

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**ATIVIDADE DA CASCA DA *Croton urucurana* NA
PREVENÇÃO E CURA DE ÚLCERA GÁSTRICA
INDUZIDA EM RATOS**

KÁTIA WOLFF CORDEIRO

**DOURADOS-MS
2012**

KÁTIA WOLFF CORDEIRO

**ATIVIDADE DA CASCA DA *Croton urucurana* NA PREVENÇÃO
E CURA DE ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA EM RATOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados – Faculdade de Ciências da Saúde, para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Karine de Cássia Freitas

Co-orientadora: Prof.^a Dr.^a Cândida Aparecida Leite Kassuya

**DOURADOS-MS
2012**

Agradecimentos

Agradeço a vida e ao percurso que ela me proporcionou! Sou extremamente grata, por certo dia, minha irmã ter me convencido a enviar um e-mail para uma pessoa que viria ser minha orientadora de mestrado. O que dizer da professora Karine... pessoa mais encantadora que conheci, a professora mais atenciosa que já tive na vida, humilde, sua inteligência chega as vezes ser ofuscada pela sua imensa simplicidade, mas se enganam aqueles que desconfiam de sua sabedoria e de seu conhecimento científico, não tem como não admirá-la. Com todo o seu jeitinho mineiro, calmo, tranquilo, me ensinou muito, não só com seu conhecimento científico, mas com suas atitudes perante o próximo, sua postura profissional e pessoal. Impossível alguém não se encantar por ela. Receber suas críticas parece receber elogios, ela consegue realizar as suas observações sem desmerecer o aluno, algo um tanto quanto fantástico. Sua dedicação na área da docência é admirável, assim como ela em si! Muito obrigada professora Karine!

Não posso deixar de relevar minha irmã Kelly, minha maior incentivadora para seguir na área da pesquisa. Se não fosse seu apoio, não teria se quer acreditado e provavelmente não teria enviado o e-mail para a professora Karine e jamais teria conhecido e vivenciado tudo isso. Agradeço muito a você, e te admiro muito.

Sem meus pais, nada seria, pois apesar da maneira nada convencional, eles sempre me apoiaram em tudo que fiz, e graças ao modo como fui criada estou aqui! Muito obrigada, amo vocês dois.

Muitas pessoas colaboraram para que eu realizasse esse projeto e concretizasse esse trabalho. Dentre elas, referencio a professora Cândida, professora iluminada que conheci, e tive o prazer de ser co-orientada. Outro professor fantástico, que me ajudou muito foi o professor Sérgio Faloni de Andrade, nem me conhecia e me proporcionou estágio em seu laboratório, me ensinou muito, pelo curto período que estive em Itajaí, percebi que suas alunas também o admiram. Agradeço também a elas, pela vivência, por compartilharem experiências e pela amizade que fizemos, muito obrigada Marta, Jady, Ana Paula, Nicole e Priscila. Saudades de vocês!

Logo no início, devido à dificuldade e a inexperiência na área, por ser tudo novo,

tive apoio de várias pessoas. Agradeço a professora Andréia Sangalli por me guiar na busca pela *C. urucurana*, agradeço por ter me encaminhado ao mateiro Sr. Jorge, outra pessoa encantadora, que me recebeu em sua casa, me mostrou parte da riqueza dos produtos medicinais que ele dispunha, e me ajudou na coleta. Agradeço também a sua família, a sua esposa e a seus filhos, fui muito bem recebida por todos, sempre!

Após a coleta, tinha que proceder a tal “exsicata”, desconhecida por mim até o momento em que conversei com a Glaucia, a qual me explicou todo o processo, me orientou com relação às literaturas a estudar, ministrou uma aula (bem no dia em que ia apresentar seminário em seu grupo de estudo), de como realizar o extrato! Nunca vou esquecer Glaucia, obrigada! Obrigada pela convivência!

Agradeço a professora Zefa, por me orientar com relação à exsicata, sobre as informações botânicas e por identificar a *C. urucurana* para mim.

Recebi muita atenção das técnicas da FCBA, elas também me ensinaram a como proceder para fazer a exsicata, me ajudaram muito! Obrigada.

Como realizaria o extrato sem a participação da professora Anelise Formagio. Sem ela não teria matéria prima! Muito obrigada!

Aliás, se a Edna não tivesse me deixado acompanhá-la, talvez nunca tivesse pegado em um ratinho! Nem teria aprendido a fazer gavagem! Além da companhia nos laboratórios, a parceria, o troca-troca de materiais, a organização das comemorações do mestrado...muito obrigada.

Magaiver agradeço por tudo o que você me ensinou, com toda a sua atenção, simplicidade, você é uma pessoa admirável! Obrigada pela companhia. Minhas dúvidas farmacêuticas sempre buscavam você ou o Antônio, este se tornou meu colega de “eu sei onde tem”... foi muito bom conhecer e conviver com vocês!

Joyce obrigada por sempre me ajudar, pelas idéias, pelo incentivo! Sempre prestativa! Muito obrigada mesmo!

Elaine, obrigada pela amizade, pela companhia, pelos cafés noturnos, pelos momentos de diversão, pelos “papos cabeça”, e por sempre estar disposta a ajudar! Companheira fiel do meu último ano de mestrado, muito obrigada por colaborar também com meu trabalho, afinal o que seria da minha tradução sem você? Muitíssimo obrigada, e que nossos planos se realizem! Sucesso sempre!

Lorraine, o que dizer de você? Você foi a pessoa que me acompanhou e ajudou

praticamente desde os primeiros pilotos! Só você para me aguentar e para acordar 5 horas da manhã e me ajudar! Só você para aguentar meu jeitinho “delicado” de ser, minhas crises de choro no meio do experimento, só você pra me iluminar quando eu achava que estava tudo perdido, minha ex-supervisora de estágio, que se tornou minha colega de mestrado e minha amiga! Muito obrigada Lô! Te admiro muito, adorei conhecer você, sou fã do seu trabalho como nutricionista, mesmo com todas as suas várias atividades, seu trabalho é de uma competência invejável! Queria que todas as nutricionistas tivessem um pouquinho de você! Tenho muito orgulho de ser sua amiga! Obrigada! Como poderia deixar de agradecer ao senhor futuro “Meio Mestre” Sr. Nichollas, só você para aguentar duas “loucas” juntas, obrigada por ajudar sua esposa Lorraine e conseqüentemente me ajudar também, obrigada por buscar e trocar maravalha, por encher bebedouro, por escanear as placas com estômago, por fazer café, por tudo...obrigada. Muito obrigada a vocês dois!

Preciso agradecer a vida mais uma vez por colocar no meu caminho pessoas tão iluminadas, dispostas a colaborar com a pesquisa, agradeço a todos os acadêmicos de medicina que me ajudaram nos meus experimentos, por serem tão dedicados, comprometidos e interessados! Muito Obrigada!

Como falar de dedicação e comprometimento sem lembrar de você Lidiani, pessoa que conheci quando estava ainda no último ano de graduação no estágio no HU. Nossa, sempre alegre, quem diria que se tornaria minha fiel voluntária nos experimentos, na elaboração de trabalhos científicos? Uma “parceria científica”! Mais do que isso, uma amiga para sempre! Muito obrigada Lidi! Que você continue assim!

Professor Fábio, não podia esquecer do dia em que o senhor me ensinou a fazer minha primeira cirurgia nos ratinhos! Nunca vou esquecer do momento em que o senhor falou “Agora faça o ponto X e depois o ponto Wolff”, nem imaginava o que era isso! Muito obrigada pela paciência e pela sua atenção sempre.

Como falar dos ratinhos sem lembrar de agradecer a Melissa, nossa, você me ensinou e ajudou muito. Obrigada pelo carinho e atenção.

Obrigada ao Paulo Vasconcelos por contribuir com sua experiência e favorecer no desenvolvimento desta pesquisa.

As técnicas Débora, Lujan, Mariana, Aleksandra, Anália, Anhay, Flora, Célia, Camila aos técnicos Júnior, Carlos, Antônio, Alex, e aos estagiários muitíssimo obrigada.

Não posso esquecer das meninas dos serviços gerais, que sempre nos (minha equipe!)

ajudaram muito, sempre colaborando com a maior atenção. Agradeço também aos seguranças, que acabaram se acostumando com minhas idas noturnas à faculdade, obrigada pela atenção!

Muito obrigada Bruna, biomédica responsável pelo Laboratório Escola de Análises Clínicas da UNIGRAN, que se dispôs a colaborar desde o primeiro contato!

Agradeço também a Isabela, que no final do segundo tempo apareceu para me ajudar, também como voluntária, muito prestativa sempre! Muito obrigada!

Agradeço de coração a todos os professores da FCS e FACET que durante este meu percurso me ajudaram com informações, materiais, artigos, muito obrigada mesmo!

Muito obrigada a todas as pessoas que colaboraram de certa forma para a execução desta pesquisa! Obrigada a todos os meus amigos que me ajudaram a abstrair em alguns (vários) momentos, e que sempre me acalmavam quando “meu nível de cortisol” subia!

Obrigada Vida!

Dedicatória

Dedico aos meus pais por respeitarem e apoiarem minhas decisões, como forma de reconhecimento pelo esforço que estes tiveram durante todos estes anos e a minha grande incentivadora, minha irmã, Kelly.

