELD, C., TITGEMEYER, F., FALLER, G., HENSEL, A. A crude polysaccharide from *Abelmoschus* exhibits strong antiadhesive effects against *Helicobacter pylori* in an in situ adhesion model on human gastric mucosa. **Revista de Fitoterapia**,v.2, p.85, 2002

LENGSFELD ,C.;TITGEMEYER, F.;FALLER, G.; HENSEL, A. Glycosylated Compounds from Okra Inhibit Adhesion of *Helicobacter pylori* to Human Gastric Mucosa.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*.v.52, p. 1495-1503, **2004**.

LIEBER, C. S. Gastric Ethanol Metabolism and Gastritis: Interactions with Other Drugs, *Helicobacter pylori*, and Antibiotic Therapy (1957-1997)-a Review. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, v. 21, p. 1360-1366, 1997.

LIS, H. & SHARON, N. Lectins: carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition. **Chemical Reviews**. v.98, p.637-674, 1998.

MAGANHA E. G.;HALMENSCHLAGER, R. D. C.; ROSA, R. M.; HENRIQUES J. A. P.; .RAMOS A. L. L. D. P AND SAFFI ,J. “Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*,” *Food Chemistry*, v. 118, p. 1-10, 2010

MARTIN, W. R. Opioid antagonists.**Pharmacological Reviews**, v. 19, p. 464-517, 1967.

MILANI, S.; CALABRÒ, A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. **Microscopy Research and Technique**, v.53, p. 360-371, 2001.
MINCIS, M., CHEBLI, J.M.F., KHOURI, S.T., MINCIS, R.,.Etanol e o trato gastrointestinal. **Arquivos de Gastroenterologia** v. 32, p. 131–139, 1995

- MIZUI, T.; DOTEUCI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. **Jpn Journal Pharmacol**, n. 33, p. 939-945, 1983.
- MONCADA, S.; FERREIRA, S. H.; VANE, J.R. Prostaglandins, aspirin-like drugs and the o edema of inflammation. **Nature**. v. 246, p. 217-9. 1973.
- MÖSSNER J.; CACA, K. Developments in the inhibition of gastric acid secretion. **European Journal of Clinical Investigation**. v.35, n.8, p.469-75, 2005.
- MONTE, L. G.; SANTI-GADELHA, T.; REIS, LARISSA B.; BRAGANHOL, E; PRIETSCH, R. F.; DELLAGOSTIN, O. ; LACERDA, R. R; Gadelha, C. A. A.; CONCEIÇÃO, F. R.; PINTO, L. S. Lectin of *Abelmoschus esculentus* (okra) promotes selective antitumor effects in human breast cancer cells. **Biotechnology Letters**, v. xxx, p. xx, 2013.
- MOTA, W.F.; FINGER, F.L.; CASALI, V.W.D. Olericultura: Melhoramento Genético do Quiabeiro. Viçosa: UFV, **Departamento de Fitotecnia**, p.144, 2000.
- MULLER, J.J.V. Produção de sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L) Moench). In: MULLER, J.J.V.; CASALI, V.W.D. “ed.” **SEMINÁRIOS DE OLERICULTURA**; 2a edição; Viçosa, MG, v.1, p.107-149, 1982.
- MURDOCK, L.L. & SHADE, R. E. Lectina and protease inhibitors as plant defenses against insects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, n. 22, p. 6605-6611, 2002.
- MUSCARA, M.N.; WALLACE, J.L. Nitric oxide. V. Therapeutic potential of nitric oxide donors and inhibitors. *American Journal of Physiology*.; v. 276, p. 1313-1316, 1999.
- OYELADE O.J.; ADE-OMOWAYE B.I.O.; ADEOMI, V.F. Influence of variety on protein, fat contents and some physical characteristics of Okra seeds. **Journal of Food Engineering** v.57, p. 111-114. 2003.
- PALILEO, C., KAUNITZ, J.D., Gastrintestinal defense mechanisms. **Current Opinion in Gastroenterology** v. 27, p. 543–548, 2011.
- PAN, J.S.; HE, S.Z.; XU, H.Z.; ZHAN, X.J.; YANG, X.N.; XIAO, H.M.; SHI, H.X.; REN, J.L. Oxidative stress disturbs energy metabolism of mitochondria in ethanol-induced gastric mucosa injury. **World Journal of Gastroenterology**, v. 14, p. 5857 - 5867, 2008.
- PANERO, F. S., M; VIEIRA F. P.; CRUZ Â. M. F, M. F. V. MOURA; SILVA, H. E. B..Aplicação da análise exploratória de dados na discriminação geográfica do quiabo do