Resumo

Relevância etnofarmacológica: A casca da *Croton urucurana* (*Euphorbiaceae*) é utilizada pela população para tratar úlcera gástrica. Entretanto, sob nosso conhecimento, nenhum estudo foi conduzido para comprovar esta propriedade terapêutica. *Objetivo do estudo:* Avaliar o efeito antiulcerogênico da casca da *C. urucurana* em modelos de úlcera gástrica induzida em ratos e seus possíveis efeitos tóxicos. *Materiais e métodos:* As ações de prevenção e cura do extrato metanólico da *C. urucurana* (ECU) foram avaliadas em modelos experimentais de indução de úlcera gástrica aguda (etanol e indometacina) e crônica (ácido acético). Os parâmetros do suco gástrico e muco foram avaliados pelo modelo de ligação de piloro, e o envolvimento da ação gastroprotetora com os compostos sulfidrílicos e óxido nítrico foram analisados utilizando o modelo de etanol. A toxicidade foi avaliada por meio dos testes de toxicidade aguda e subaguda. *Resultados:* Dentro dos parâmetros analisados, nenhum sinal de toxicidade foi observado. No modelo de etanol foi observado que o tratamento com todas as doses testadas do ECU (50, 100 e 250 mg/kg) reduziram significativamente a lesão gástrica com 70,25%, 95,40% e 98,71% de inibição respectivamente, e o lansoprazol (controle positivo) na dose de 30 mg/kg apresentou 82,58% de inibição. No modelo de indometacina, as doses do ECU (50, 100 e 250 mg/kg) e do controle positivo, cimetidina (200 mg/kg), reduziram significativamente a lesão gástrica, com 54,75%, 82,50%, 64,19% e 91,02% de inibição, respectivamente. Os tratamentos com ECU (100 mg/kg) e cimetidina (200 mg/kg) apresentaram redução significativa nos parâmetros ulcerativos induzidos pelo ácido acético, com 81,55% e 72,62% de cura, respectivamente. Com relação ao envolvimento do óxido nítrico, não houve alteração da citoproteção gerada pelo ECU. No entanto, a atividade antiulcerogênica do ECU parece envolver os compostos sulfidrílicos, pois houve inibição de sua ação nos animais que receberam o bloqueador de compostos sulfidrílicos. Além disso, o ECU apresentou ação sistêmica, aumentando a produção de muco e diminuindo a acidez gástrica. *Conclusões:* Segundo este estudo a casca da *C. urucurana* é capaz de induzir atividade de gastroproteção, em ratos, sem sinais de toxicidade. Este efeito parece envolver compostos sulfidrílicos, aumentando o muco e reduzindo a acidez gástrica.

Palavras-chaves: úlcera gástrica, cerrado, plantas medicinais, sangra d'água, *Euphorbiaceae*

Abstract

Ethnopharmacological relevance: The bark of *Croton urucurana* (*Euphorbiaceae*) is used by people to treat gastric ulcer. However, under our knowledge, no study was conducted to confirm this therapeutic property. *Aim of the study:* To evaluate the antiulcerogenic effect of the bark of *C. urucurana* in models of induced gastric ulcer in rats and its possible toxic effects. *Materials and methods:* The actions of prevention and cure of the methanol extract of *C. urucurana* (ECU) were evaluated in experimental models of acute gastric ulcer induction (ethanol and indomethacin) and chronic (acetic acid). The parameters of gastric juice and mucus were evaluated by the model of pylorus ligation, and the involvement with the gastroprotective action of sulfhydryl compounds and nitric oxide were analyzed using the model of ethanol. The toxicity was evaluated by the acute and subacute toxicity tests. *Results:* Within the analyzed parameters, no signs of toxicity were observed. In the model of ethanol it was observed that the treatment with all the tested doses of the ECU (50, 100 and 250 mg/kg) significantly reduced the gastric damage to 70.25%, 95.40% and 98.71% of inhibition respectively, and lansoprazole (positive control) at a dose of 30 mg/kg showed 82.58% of inhibition. In the model of indomethacin, the doses of the ECU (50, 100 and 250 mg/kg) and the positive control, cimetidine (200 mg/kg) significantly reduced the gastric damage, with 54,75% 82,50% 64,19% and 91,02% of inhibition, respectively. The treatments with ECU (100 mg/kg) and cimetidine (200 mg/kg) presented a significant reduction in ulcerative parameters induced by acetic acid, with 81,55% and 72,62% cure, respectively. In regard to the involvement of nitric oxide, there wasn't change of the cytoprotection generated by the ECU. However, the antiulcerogenic activity of the ECU seems to involve sulfhydryl compounds, because there was inhibition of its action in animals receiving the blocker of sulfhydryl compounds. In addition, the ECU had systemic action, increasing the production of mucus and decreasing the gastric acidity. *Conclusions:* According to this study the bark of *C. urucurana* is capable to induce the gastroprotection activity, in rats, with no signs of toxicity. This effect seems to involve sulfhydryl compounds, increasing the mucus and reducing gastric acidity.

Keywords: gastric ulcer, Savannah, medicinal plants, sangra d'água, *Euphorbiaceae*

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1. Anatomia Funcional do Estômago.....	3
2.2. Secreção Gástrica.....	5
2.3. Fatores Protetores da Mucosa Gástrica.....	8
2.3.1. Muco e Bicarbonato.....	8
2.3.2. Prostaglandinas.....	9
2.3.3. Fluxo Sanguíneo.....	9
2.3.4. Óxido Nítrico.....	10
2.3.5. Compostos Sulfidrílicos.....	11
2.4. Fisiopatologia da Úlcera Gástrica.....	12
2.5. Modelos de Indução da Úlcera Gástrica em Animais.....	13
2.5.1. Mecanismo de Úlcera Gástrica Induzida por Etanol.....	13
2.5.2. Mecanismo de Úlcera Gástrica Induzida por AINEs	14
2.5.3. Mecanismo de Indução de Úlcera Gástrica por Ácido Acético.....	16
2.6. Tratamento Medicamentoso.....	17
2.7. Uso de Plantas Medicinais do Cerrado Brasileiro.....	17
2.7.1. <i>Croton urucurana</i> Baillon.....	19
2.8. Ensaio Toxicológico.....	20
2.8.1. Exames Bioquímicos Relevantes à Toxicidade <i>In Vivo</i>	21
2.8.1.1. Aminotransferases.....	22
2.8.1.2. Uréia.....	22
2.8.1.3. Creatinina.....	23
2.8.1.4. Gama-Glutamiltransferase.....	23
3. OBJETIVOS.....	25
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
5. ANEXOS.....	34
5.1. Artigo Científico: Efeito antiulcerogênico da casca da <i>Croton urucurana</i> Baillon.....	34
5.2. Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal 121/10.....	55
5.3. Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal 041/11.....	56

1. INTRODUÇÃO

A úlcera péptica é uma doença em evidência no mundo (Falcão et al., 2008), considerada por alguns autores como um mal do século XXI (Hiruma-Lima et al., 2006). Apresenta prevalência na população mundial de 10%, sendo a incidência anual de 0,3% (Rodríguez-Hernández et al., 2001).

Esta enfermidade corresponde à degradação do tecido do trato gastrointestinal decorrente de um desequilíbrio entre o mecanismo de defesa da mucosa (secreção de muco, produção de bicarbonato, síntese de prostaglandina, colecistoquinina, somatostatina, regeneração celular e microcirculação do tecido) e da exposição a agentes agressores (ácido gástrico, sais biliares, motilidade anormal, pepsina) (Adeyemi et al., 2005), hábitos dietéticos inadequados, consumo exagerado de álcool, fumo, uso prolongado de drogas antiinflamatórias não esteroidais, estresse, infecção por *Helicobacter pylori*, herpes simples, além de outros fatores de origem genética, que podem provocar inflamação da mucosa gástrica (Falcão et al., 2008).

O tratamento medicamentoso desta doença, na prática clínica, consiste na administração de antiácidos, inibidores de bomba de prótons, anticolinérgicos e antagonistas de receptores para histamina (Coelho et al., 2009). Estes tratamentos apresentam diversos efeitos colaterais indesejáveis, tais como trombocitopenia, nefrite intersticial aguda, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade, reações anafiláticas, ginecomastia e impotência sexual (Donatini et al., 2009). Além destes efeitos colaterais, estes fármacos, no Brasil, apresentam um custo elevado, tornando restrito o uso pela população com menor poder aquisitivo (Hiruma-Lima et al., 2006).

Os efeitos colaterais, assim como o alto custo da terapêutica da úlcera péptica, contribuem à procura da população por tratamentos alternativos, como o uso da medicina popular por meio das plantas medicinais, já que em países em desenvolvimento, como o Brasil, cerca de 65-80% da população depende exclusivamente das plantas medicinais na atenção básica da saúde (WHO, 1999).

Dentre as plantas medicinais utilizadas pela população no tratamento da úlcera gástrica encontra-se a “sangra d’água”, de nomenclatura científica *Croton urucurana* Baillon (Alves et al., 2008), árvore nativa da região do cerrado, característica de matas

ciliares ou várzeas (Luchi, 2004), a qual é utilizada na forma de chá da casca para obter benefício no alívio e/ou tratamento de gastrites, úlceras e também dores nas costas (Alves et al., 2008), devido às propriedades antiinflamatórias, cicatrizantes e analgésica que a medicina popular atribui a ela (Peres et al., 1998).

A atividade antiulcerogênica da casca da *C. urucurana* não foi descrita na literatura científica até o momento, no entanto a sua ação antimicrobiana (Oliveira et al., 2008), antidiarréica (Gurgel et al., 2001) e cicatrizante (Esmeraldino et al., 2005) foram demonstradas em alguns estudos científicos.

Porém, a atividade antiulcerogênica de outra planta da mesma espécie e gênero (*Croton cajucara* Benth) da *C. urucurana* foi evidenciada (Hiruma-Lima, 2000) e a mesma já se encontra disponível à comercialização em farmácias de manipulação, por meio de cápsulas do pó da casca do caule (Maciel et al., 2002). Dentre os constituintes isolados da casca da *C. cajucara*, destaca-se o *trans*-desidrocrotonina como constituinte majoritário, com teor de 1,4%. No entanto, foi o 19-*nor*-clerodano *trans*-desicrotonina que mostrou correlação com grande parte das propriedades terapêuticas da planta, dentre elas a antiulcerogênica (Maciel et al., 2000).

Para avaliar o possível efeito antiulcerogênico (curativo e preventivo) de extratos de plantas e compostos puros com potencial terapêutico, foram desenvolvidos múltiplos modelos experimentais de úlcera gástrica, os quais, podem ser conduzidos de diferentes formas, utilizando diversos agentes indutores, dentre eles o etanol e a indometacina para modelo de úlcera aguda (Rodrigues et al., 2008), e o ácido acético para o modelo de úlcera crônica (Okabe e Amagase, 2005).

Considerando tais evidências, torna-se interessante investigar se a casca da *C. urucurana* apresenta efeito protetor e/ou curativo no tratamento de úlcera gástrica por meio de modelos experimentais em animais. E com isso, contribuir como subsídio para pesquisas com o objetivo de desenvolver terapias alternativas mais acessíveis à população, eficazes no tratamento, com baixa toxicidade e também com menores índices de reações adversas, valorizando plantas que possuem grande disponibilidade no Brasil, como é o caso da *C. urucurana* planta nativa do cerrado.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Anatomia Funcional do Estômago

O trato gastrointestinal é composto pelo trato digestivo (cavidade oral, esôfago, estômago, intestinos delgado e grosso) e glândulas anexas (glândulas salivares, fígado e pâncreas), ou seja, um conjunto diversificado de órgãos, os quais são responsáveis pela digestão das substâncias alimentares advindas da nutrição extracorpórea e absorção das moléculas de nutrientes para corrente sanguínea, além de servir como uma barreira de proteção a agentes nocivos entre o meio externo e interno (Howard, 2004; Merchant, 2007; Junqueira e Carneiro, 2008).

Dentre os órgãos constituintes do trato gastrointestinal, destaca-se o estômago, um órgão sacular com volume variável, em torno de 1200 mL a 1500 mL, podendo apresentar uma capacidade superior a 3000 mL (Cotran et al., 2000). Tal órgão apresenta a função de armazenar o alimento, iniciar a digestão de proteínas, eliminar as bactérias pela ação da acidez do suco gástrico e mover o alimento, já em forma pastosa (quimo), para o intestino delgado (Toso e Skilar, 2000; Wolfe e Sachs, 2000; Fox, 2007).

Anatomicamente, o estômago pode ser dividido em cinco regiões: cárdia, fundo, corpo, antro e esfíncter pilórico (Figura 1). A cárdia corresponde a parte mais estreita do órgão, próxima ao esôfago. O fundo localiza-se a esquerda do esôfago e apresenta a forma de cúpula que se estende na parte superior lateral à junção gastroesofágica. O corpo abrange a maior região anatômica, que segue até a incisura angular, onde inicia o antro, o qual é separado do duodeno pelo esfíncter pilórico (Cotran et al., 2000; Fox, 2007).

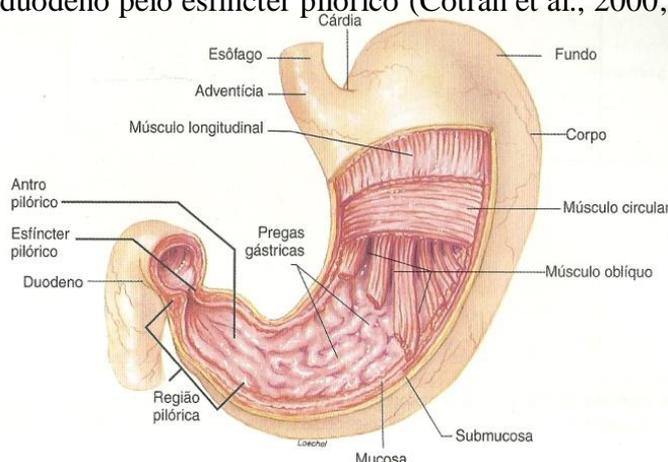


Figura 1 - Representação das cinco regiões anatômicas do estômago (Fox, 2007).

A parede do estômago é formada por quatro camadas ou tûnicas básicas que são comuns ao trato gastrointestinal (Figura 2): *mucosa*, reveste o órgão com uma camada de células epiteliais, uma de lâmina própria, que é composta por tecido conjuntivo frouxo, no qual as células epiteliais estão fixadas, e uma delgada camada de músculo liso, denominada muscular da mucosa; *submucosa*, espessa camada de tecido conjuntivo ou fibroso localizado sob a mucosa, que contém vasos sanguíneos, linfáticos, e em algumas regiões contém glândulas e plexos nervosos (o plexo mucoso ou plexo de *Meissner*, o qual confere o suprimento autônomo à muscular da mucosa); *muscular externa*, compreende a uma dupla camada de fibras musculares lisas (involuntárias), responsáveis pelos movimentos peristálticos, que conduzem o alimento ao longo do trato gastrointestinal misturando-o com as enzimas digestivas. Entre suas duas camadas existe o plexo mioentérico (plexo de *Auerbach*), que provê o principal suprimento nervoso do trato gastrointestinal; *serosa*, camada mais externa constituída por tecido conjuntivo recoberto por uma camada de tecido epitelial, a qual tem a função de proteção (Spence, 1991; Silverthorn, 2003; Fox, 2007).

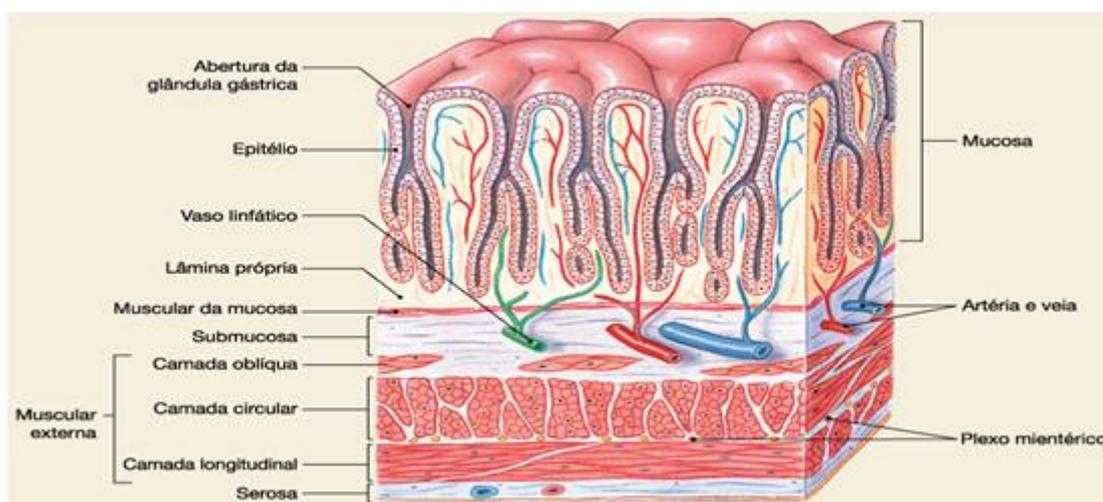


Figura 2 - Representação esquemática das camadas do estômago (Silverthorn, 2010).

Na mucosa, o estômago possui longas dobras denominadas fossetas, e a abertura delas no lúmen gástrico correspondem as fossetas gástricas. As células que revestem fossetas da mucosa secretam várias substâncias, as quais formam as glândulas gástricas exócrinas, que, conforme Fox (2007), constituem-se de diversos tipos celulares:

- a) Células caliciformes: secretoras de muco;
- b) Células parietais: secretoras de ácido clorídrico, bicarbonato e fator intrínseco;

- c) Células principais ou zimogênicas: secretoras de pepsinogênio, uma forma inativa da enzima pepsina e lipase;
- d) Células semelhante às enterocromafins, situadas no estômago e também no intestino que secretam histamina e serotonina como reguladores parácrinos do trato gastrointestinal;
- e) Células G: secretoras do hormônio gastrina para corrente sanguínea;
- f) Células D: secretoras do hormônio somatostatina.

As células parietais presentes na mucosa gástrica, secretam um polipeptídeo denominado fator intrínseco, necessário para a absorção de vitamina B₁₂ no intestino (Merchant, 2007). As secreções exócrinas das células gástricas, juntamente com uma grande quantidade de água (2 a 4 L/dia), formam o suco gástrico, solução extremamente ácida (Fox, 2007).

2.2. Secreção Gástrica

O estômago secreta aproximadamente 2,5 L de suco gástrico todos os dias, sendo a principal secreção exócrina, o pepsinogênio (Rang et al., 2004). O muco é secretado por células caliciformes situadas entre as células superficiais por toda a mucosa gástrica (Silverthorn, 2003). Já os íons de bicarbonato após secretados são aprisionados no muco, permitindo um gradiente de pH de 6-7 na superfície mucosa, sendo que na luz estomacal o pH é em torno de 1-2 (Rang et al., 2004).

Ambos, muco e bicarbonato, formam uma camada semelhante a um gel, a qual protege a mucosa contra a ação digestiva do próprio suco gástrico (Laine et al., 2008). Agentes agressores, tais como álcool e bile podem destruir tal camada, já as prostaglandinas produzidas localmente estimulam a secreção de muco e bicarbonato (Rang et al., 2004).

A regulação da secreção ácida pelas células parietais apresenta papel relevante na formação da úlcera péptica, sendo considerado um alvo específico para a ação de fármacos (Wolfe e Sachs, 2000; Yuan et al., 2006).

As células parietais secretam H⁺ para o interior do lúmen gástrico, por transporte ativo envolvendo transportadores que atuam como uma ATPase e geram um pH abaixo de 1,0 (até 0,8). Tais transportadores são conhecidos como bombas de ATPase de H⁺/K⁺, e transportam H⁺ contra o gradiente de concentração para o interior do lúmen gástrico

enquanto transportam K^+ na direção oposta. Simultaneamente, a membrana basolateral da célula parietal carrega o Cl^- contra seu gradiente eletroquímico, ativado pelo movimento descendente do HCO_3^- . O bicarbonato é produzido na célula parietal pela dissociação do ácido carbônico, produzido a partir do gás carbônico e da água pela reação catalisada pela enzima anidrase carbônica. Por isso, a célula parietal pode secretar Cl^- por difusão facilitada, assim como H^+ para o interior do suco gástrico, enquanto secreta bicarbonato para a corrente sanguínea (Figura 3) (Fox, 2007).