Rio Grande do Norte e Pernambuco. **Eclética Química**, São Paulo, v.34, p. 33 – 40, 2009.

PASRICHA, P.J. Procinéticos, antieméticos e agentes usados na síndrome do intestino irritável. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, A.G. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: Mac Graw Hill, 2006.

PEDRE, N.K. *et al.* Effect of drying temperature and slice size on quality of dried okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, n. 3, p. 378-371, 2011.

PEDROSA, J.F.; MIZUBUTI, A.; CASALI, V.W.D.; CAMPOS, J.P. Caracterização morfológica de introduções de quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* (L.) MOENCH.). **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.1, n.1, p.14- 23, 1983.

PESKAR, B. M., EHRLICH, K., PESKAR, B. A. Role of ARP-sensitive potassium channels in prostaglandin-mediated gastroprotection in the rat. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. V. 301, p. 969-974, 2002.

PHILLIPSON, M.; ATUMA, C.; HENRIKSNA, S, J.; HOLM, L. The importance of mucus layers and bicarbonate transport in preservation of gastric juxtamucosal pH. **Am J Physiol Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 282, p. 211–219, 2002.

PRINZ, C.; SCOTT, D. R.; HURWITZ, D.; HELANDER, H. F.; SACHS, G. Gastrin effects on isolated rat enterochromaffin-like cells in primary culture. **American Journal of Physiology**, 267:G663-G670, 1994.

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

POMMIER, B.; MARIE-CLAIRE, C.; DA NASCIMENTO, S.; WANG, H. L.; ROQUES, B. P.; NOBLE, F. Further evidence that the CCK2 receptor is coupled to two transduction pathways using site-directed mutagenesis. **Journal of Neurochemistry**. v.85, p.454-461 2003.

PNEUMANS, W.J. VANDAMME, E.J.M. Lectins as Plant Defense Proteins. **Plant Physiology**. v. 109, n. 2, p. 347-352, 1995

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

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

RAKH MS, CHAUDHARI SR. Evaluation of CNS depressant activity of *Momordica dioica* Roxb willd fruit pulp. **Int J Pharm PharmSci**, v. 2, p. 124-126, 2010

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

RODRIGUES, P.A.; MORAIS, S.A.R.A, ANDRADE, G.M., SILVA, M.G.V.; ALBUQUERQUE, R.L. Gastroprotective effect of barbatusin and 3-beta-hydroxy-3-deoxybarbatusin, quinonoid diterpenes isolated from *Plectranthus grandis*, in ethanol-induced gastric lesions in mice. **J Ethnopharmacol**;v.127, p.725–30, 2010

SABITHA, V.; RAMACHANDRAN, S.; NAVEEN, K. R.; PANNEERSELVAM, K. Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. In streptozotocin-induced diabetic rats. **J Pharm Bioallied Sci**.p. 397-402, 2011.

SACHS, G.; SHIN, J. M.; BRIVING, C.; WALLMARK, B.; HERSEY S. The pharmacology of the gastric acid pump: the H⁺,K⁺ ATPase. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**, v.35, p.:277-305, 1995.