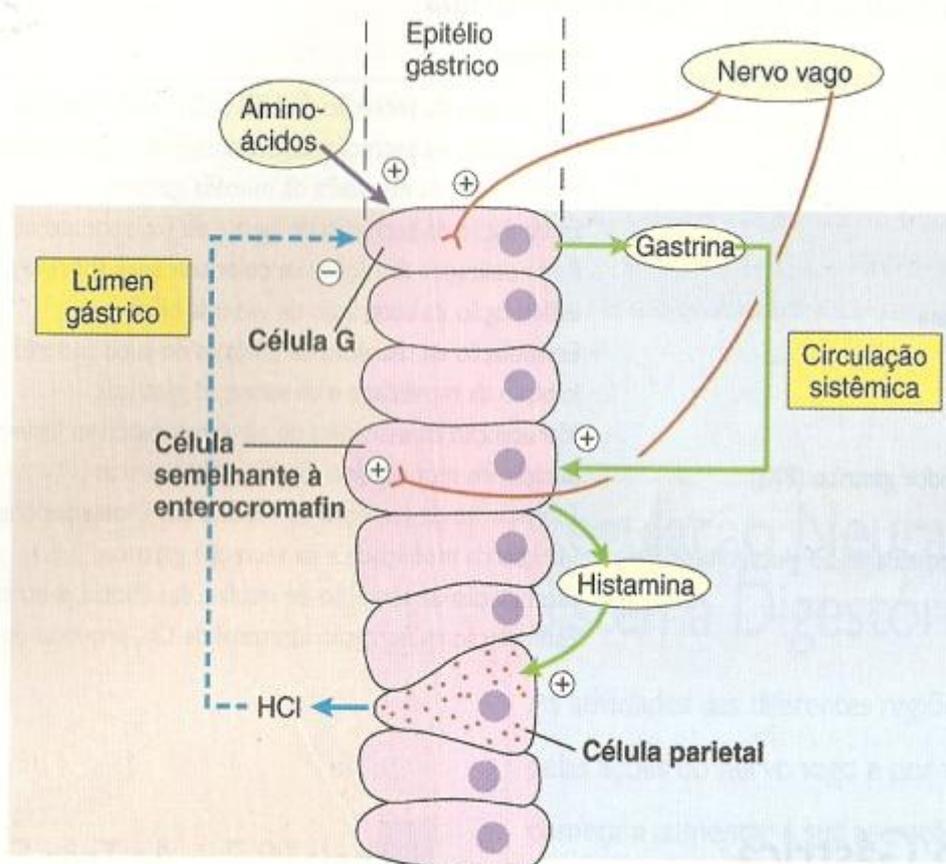


Figura 3 - Secreção de ácido gástrico pelas células parietais. A presença de aminoácidos no lúmen gástrico estimula a secreção de gastrina, a qual também é estimulada pela atividade do nervo vago. Esta gastrina atua como um hormônio estimulando a liberação de histamina das células semelhantes às enterocromafins. A histamina atua como um regulador parácrino estimulando as células parietais a secretarem HCL (+: estimulação; -: inibição) (Fox, 2007).

Os estímulos que atuam na secreção de ácido clorídrico são divididos em fases: fase cefálica, a qual é iniciada pela visão, cheiro, paladar, mastigação e deglutição do alimento, sendo mediada pela atividade vagal; fase gástrica, que envolve estímulo mecânico de receptores pela digestão gástrica, mediado por impulsos vagais e pela

liberação da gastrina, a qual também é induzida por aminoácidos e peptídios luminais; fase intestinal, que se inicia após a chegada do alimento contendo proteínas digeridas no intestino delgado, e envolve um peptídeo distinto da gastrina (Cotran et al., 2000).

Todos estes estímulos convergem na célula parietal, já que os nervos aferentes vagais cefálicos e gástricos estimulam diretamente a célula parietal por meio de receptores colinérgicos muscarínicos para acetilcolina e, a gastrina provavelmente ativa um receptor específico também presente na célula parietal (Schubert e Peura, 2008). Além disso, junto com a gastrina, a acetilcolina induz a liberação de histamina pelas células semelhantes às enterocromafins, estimulando assim o receptor histamínico tipo 2 nas células parietais (Schubert e Peura, 2008).

Logo, a gastrina (hormônio), acetilcolina (neurotransmissor) e a histamina (peptídeo parácrino) atuam diretamente na célula parietal. A gastrina corresponde a um hormônio peptídico, que tem por função principal estimular a secreção de ácido pelas células parietais e, além disso, aumenta indiretamente a secreção de pepsinogênio, estimula o fluxo sanguíneo e a motilidade gástrica (Schubert e Peura, 2008), sendo sua produção inibida quando o pH encontra-se igual ou inferior a 2,5 (Rang et al., 2004). Já a acetilcolina, estimula todos os tipos de células secretoras das glândulas gástricas, incluindo a secreção de pepsinogênio pelas células principais, de ácido clorídrico pelas células parietais e muco pelas células da mucosa. No entanto, é a histamina o principal mediador fisiológico na secreção de ácido clorídrico (Silverthorn, 2003).

A ação destes três secretagogos sobre a célula parietal ainda não está totalmente elucidada, mas sabe-se que dois estimulantes detém ação de potenciação quando o efeito da sua administração simultânea excede a soma das respostas individuais, por exemplo, no estômago, a histamina potencializa os efeitos da gastrina e da acetilcolina nas células parietais (Rang et al., 2004).

Com relação ao mecanismo de ação destes secretagogos sobre a célula parietal existem duas teorias. A primeira compreende a hipótese da célula única, na qual a célula parietal possui receptores H_2 para histamina, receptores M_3 muscarínicos para acetilcolina e receptores de gastrina. A estimulação dos receptores H_2 aumentam a adenosina monofosfato cíclica, enquanto a estimulação de gastrina e dos receptores M_3 acoplados a proteína G que induzem a ativação da fosfolipase C com a geração de IP_3 e liberação de cálcio intracelular. Esses mensageiros atuam diretamente na célula parietal, de modo sinérgico, produzindo a secreção ácida. Já com relação à segunda teoria, de duas células, a

gastrina e a acetilcolina atuam apenas por meio da liberação da histamina, ou parcialmente ao liberar histamina, e em parte, ao exercer ação direta sobre seus respectivos receptores na célula parietal (Rang et al., 2004).

Além disso, ressalta-se a complexidade da secreção gástrica, já que esta depende de mecanismos neurais, hormonais, parácrinos e autócrinos tanto em nível central quanto periférico (Silverthorn, 2003).

2.3. Fatores Protetores da Mucosa Gástrica

A mucosa gástrica preserva sua integridade estrutural e funcional apesar da contínua exposição a fatores nocivos, incluindo o ácido clorídrico e a pepsina, os quais são capazes de digerir o tecido gástrico. No entanto, graças aos mecanismos de defesa, tal digestão não acontece (Laine et al., 2008).

Este mecanismo é mantido pelos fatores ditos pré-epiteliais como o muco, bicarbonato e fosfolipídeos; uma superfície das células epiteliais justapostas que secretam muco, produzem bicarbonato, peptídeos, prostaglandinas e *heat shock proteins*; renovação celular contínua realizada pela proliferação de células progenitoras (reguladas por fatores de crescimento e prostaglandinas E₂); fluxo sanguíneo contínuo devido aos microvasos da mucosa; uma barreira endotelial com inervação sensitiva; óxido nítrico (Laine et al., 2008), assim como de compostos sulfidrílicos (Takase et al., 1991; Ueshima et al., 1992; Kato et al., 2009).

2.3.1. Muco e Bicarbonato

A barreira pré-epitelial é constituída pelo muco, bicarbonato e fosfolipídeos surfactantes que cobrem a superfície da mucosa. Esta camada retém bicarbonato secretado pelas células epiteliais para manter o pH neutro na superfície epitelial e impedir a penetração de pepsina e a digestão proteolítica do epitélio de superfície (Atuma et al., 2001; Allen e Flemstrom, 2005).

O muco é um importante fator protetor à mucosa gástrica e consiste em um gel transparente, viscoso, elástico e aderente, constituído por 95% de água e 5% de glicoproteínas que cobre toda a mucosa gastrointestinal (Repetto e Llesuy, 2002; Laine et al., 2008). Vale ressaltar que a propriedade protetora do muco depende não somente da

estrutura do gel, mas também da espessura e da aderência da camada na superfície da mucosa (Atuma et al., 2001).

Com relação ao bicarbonato, sua produção na camada aderente ao muco cria um gradiente de pH quase neutro na superfície epitelial do estômago, proporcionando a primeira linha de defesa da mucosa contra o ácido luminal. A função primária da secreção de bicarbonato da mucosa é impedir a difusão do ácido na camada de gel de muco e ser quantitativamente suficientes para manter um pH neutro entre a superfície da mucosa e o muco. Evidências sugerem que em condições fisiológicas normais, a barreira de bicarbonato junto ao muco é suficiente para a proteção da mucosa gástrica contra o ácido e pepsina, apresentando também proteção ao duodeno (Allen e Flemstrom, 2005).

2.3.2. *Prostaglandinas*

As prostaglandinas (PGs) são um grupo de ácidos graxos de 20 carbonos ligados a átomos de oxigênio que estão presentes em muitas células dos tecidos dos mamíferos. Várias PGs foram identificadas, no entanto, centenas foram sintetizadas como análogas ou derivadas das naturais. Embora sua maior concentração seja no líquido seminal, a mucosa gastrointestinal contém quantidades relativamente grandes de PGs, sendo que no tecido gástrico destacam-se as prostaciclina (PGI_2) e a prostaglandina E_2 (PGE_2) (Robert, 1979).

Quase todos os mecanismos de defesa da mucosa são estimulados e/ou facilitados pelas PGs, já que estas inibem a secreção ácida, estimulam a produção de muco, bicarbonato, a secreção de fosfolípidos, aumentam o fluxo sanguíneo, a restituição epitelial e a cicatrização da mucosa (Laine et al., 2008).

2.3.3. *Fluxo Sanguíneo*

Subjacente a superfície do epitélio do estômago há uma densa rede de capilares, a qual além de fornecer nutrientes e oxigênio para o epitélio, também remove, dilui e neutraliza substâncias tóxicas que são difundidas na mucosa do lúmen. Quando o epitélio apresenta-se lesionado, o fluxo sanguíneo desempenha papel fundamental na criação de um microambiente no local propício para o reparo, ou seja, a microcirculação age como fator de proteção subepitelial da mucosa (Wallace e Granger, 1996). Ressalta-se que sua

redução está relacionada com as lesões na mucosa gástrica causadas por estresse, etanol e antiinflamatórios não esteroidais (Kawano e Tsuji, 2000).

O fluxo sanguíneo é controlado pelo sistema nervoso e por diversos mediadores inflamatórios, tais como o óxido nítrico, bradicinina e prostaglandinas. A difusão de ácidos ou toxinas é resultante do aumento do fluxo sanguíneo da mucosa mediada pelos neurônios sensoriais aferentes que são fundamentais para limitar os danos e facilitar a reparação tecidual. O sangue dilui e/ou neutraliza o ácido ou toxina para impedir que tais substâncias se acumulem na mucosa em concentrações citotóxicas (Wallace e Ma, 2001).

Devido à microcirculação sanguínea, a mucosa gástrica pode ficar exposta a altas concentrações de ácido sem ocorrer lesão epitelial significativa (Laine et al., 2008). Em parte, a proteção deve-se a rápida resposta da musculatura vascular em detectar a presença de ácido na mucosa superficial, de tal forma que é possível diluir e removê-lo. Isso acontece graças ao reflexo dos neurônios aferentes, os quais detectam a presença de ácido, que respondem por meio da liberação, nas arteríolas da submucosa, do vasodilatador peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), que promove o relaxamento do músculo liso ao redor das arteríolas, resultando no aumento do fluxo sanguíneo (Wallace e Ma, 2001).

O efeito relaxante do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina sobre o músculo vascular é, em grande parte, mediado via óxido nítrico, mas existem também evidências do envolvimento de prostaglandinas. A interrupção desta resposta com o uso de antagonistas de peptídeo relacionado ao gene da calcitonina, antiinflamatórios não esteroidais, inibidores de óxido nítrico, ou devido a distúrbios dos neurônios aferentes, torna a mucosa susceptível a lesões gástricas (Wallace, 2008).

2.3.4. Óxido Nítrico

O óxido nítrico contribui na manutenção da integridade da mucosa por estar envolvido na regulação do fluxo sanguíneo, da secreção gástrica, e por contribuir na síntese de prostaglandinas (Wallace e Ma, 2001; Wallace, 2008). O seu papel endógeno está associado com as prostaciclina, ambos, mantem a viabilidade endotelial e previnem a aderência plaquetária de leucócitos nas células endoteliais de microvasos (Matsuda et al., 1999).

A produção de óxido nítrico é realizada a partir de três isoenzimas, classificadas em óxido nítrico sintetase neural (nNOS/NOS1), endotelial (eNOS/NOS3) e induzível (iNOS/NOS2). As duas primeiras são expressas em várias células sob condições normais e são denominadas de óxido nítrico sintetase constitutivas (cNOS), enquanto iNOS não é expressa constitutivamente, mas sim induzida por vários fatores, tais como pelas citocinas e lipopolissacarídeos. No trato gastrointestinal, o óxido nítrico é sintetizado pelas cNOS (Kato et al., 2009; Seo et al., 2009).

Estudos demonstram que o pré-tratamento com L-NAME (N ω -nitro-L-arginina metil-éster), um inibidor de óxido nítrico sintetase, acentua as lesões gástricas induzidas por etanol (Matsuda et al., 1999), pois a inibição pode resultar em distúrbios de motilidade gastrintestinal, no fluxo de sangue, na secreção gástrica, entre outros distúrbios (Wallace e Ma, 2001).

2.3.5. Compostos Sulfidrílicos

Os compostos sulfidrílicos, principalmente os existentes na glutatona intracelular, são reconhecidos por participarem da regulação fisiológica de diversas funções no organismo (Kato et al., 2009). Vários relatos demonstram o papel protetor dos compostos sulfidrílicos, incluindo os sulfetos de hidrogênio, no estômago contra vários agentes ulcerogênicos (etanol e antiinflamatórios não esteroidais) (Takase et al., 1991; Ueshima et al., 1992). Também foi relatado que a glutatona reage com o óxido nítrico para gerar potenciais doadores de óxido nítrico, tais como S-nitroglutaciona, que apresentam efeitos fisiológicos e de proteção semelhantes ao do óxido nítrico tanto no sistema cardiovascular quanto no sistema gastrointestinal (Kato et al., 2009).

Tais compostos sulfidrílicos desempenham um importante papel na citoproteção da mucosa gástrica (Okabe, 1986), pois no processo inflamatório espécies reativas de oxigênio são liberadas, as quais iniciam uma reação de peroxidação lipídica e morte celular (Repetto e Llesuy, 2002), e os compostos sulfidrílicos atuam na proteção da mucosa por se ligarem a estes radicais livres, evitando assim a morte celular, e conseqüentemente a lesão gástrica (Ueshima et al., 1992).

Eles fazem parte das pontes de dissulfeto, as quais são importantes na manutenção do muco gastrointestinal, já que as subunidades de glicoproteínas são unidas por elas, sendo responsáveis também por conferir a característica hidrossolúvel do muco (Salim, 1992).

Vale ressaltar que o pré-tratamento com bloqueadores de grupamentos sulfidrílicos, como N-ethylmaleimide (NEM), em modelos animais de indução de úlcera gástrica, potencializa significativamente a formação das lesões gástricas. Em contrapartida, o aumento dos mesmos promovem a gastroproteção (Okabe et al., 1986).

2.4. Fisiopatologia da Úlcera Gástrica

A úlcera péptica abrange tanto as úlceras gástricas quanto as duodenais (Malfertheiner et al., 2009), e ambas compreendem à perda circunscrita do tecido que acomete porções do trato digestório expostas a secreção cloridopéptica. As úlceras pépticas podem se desencadear no terço inferior do esôfago, estômago, duodeno proximal e divertículo de Meckel com mucosa gástrica ectópica (Carvalho, 2000).

A sua patogênese é complexa e multifatorial, e tem sido estudada por várias décadas, e apesar da evolução do conhecimento da úlcera péptica, a mesma ainda não se apresenta totalmente elucidada com explicações acerca do mecanismo que desencadeia o desequilíbrio entre os fatores protetores e agressivos da mucosa (Malfertheiner et al., 2009; Moraes et al., 2009).

Vale ressaltar que a etiologia da hipersecreção gástrica associada com gastrinoma da síndrome de Zollinger-Ellison, hiperplasia das células G do antro do estômago, aumento da massa das células parietais, desequilíbrio entre hormônios antagonistas gástricos, gastrina e somatostatina, é ainda uma importante questão referente à doença péptica (Yuan et al., 2006).

Com relação a úlcera gástrica, a lesão da mucosa acontece a partir do desequilíbrio entre os fatores protetores e agressores, que propiciam a perda da proteção da mucosa, devido à deficiência das secreções de bicarbonato e muco, e ainda dificuldade na re-epitelização do tecido. Com isso, a mucosa gástrica fica permeável ao ácido, favorecendo sua destruição (Malfertheiner et al., 2009).

O contato do ácido com os mastócitos da submucosa e da lâmina própria ativa a desgranulação dos mesmos e a liberação de histamina. Esta estimula a secreção da célula parietal de ácido clorídrico, além de produzir inflamação e edema agudo no local. O ácido

também é capaz de lesionar os vasos sanguíneos e estimular os nervos da parede gástrica provocando contrações exacerbadas, favorecendo a úlcera gástrica (Rodrigues et al., 2008)

2.5. Modelos de Indução da Úlcera Gástrica em Animais

2.5.1 Mecanismo de Úlcera Gástrica Induzida por Etanol

A administração aguda de etanol em ratos, proporciona lesões na mucosa do estômago similares ao que ocorre na úlcera gástrica em humanos (Bilici et al., 2002; Repetto e Llesuy, 2002). Tal procedimento pode ser realizado por meio de simples administração intragástrica de etanol em diferentes concentrações (50 a 100%) (Glavin e Szabo, 1992).

O álcool rapidamente penetra a mucosa gastroduodenal, e desencadeia um aumento subsequente da permeabilidade da mucosa junto com a liberação de produtos vasoativos dos macrófagos e outras células, os quais podem promover a injúria vascular, necrose e, conseqüentemente, a formação da úlcera (Bilici et al., 2002). Além disso, tal processo lesivo, induzido tanto pela toxicidade crônica e aguda do etanol, também pode estar associado à geração de espécies reativas tóxicas que desencadeiam um desequilíbrio no processo celular, como a peroxidação lipídica (Glavin e Szabo, 1992).

O processo de peroxidação lipídica é mediado pela interação dos radicais hidroxilas com a membrana das células, que produzem radicais livres, tais como os dienos conjugados e peróxidos lipídicos, que são conhecidos por serem produtos altamente reativos e que causam dano oxidativo. Este processo de peroxidação é ativado pelo etanol, pois ele aumenta a produção do ânio superóxido, radical hidroxila, lesionando assim a mucosa gástrica (Repetto e Llesuy, 2002).

Além disso, a exposição da mucosa gástrica ao etanol induz o estresse oxidativo também pelo fato do mesmo diminuir a liberação de óxido nítrico, e conseqüentemente aumentar a expressão de radicais livres, já que o óxido nítrico é responsável por controlá-los (Repetto e Llesuy, 2002). O óxido nítrico também apresenta papel vasodilatador, cuja função é melhorar a circulação sanguínea da área afetada, sendo que o etanol, ao diminuir a produção do óxido nítrico, provoca prejuízo na vascularização, desencadeando lesão na mucosa gástrica (Glavin e Szabo, 1992).

Outro mecanismo pelo qual o tratamento agudo com etanol gera estresse oxidativo equivale ao aumento da atividade da enzima xantina oxidase, que converte o aldeído em acetato, com a produção de radicais livres (Shaw et al., 1990), e também por reduzir os níveis de glutathiona nas células da mucosa gástrica (Loguercio et al., 1993).

Cabe destacar que quando o sistema de defesa antioxidante apresenta-se insuficiente, os radicais livres se acumulam, causando injúria nas membranas celulares, danos oxidativos e até a morte celular (Repetto e Llesuy, 2002).

Além disso, a hipótese do mecanismo de vasoconstrição nas veias e artérias da mucosa gástrica podem desencadear congestão, inflamação e injúria do tecido. Sendo que a lesão consequente do etanol depende da dose e pode ser prevenida pela produção de prostaglandina, a qual inibe a motilidade gástrica e aumenta a secreção de muco (Repetto e Llesuy, 2002).

Sabe-se que as lesões da mucosa gástrica provocadas pelo etanol não são inibidas por agentes anti-secretores do tipo antagonista do receptor H_2 , como a cimetidina, mas sim por realçadores dos fatores defensivos da mucosa (Morimoto et al., 1991). Dentre eles, destacam-se os inibidores de bomba de prótons (H^+/K^+ ATPase), os quais inibem a secreção ácida por se ligarem aos resíduos do aminoácido cisteína (fator determinante para desencadear o processo) em uma subunidade da bomba de prótons (Padilla e Noriega, 2001).