SAKAI, H.; KUMANO, E.; IKARI, A.; TAKEGUCHI, N. A gastric housekeeping Cl channel activated via prostaglandin EP3 receptor-mediated Ca²⁺ nitric oxide/ cGMP pathway. **J. Biol. Chem.**, v. 270, p. 18781-18785, 1995.

SAMONINA, G.E.; KOPYLOVA, G.N.; LUKJANZEVA, G.V.; ZHUYKOVA, S.E.; SMIRNOVA, E.A.; GERMAN, S.V.; GUSEVA, A.A. Antiulcer effects of amylin: a review. **Pathophysiology**, v.11, p. 1-6, 2004.

SIEGMUNDO, S.; TEUSSEN, S., SINGER, M. V. Alkoholassozierte Organschäden. Gesundheitliche Folgen durch moderaten Alkoholkonsum. **Internist**, v. 43. P. 287-293, 2002.

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

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

SCHUBERT, M.L.; SHAMBUREK, R.D. Control of acid secretion. **Gastroenterology Clinics of America**, v. 19, p. 21-25, 1990.

SCHUBERT, M.L.; PEURA, D.A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v. 134, p. 1842 – 1860, 2008.

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

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

SHARON, N.; LIS, H. *Letins*. Second Edition. Dordrecht/Netherlands. **Kluwer Academic Publishers**, 2003

JOSHI S. V., *et al.* Alteration of gastric mucus secretion in rats treated with *Abelmoschus esculentus* seed mucilage. **Scholars research library**, 2011.

SIDDHURAJU, P.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. The effect of ionising radiation on antinutritional factors and the nutritional value of plant materials with reference to human and animal food. **Food Chemistry**, 2002

SILVA, A.A.R.; BEZERRA, M.M.; CHAVES, H.V.; PEREIRA, K.M.A.; AGUIAR, J.A.; PINTO, V.P.T.; ABBET, C., SIMÕES-PIRES; C.A., FRANCO, E.S.; HENRIQUES A.T.; HOSTETTMANN, K., MAIA, M.B.S. Protective effect of *Chresta martii* extract against indo-methacin-induced gastric lesions in mice. **Journal of Natural Medicines**, <http://dx.doi.org/10.1007/s11418-012-0663-x>, in press

SLOMIANY, A.; PATKOWSKA, M. J.; SLOMIANY, B. L.; GLASS, G. B. J. The effect ethanol on the constituents of the gastric mucous barrier. *International Journal of biological macromolecules*, v. 1, n. 4, p. 165-170, 1979.

SOARES, G. S.F. Estudo da qualidade nutricional de semente e da atividade anti-inflamatória da lectina do *Abelmoschus esculentus* (L.) MOENCH (quiabo). João Pessoa, PB, 2012. **Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade Federal da Paraíba, 2010**

SOARES GSF, ASSREUY AMS, GADELHA CAA, GOMES VM, DELA-TORRE P, SIMOES RS, CAVADA BS, LEITE JF, NAGANO CS, PINTO NV, PESSOA HLF, SANTI-GADELHA T. Purification and biological activities of *Abelmoschus esculentus* seed lectin. **Protein J** 31:674–680, 2012

SOARES, G. S. F.; GOMES, V. M.; ALBUQUERQUE, A. R.; DANTAS, M. B.; ROSENHAIN, R.; SOUZA, A. G.; PERSUNH, D. C.; GADELHA, C. A. A.; COSTA, M. J. C.; SANTI-GADELHA, T. Spectroscopic and Thermooxidative Analysis of Organic Okra Oil and Seeds from *Abelmoschus esculentus*. **The Scientific World Journal**, v. 2012, p. 1-6, 2012.

SONNENBERG, A.; EVERHART, J.E. The prevalence of self-reported peptic ulcer in the United State. **American Journal of Public Health**. v. 86, p. 200-205, 1996

SMOLKA, A. J.; BACKERT, S. How *Helicobacter pylori* infection controls gastric acid secretion. **J Gastroenterol**, Epub ahead of print, 2012.