A exemplo destes inibidores, destaca-se o lansoprazol, fármaco amplamente utilizado no tratamento de úlceras pépticas (Padilla e Noriega, 2001; Miner et al., 2003; Sener et al., 2004), que tem demonstrado eficiência na cura/tratamento da lesão gástrica provocada pelo etanol, tanto nos seres humanos, como nos animais. Estudos associam esta propriedade à atividade antissecretora de ácido desencadeada pela inibição da bomba de prótons e também pela possível ação antioxidante do mesmo (Sener et al., 2004), tornando-se assim, relevante o uso desta droga no tratamento dos animais com a úlcera gástrica induzida pelo etanol.

2.5.2. Mecanismo de Úlcera Gástrica Induzida por AINEs

Os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs) correspondem aos agentes farmacológicos mais utilizados na prática clínica, devido ao seu amplo espectro de indicações terapêuticas, tais como analgesia, antiinflamação, profilaxia contra doenças

cardiovasculares, importante analgésico pós-operatório, desempenhando grande eficácia (Kummer e Coelho, 2002). No entanto, as lesões agudas gastrointestinais são os efeitos colaterais mais graves e frequentes dos AINEs, o que os tornam responsáveis pela causa mais comum do desenvolvimento de úlceras gastroduodenais nos países ocidentais (Glavin e Szabo, 1992; Yuan et al., 2006) e no mundo (Chan e Sung, 2001).

Em torno de 15 a 30% dos usuários regulares de AINEs tem uma ou mais úlceras quando examinados endoscopicamente, e 3 a 4% destes usuários tem eventos gastrointestinais expressivos, incluindo úlcera e suas complicações (Yuan et al., 2006). Kummer e Coelho (2002) complementam que o risco de ulceração e perfuração nestes pacientes é de 3 a 4 vezes maior do que nos indivíduos que não utilizam os AINEs.

Tais agravos no tecido da mucosa gastrointestinal ocorrem devido à inibição da enzima ciclooxigenase (COX), a qual se diferencia em pelo menos duas isoformas (COX-1 e COX-2) e detém diferenças na sua regulação e expressão. Vale ressaltar que a atividade de ambas é inibida por todos os AINEs, porém em níveis variáveis (Monteiro et al., 2008).

A COX-1, designada como constitutiva, contribui na integridade da mucosa gastroduodenal, homeostase vascular, agregação plaquetária e modulação do fluxo plasmático renal. Já a COX-2, corresponde à enzima indutível, com relevância na modulação do fluxo sanguíneo glomerular e balanço hidroeletrolítico. Sua expressão na maioria dos tecidos é indetectável, no entanto, no processo inflamatório esta se encontra aumentada, e ainda, a presença de glicocorticóides inibe a COX-2, o que pode explicar seus efeitos antiinflamatórios (Watts, 2008).

Dentre estas duas isoformas, o mecanismo sistêmico de inibição da COX-1 na mucosa gastrointestinal pelos AINEs independe do método de administração, ou seja, tanto a administração intramuscular ou intravenosa desencadeiam úlceras gástricas ou duodenais (Monteiro et al., 2008).

A COX-1 é responsável pela produção das prostaglandinas citoprotetoras, as quais apresentam a função de manter a integridade da mucosa, pois agem inibindo a secreção ácida do estômago, além de aumentar a secreção de bicarbonato e melhorar a microcirculação da mucosa (Kummer e Coelho, 2002). Tais prostaglandinas são formadas, sob o comando da COX-1, a partir da conversão do ácido aracdônico. Com isso, a inibição da conversão do ácido aracdônico impede tanto a formação das prostaglandinas como também dos tromboxanos, o que compromete a agregação plaquetária, e, por conseguinte,

favorece o desenvolvimento de sangramento gástrico (Yuan et al., 2006; Monteiro et al., 2008).

Dentre os AINEs existentes no mercado, o sulindac, o meclofenamato sódico e a indometacina, apresentam acentuada recirculação entero-hepática, o que aumenta os efeitos tóxicos destes fármacos (Monteiro et al., 2008). Com relação à indometacina, segundo Glavin e Szabo (1992), a administração deste AINEs representa um modelo muito simples e eficaz para o estudo de gastropatia induzida em animais, pois ela atua inibindo a síntese de prostaglandinas e, conseqüentemente, diminuindo os mecanismos de citoproteção da mucosa gástrica mediadas por estas substâncias (Evans, 1996).

Neste mecanismo de indução de úlcera, o tratamento com bloqueadores de histamina é eficaz, pois os mesmos competem com os receptores de histamina das células parietais produtoras de ácido, tornando-as menos responsivas a estimulação histamínica, ocorrendo o mesmo com relação à estimulação pela acetilcolina e gastrina, mas com interações pró-receptoras (Giglio et al., 1993).

Os bloqueadores de histamina cimetidina e a ranitidina, tornaram-se drogas populares no tratamento de úlcera péptica, após sua introdução no mercado na década de 70 por James Black (Glavin e Szabo, 1992), o que proporcionou durante a década de 80 uma redução de 85% nas cirurgias eletivas de úlcera péptica, devido aos bloqueadores (Yuan et al., 2006).

Em um estudo clínico realizado por Lancaster-Smith et al. (1991), estes antagonistas histamínicos proporcionaram a cura de úlceras pépticas não complicadas desencadeadas pelos AINEs, em mais de 90% dos participantes do estudo com tratamento de oito semanas, demonstrando a sua eficácia no tratamento.

2.5.3. Mecanismo de Indução de Úlcera Gástrica por Ácido Acético

Este modelo foi assumido como sendo um dos únicos modelos para averiguar o processo de cicatrização da úlcera gástrica, o qual é muito semelhante à doença humana, nas características patológicas (por necrosar a mucosa gástrica) e nos mecanismos de cura (Takagi et al., 1969).

Tal procedimento para a indução de úlcera por ácido acético é relativamente simples, com incidência de 100% quando o procedimento é efetivo. Este método requer a

realização de uma laparotomia nos animais anestesiados, seguida pela injeção do ácido acético na camada submucosa do estômago. Em torno da borda da úlcera são observados exsudados de leucócitos, edema e infiltração celular. A úlcera produzida se propaga por uma área relativamente grande que não cicatriza com o tempo, podendo persistir por mais de 250 dias sem intervenção, sendo que estudos demonstraram que 1,5 ano após o procedimento, a úlcera persiste com prevalência de 50% (Okabe e Amagase, 2005).

2.6. Tratamento Medicamentoso

Por mais de séculos, a úlcera péptica foi tratada com intervenções cirúrgicas, resultando em altas taxas de morbidade e mortalidade. A supressão farmacológica efetiva da secreção de ácido iniciou-se na década de 70, com a introdução de antagonista dos receptores H_2 de histamina, da célula parietal, o que melhorou muito os resultados clínicos (Yuan et al., 2006).

Posteriormente, desenvolveram os inibidores da bomba de prótons, os quais inibem a bomba de H^+ , K^+ -adenina trifostase nas células parietais, resultando na supressão da secreção gástrica (Miner et al., 2003). O primeiro deles foi o benzimidazol substituído pelo omeprazol. Atualmente existem outros, tais como o lansoprazol e o pantoprazol (Rang et al., 2004).

Conforme Rang et al., (2004), os fármacos utilizados para a terapêutica da úlcera gástrica podem ser classificados conforme seu mecanismo de ação: *drogas que inibem ou neutralizam a secreção de ácido gástrico*, os antagonistas de receptores de H_2 da histamina (cimetidina, ranitidina, nizatidina e famotidina); *inibidores da bomba de prótons, H^+/K^+ - ATPase*, que atuam na fase terminal da via da secreção ácida (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol); *antiácidos* que neutralizam o ácido gástrico (hidróxido de magnésio, trissilicato de magnésio, gel de hidróxido de alumínio, bicarbonato de sódio e alginatos); *drogas que protegem a mucosa*, classificadas como citoprotetores, pois são capazes de potencializar os mecanismos de proteção da mucosa e/ou promover uma barreira física sobre a superfície ulcerada (quelato de bismuto, sucralfato e misoprostol).

2.7. Uso de Plantas Medicinais do Cerrado Brasileiro

A terapêutica por meio das plantas medicinais para o tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das modalidades de prática medicinal mais antiga da humanidade (Veiga Júnior e Pinto, 2005; Ustulin et al., 2009), sendo que o uso de ervas medicinais pode ter sido originária na China há 5.000 anos atrás (Repetto e Llesuy, 2002).

Apesar do grande desenvolvimento da medicina alopática nos últimos anos, esta terapia não é acessível a todos (Veiga Júnior e Pinto, 2005). Em consequência dessa realidade, o uso das plantas medicinais em determinadas populações rurais de países em desenvolvimento compreende o único recurso disponível para tratar doenças (Pasa et al., 2005; Agra et al., 2007).

Sendo assim, o conhecimento adquirido, repassado de geração a geração, sobre as plantas medicinais tem papel relevante para o desenvolvimento desta terapêutica (Silva et al., 2006). E a partir destes relatos, a ciência realiza pesquisas, por meio dos estudos etnobotânicos, os quais abordam o conhecimento de uma determinada população com relação ao uso de plantas, e a partir destes dados subsidia a realização de pesquisas farmacológicas e fitoquímicas (Amoroso, 1996).

O desenvolvimento de pesquisas nesta área, de caráter multidisciplinar, é necessário para desvendar qual a ação das plantas, os seus efeitos tóxicos e colaterais (Veiga Júnior e Pinto, 2005), e contribuir para o desenvolvimento de novos fármacos sintéticos, como matéria prima farmacêutica, com menor toxicidade e maior eficiência, além de acessíveis à população (Ustulin et al., 2009).

Além disso, para a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos vigente no Brasil, o uso destes materiais vegetais, de forma segura, respeitando as normas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, assim como as concentrações e métodos de preparação, para fins terapêuticos, contribui para a acessibilidade aos medicamentos pela população, à inclusão social e regional, ao desenvolvimento industrial e tecnológico, além do uso sustentável da biodiversidade brasileira e da valorização e preservação do conhecimento cultural (Ministério da Saúde, 2006).

Vale ressaltar, que o Brasil compreende a maior biodiversidade do mundo, devido a sua rica flora, despertando interesses de comunidades científicas internacionais para o estudo, conservação e utilização racional destes recursos (Ministério da Saúde, 2006; Souza e Felfili, 2006).

Com relação ao estado de Mato Grosso do Sul, este pertence à região do cerrado, a qual engloba os estados de Goiás, Tocantins, Distrito Federal, parte da Bahia, Ceará,

Maranhão, Minas Gerais, Piauí, Rondônia, São Paulo, Mato Grosso, correspondendo a segunda maior área do país com 23% do território nacional, sendo superado apenas pelo bioma da floresta amazônica (Ribeiro, 1998; Souza e Felfili, 2006).

No cerrado, diversas plantas são utilizadas pela população e ditas como medicinais, no entanto, poucas são estudadas cientificamente para averiguar se a ação etnofarmacológica apresenta realmente ação farmacológica e não são tóxicas (Veiga Júnior e Pinto, 2005).

2.7.1. *Croton urucurana* Baillon

Da família *Euphorbiaceae*, o gênero *Croton* é um dos maiores, com cerca de 1.300 espécies (Simionatto et al., 2007), distribuídos entre as Américas e a Ásia (Oliveira et al., 2008). Dentre as espécies deste gênero, encontra-se a *Croton urucurana* Baillon, conhecida como “sangra d’água” ou “sangue de drago” (Luchi, 2004). Esta nomenclatura popular é designada em consequência da cor da seiva, vermelho-sangue, que é liberada quando seu tronco ou casca são cortados (Simionatto et al., 2007).

A sangra d’água corresponde a uma espécie arbórea decídua, heliófila, pioneira, seletiva higrófila, característica de matas ciliares ou várzeas, situadas em solos permanentemente muito úmidos, encharcados ou brejos, sendo geralmente encontrada nos estados do Rio Grande do Sul, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro e também na Bahia. A sua florescência acontece durante um longo período do ano, iniciando em dezembro e estendendo-se até junho, sendo a frutificação quase simultânea, iniciando em fevereiro até julho (Lorenzi, 2002).

Esta árvore é notoriamente apreciada devido à medicina popular que emprega suas propriedades para o tratamento de cânceres, reumatismos, feridas, diarreia, infecções (Gurgel et al., 2001), além de propriedades antibactericida, antihemorrágica, antiviral, anti-inflamatórias, analgésicas e antioxidante, sendo utilizada para combater úlceras de estômago e no intestino (Peres et al., 1998). Sua relevância medicinal fundamenta-se em sua seiva (látex) e casca (Scalon et al., 2008).

A partir do extrato metanólico da casca da *Croton urucurana*, em um estudo com o objetivo de avaliar sua ação antimicrobiana, foram isolados compostos como o ácido acetilauritólico, catequinas, sonderianina, além dos esteóides: β -sitosterol, estigmasterol, campesterol, β -sistosterol-O-glucosídeo, sendo que frações do ácido acetilauritólico e

catequinas foram testadas contra *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium*, e em ambos foi verificado efeito antimicrobiano, sendo o primeiro dez vezes superior nesta atividade, o que corrobora com o conhecimento popular (Peres et al., 1997).

Em outro estudo, que teve o intuito de averiguar a ação antihemorrágica desencadeada pelo veneno da *Bothrops jararaca*, comprovou-se a atividade da sangra d'água, utilizando-se também extrato da casca, do qual foi isolado as proantocianinas, que se apresentaram como um poderoso antídoto contra o veneno da *B. jararaca* (Esmeraldino et al., 2005). A propriedade antidiarréica também foi evidenciada, em outra pesquisa, com a administração via oral do extrato do látex desta planta, no entanto, os compostos ativos não foram analisados (Gurgel et al., 2001).

Na literatura científica, não se encontrou estudos relacionadas à atividade antiulcerogênica da casca da *C. urucurana*. No entanto, há indícios, além dos etnofarmacológicos, de que a sangra d'água apresente tais propriedades, pois estudos prévios reportaram trabalhos com óleo essencial de espécies do gênero *Croton* do nordeste brasileiro, *C. zenhtneri*, *C. nepetaefolius* e *C. argyrophylloides*, e estas apresentaram boa atividade antioxidante (Morais et al., 2006).

Como supracitado no trabalho de Esmeraldino et al., (2005), as proantocianinas encontradas na casca da *C. urucurana*, pertencentes ao grupo dos flavonóides, apresentam características altamente antioxidantes (Martínéz-Florez et al., 2002; Trueba, 2003), assim como as catequinas encontradas por Peres et al. (1997). Sabe-se que os flavonóides têm a capacidade de deter as espécies reativas de oxigênio e os radicais livres produzidos pela geração endógena e exógena que facilmente desencadeiam lesão da mucosa gástrica (Repetto e Llesuy, 2002).

2.8. Ensaio Toxicológicos

Estudos com base na etnofarmacologia compreendem um ramo promissor no desenvolvimento de novas terapêuticas (Chechinél Filho e Yunes, 1998), visto que, o conhecimento empírico da população associado à diversidade dos compostos bioativos das plantas medicinais, reduzem o tempo para o desenvolvimento de medicamentos e, conseqüentemente, seus custos (Patwardhan e Vaidya, 2010). Estima-se que 25% das drogas prescritas no mundo foram desenvolvidas a partir das plantas medicinais (Rates, 2001).

No entanto, elas também podem apresentar em sua composição substâncias tóxicas, como é o caso da *Hura crepitans*, (“açacu”) que contém uma lectina tóxica e de potencialidade letal. Além disso, remédios populares, produzidos sem respaldo científico, como o “Confrei” (*Symphytum officinalis*) utilizado como uma panacéia, assim como “babosa” (*Aloe spp*) e a “aveloz” (*Euphorbia tirucalli*) usadas para o tratamento de cânceres apresentam potencial tóxico, devido à grande quantidade de alcalóides pirrolizidínicos hepatotóxicos (Rates, 2001).

Tais dados evidenciam a importância de pesquisas a partir das plantas medicinais e reforçam a necessidade de realizar estudos toxicológicos, os quais detêm o objetivo de prever possíveis efeitos adversos das mesmas e/ou de seus compostos (Meyer, 2003).

Os testes de toxicidade envolvendo animais, tem como predileção os roedores. Diversos são os ensaios, dentre eles, o de toxicidade aguda, que compreende um teste inicial, no qual os animais recebem uma dose única ou várias em um intervalo de tempo de no máximo 24 horas. Com este modelo, consegue-se avaliar o risco de intoxicações agudas, premeditadas ou não, e evidenciam formas de preveni-las. Os resultados encontrados neste método subsidia a escolha das doses em testes de toxicidade mais rigorosos (Souza-Brito, 1994).

O ensaio com doses repetidas (subaguda ou crônica) administradas em intervalos regulares e por período determinado, permite analisar variáveis qualitativas ou quantitativas produzidas em decorrência da exposição à substância em teste (Souza-Brito, 1994; Klein et al., 2009). Com isso é possível averiguar a latência para a instalação ou não dos efeitos tóxicos, assim como o acúmulo da droga no organismo. Outros estudos a longo prazo são realizados para verificar os efeitos na embriogenixidade, na fertilidade, nos impactos na reprodução, na carcinogenicidade e na mutagenicidade (Klein et al., 2009).

Todos estes ensaios visam estimar o grau de confiabilidade da substância testada à espécie humana (Klein et al., 2009). E, em âmbito geral, os parâmetros avaliados nos ensaios de toxicidade envolvem alterações sobre a locomoção, o comportamento, a respiração, o número de mortes e a forma de sua ocorrência, alteração de peso, do consumo alimentar e hídrico, exames bioquímicos, hematológicos, histopatológicos, dentre outros (ANVISA, 1996).

2.8.1 Exames Bioquímicos Relevantes à Toxicidade In Vivo

2.8.1.1. Aminotransferases

As aminotransferases ou transaminases são enzimas que catalisam a transferência, reversível, de um grupo-alfa amino de um aminoácido e alfa-cetoácido, com a formação de novo aminoácido e alfa-cetoácido (York, 1998). Estas compreendem a aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmica-oxalacética (TGO) e a alanina aminotransferase (ALT) ou transaminase glutâmica-pirúvica (TGP), as quais estão presentes em quantidades expressivas no citoplasma dos hepatócitos (Motta, 2003). Logo, lesões ou destruição das células hepáticas liberam tais enzimas na circulação sanguínea (Dufour et al., 2008).

A AST é encontrada em concentrações elevadas no miocárdio, fígado, músculo esquelético, com pequenas quantidades nos rins, pâncreas, baço, cérebro, pulmões e hemácias. Nas células hepáticas 80% encontram-se nas mitocôndrias e 20% no citoplasma, com isso, quando a lesão hepática é leve, tem-se o predomínio no soro de enzimas do citosol, no entanto, quando existe lesões graves há a liberação das enzima mitocondrial na corrente sanguínea (Motta, 2003).

Diversas doenças podem desencadear o aumento de AST, tais como pancreatite, infarto agudo do miocárdio, angioplastia, trauma muscular esquelético, queimaduras, doença renal, entre outras (Lopes, 1998). Por isso, a AST não é sensível suficiente para diagnosticar doença hepática, necessitando de associações (Osta et al., 2008).

A quantificação da AST geralmente é associada a ALT (Motta, 2003; Osta, 2008). Nos hepatócitos cerca de 90% da ALT é encontrada no citosol (Lopes, 1998), o que favorece na complementação do diagnóstico e prognóstico de hepatopatias, sendo mais sensível para detectar leves lesões hepáticas (Motta, 2003).

2.8.1.2. Uréia

A uréia compreende ao produto principal do catabolismo protéico, sendo sintetizada no fígado a partir do gás carbônico e da amônia liberada pela desaminação dos aminoácidos (Coomes, 1998).

Cerca de 90% da uréia é excretada pelos rins, sendo que normalmente 40 a 80% são reabsorvidas por difusão passiva no túbulo renal para o interstício e conseqüentemente

adentram o plasma. Destaca-se que o estado hidratação, ou seja, a taxa do fluxo urinário correlaciona-se com este processo de reabsorção da uréia (Hristova e Henry, 2008).