SOSTRES C, GARGALLO CJ, ARROYO MT, LANAS A. Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.24, p.121-132, 2010.

SMITH, W. L., MEADE, E. A. AND DEWITT, D. Interactions of PGH synthase isozymes-1 and -2 with NSAIDs. **Ann NY Acad Sci** . v. 744, p. 50-7. 1994.

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

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

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

TAKEUCHI, K.; KATO, S.; OGAWA, Y.; KANATSU, K.; UMEDA, M. Role of endogenous prostacyclin in gastric ulcerogenic and healing responses – a study using IP-receptor knockout mice. **Journal of Physiology**. v.95, p.75-80, 2001.

TARNAWSKI, A.S. Cellular and Molecular Mechanisms of Gastrointestinal Ulcer Healing. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 50, p. 24 – 33, 2005.

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

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

TRESCOT, A. M.; DATTA, S.; LEE, M.; HANSEN, H. Opioid Pharmacology. **Pain Physician, Opioid Special Issue**, v. 11, p. 133-153, 2008.

TRIGUEIROS, V.; LOUGARARRE, A.; ALI-AHMED, D.; RAHBÉ, Y.; GUILLOT, L.C.; FOURNIER, D.; PAQUEREAU, L. Xerocomus chrysenteron lectin: Identification of new pestidal protein. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1621, n. 3, p. 292-298, Jun. 2003

TSUKIMI, Y.; OKABE, S. Recent advances in gastrointestinal pathophysiology: role of heat shock proteins in mucosal defense and ulcer healing. **Physiological Reviews**, v. 24, p.1-9, 2001.

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

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

VAN DAMME, E. J. M.; ALLEN, A.K.; PEUMANS, W. J. Isolation and characterization of a lectin with exclusive specificity towards mannose from snowdrop (*Galanthus nivalis*), bulbs. **FEBS Letters**. v.215, n. 140-144, 1987

VANE, JR., BOTING, R. M. New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. **Inflamm Res** .v. 44, p. 1-10, 1995

VASCONCELOS RP, SOUZA GC, MONTEIRO-MOREIRA ACO, ABDON APV, CAMPOS AR. Atividade gastroprotetora da lectina isolada das sementes de Dioclea altissima (DAL) em camundongos. **Anais do XVI Encontro de Iniciação à Pesquisa da Unifor**, Fortaleza; 2010.

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

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

WALLACE, J. Mechanisms of Protection and Healing: Current Knowledge and Future Research. **The American Journal of Medicine**, v.110, pg. 19-23, 2001.

WALLACE, J.L., MA, L. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense e injury. **Exp. Biol. Med.** v. 226, p. 1003-1115, 2001

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

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

WANG YR, RICHTER JE, DEMPSEY DT. Trends and Outcomes of Hospitalizations for Peptic Ulcer Disease in the United States, 1993 to 2006. **Annals of Surgery**, v. 251 p.51-58; 2010.

YAMAGUCHI, M.; JIMBO, M.; SAKAI, R.; MURAMOTO, K. & KAMIYA, H. Purification and characterization of *Microcystis aeruginosa* (freshwater cyanobacterium) lectin. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B**, v.127, p. 593-597, 1998.

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

YE, X.Y. & NG, T.B. Purification and characterization of glycolactin, a novel glycoprotein from bovine milk. **Life Science**, v. 66, p. 1177-1186, 2000.

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

ZATTA, P. F.; CUMMINGS, R. Lectins and their uses as biotechnological tools. **Biochemical Education**. v. 20, n 1, p. 2-9, 1992

ZHU, W.; LIU, K.; WANG, X. Heterosis in yield, fiber quality, and photosynthesis of okra leaf oriented hybrid cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Euphytica** v. 164, 2008.