A uréia é utilizada para avaliar a função renal, no entanto, para que haja alteração neste parâmetro, é preciso haver a destruição de 70 a 80% dos glomérulos (unidades funcionais dos rins), além disso, sua quantidade no plasma está relacionada a perfusão nos rins, a ingestão de proteínas e ao nível metabólico das proteínas. Por isso, realiza-se para avaliação renal, a associação com os valores de creatinina (Hristova e Henry, 2008).

2.8.1.3. Creatinina

O precursor da creatinina, a creatina, é sintetizada nos rins, fígado e pâncreas, e posteriormente direcionada para outros órgãos como músculo e cérebro, a qual é fosforilada por meio da enzima creatina quinase e estocada como fosfocreatina, para fornecer energia muscular. Neste processo, ocorre a desidratação da creatina, formando assim a creatinina (Rhiel et al., 2004).

A creatinina no seu estado livre não é utilizada pelo organismo, ou seja, funciona apenas como um resíduo da creatina. A creatinina passa do músculo para o plasma, de onde é removida praticamente em velocidade constante por filtração glomerular. Quando encontra-se em níveis elevados no plasma, esta também pode ser excretada pelos túbulos renais. A quantidade de sua excreção é proporcional à massa muscular, e não sofre influência do metabolismo protéico ou outros fatores externos, sendo assim, a concentração da creatinina plasmática é um excelente índice para avaliar a função renal, sendo mais sensíveis e específicos do que a medida da concentração da uréia plasmática no estudo da velocidade de filtração glomerular reduzida (Motta, 2003).

2.8.1.4. Gama-Glutamiltransferase

A gama-glutamiltransferase (γ -GT) catalisa a transferência de um grupo γ -glutil de um peptídeo para si própria, para outros peptídeos, aminoácidos e água. Está relacionada ao transporte de aminoácidos e peptídeos através das membranas celulares, na síntese de proteína e na regulação da glutatona tecidual (antioxidante) (Dufor et al., 2008).

A γ -GT é encontrada no fígado, rins, intestino, próstata, pâncreas, cérebro e coração, e apesar de sua atividade enzimática ser maior no rim, a enzima quantificada no plasma é de

origem, principalmente, hepatobiliar. No fígado, encontra-se a γ -GT nos canalículos das células hepáticas e, particularmente, nas células epiteliais que revestem os ductos biliares. Com isso, a principal finalidade de avaliar os níveis séricos da γ -GT compreende o estudo das desordens hepatobiliares (Motta, 2003).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito antiulcerogênico da casca da *Croton urucurana* em modelo de úlcera gástrica induzida em ratos.

3.2. Objetivos Específicos

Avaliar a toxicidade aguda e subaguda do extrato da casca *Croton urucurana*.

Investigar o efeito protetor e curativo em úlcera gástrica do extrato da casca da *Croton urucurana*.

Verificar o efeito do extrato da casca da *Croton urucurana* sobre a secreção gástrica e produção de muco.

Avaliar os possíveis mecanismos de ação do extrato da casca da *Croton urucurana* relacionados ao óxido nítrico e aos compostos sulfidrílicos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adeyemi, E.O., Bastaki, S.A., Chandranath, I.S., Hasan, M.Y., Fahim, M., Adem, A., 2005. Mechanisms of action of leptin in preventing gastric ulcer. *World Journal of Gastroenterology* 27, 4154-4160.
- Agra, M.F., Freitas, P.F., Barbosa-Filho, J.M., 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 17, 114-140.
- Allen, A., Flemstrom, G., 2005. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *American Journal of Physiology Cell Physiology* 288, 1-19.
- Alves, E.O., Mota, J.H., Soares, T.S., Vieira, M.C., 2008. Crescimento e distribuição espacial de *Croton urucurana* Baill. em Dourados-MS. *Revista Caatinga* 21, 83-88.
- Amoroso, M.C.M., 1996. A abordagem etnobotânica na pesquisa de plantas medicinais, *in: Plantas medicinais: arte e ciência, um guia de estudo multidisciplinar*. Editora da Universidade Estadual Paulista, São Paulo, pp. 47-68.
- ANVISA. 1996. Portaria nº 116, MS/SNVS, de 8 de agosto de 1996. *Diário Oficial da União*. Brasília, 12 de agosto de 1996.
- Atuma, C., Strugala, V., Allen, A., Holm, L., 2001. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 280, 922-929.
- Bilici, D., Süleyman, H., Banoğlu, Z.N., Kiziltunç, A., Avci, B., Ciftçioğlu, A., Bilici, S., 2002. Melatonin prevents ethanol-induced gastric mucosal damage possibly due to its antioxidant effect. *Digestive Diseases and Sciences* 47, 856-861.
- Carvalho, A.S.T., 2000. Úlcera péptica. *Jornal de Pediatria* 76, 127-34.
- Cechinel Filho, V., Yunes, R.A., 1998. Estratégia para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutura para otimização da atividade. *Química Nova* 21, 99-105.
- Chan, F.K., Sung, J.J., 2001. Role of acid suppressants in prophylaxis of NSAID damage. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 3, 1433-1445.
- Coelho, P.F.B., Santos, V.L., Lira, E.C., 2009. Avaliação da atividade antiúlcera gástrica da *Cissampelos pareira* L. (parreira-bava). *Revista Brasileira de Farmácia* 90, 241-244.

- Coomes, M.W., 1998. Metabolismo de aminoácidos. p. 368-407. In: Delvin, T.M., 1998. Manual de bioquímica com correlações clínicas. 4ed. Editora Edgard Blucher Ltda, São Paulo, Brasil, p.1007.
- Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T., 2000. Estômago, *in*: Patologia Estrutural e Funcional. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp. 708-713.
- Donatini, R.S., Ishikawa, T., Barros, S.B.M, Bacchi, A.M., 2009. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (*Myrtaceae*). Revista Brasileira de Farmacognosia 19, 89-94.
- Dufour, R., Lott, J.A., Henry, J.B., 2008. Enzimologia clínica. p.327-353. In: Henry, J.B., 2008. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20 ed. Editora Manole, Barueri, SP, Brasil, p.1734.
- Esmeraldino, L.E., Souza, A.M., Sampaio, S.V., 2005. Evaluation of the effect of aqueous extract of *Croton urucurana* Baillon (*Euphorbiaceae*) on the hemorrhagic activity induced by the venom of *Bothrops jararaca*, using new techniques to quantify hemorrhagic activity in rat skin. Phytomedicine 8, 570-576.
- Evans, F., 1996. The gastro-intestinal tract: selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material. Wiley, New York, pp. 25-45.
- Falcão, H.S., Mariath, I.R., Diniz, M.F.F.M, Batista, L.M., Barbosa-Filho, J.M., 2008. Plants of the American continent with antiulcer activity. Phytomedicine 15, 132-146.
- Fox, S.I., 2007. Sistema digestório, *in*: Fisiologia Humana. Manole, São Paulo, pp. 560-599.
- Giglio, A.E., Osmo, A.A., Rodrigues, S.H.P., Quintal, V.S., 1993. Bloqueadores H₂ e outros antiácidos sistêmicos. Pediatria 4, 84-87.
- Glavin, G.B., Szabo, S., 1992. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. The FASEB Journal 3, 825-831.
- Gurgel, L.A., Silva, R.M., Santos, F.A., Martins, D.T., Mattos, P.O., Rao, V.S., 2001. Studies on the antidiarrhoeal effect of dragon's blood from *Croton urucurana*. Phytother Research 4, 319-322.
- Hiruma-Lima, C.A., Calvo, T.R., Rodrigues, C.M., Andrade, F.D.P., Vilegas, W., Brito, A.R.M.S., 2006. Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneaefolia*: effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. Journal of Ethnopharmacology 104, 215-224.
- Hiruma-Lima, C.A., Gracioso, J.S., Rodríguez, J.A., Haun, M., Nuns, D.S., Souza Brito, A.R.M., 2000. Gastroprotective effect of essential oil from *Croton cajucara* Benth. (*Euphorbiaceae*). Journal of Ethnopharmacology 69, 229-234.
- Howard, C.K., 2004. Regulação do sistema gastrointestinal e motilidade, *in*: Berne, R.M., Levy, M.N., Koepfen, B.M., Stanton, B.A., Fisiologia. Elsevier, Rio de Janeiro, pp. 573-600.

- Hristova, E.N., Henry, B.J., 2008. Intermediários metabólicos, íons iorgânicos e marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo. p.209-244. In: Henry, J.B., 2008. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 20 ed. Editora Manole, Barueri, SP, Brasil, p.1734.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2008. O trato digestivo, *In: Histologia básica*, décima primeira ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil, p.283-316.
- Kato, S., Ohkawa, Y., Ito, K., Amagase, K., Takeuchi, K., 2009. Role of endothelial nitric oxide synthase in aggravation of indomethacin-induced gastric damage in adjuvant arthritic rats. *Journal of Physiology and Pharmacology* 60, 147-155.
- Kawano, S., Tsuji, S., 2000. Role of mucosal blood flow: a conceptional review in gastric mucosal injury and protection. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 15, 1-6.
- Klein, T., Longhini, R., Bruschi, M.L., Mello, J.C.P., 2009. Fitoterápicos: um mercado promissor. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada* 30, 241-248.
- Kummer, C.L., Coelho, T.C., 2002. Cyclooxygenase-2 inhibitors nonsteroid anti-inflammatory drugs: current issues. *Revista Brasileira de Anestesiologia* 4, 498-512.
- Laine, L., Takeuchi, K., Tarnawski, A., 2008. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology* 135, 41-60.
- Lancaster-Smith, M.J., Jaderberg, M.E., Jackson, D.A., 1991. Ranitidine in the treatment of non-steroidal anti-inflammatory drug associated gastric and duodenal ulcers. *Gut* 32, 252-255.
- Lorenzi, I.H., 2002. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. quarta ed. Nova Odessa.
- Loguercio, C., Taranto, D., Beneduce, F., del Vecchio Blanco, C., de Vincentiis, D, Nardi, G., Romano, M., 1993. Glutathione prevents ethanol induced gastric mucosal damage and depletion of sulfhydryl compounds in humans. *Gut* 34, 161-165.
- Lopes, H.J.J., 1998. Enzimas no laboratório clínico: aplicações diagnóstica. Analisa, Belo Horizonte, BH, Brasil. p.28.
- Luchi, A.E., 2004. Anatomia do lenho de *Croton urucurana* Baill. (*Euphorbiaceae*) de solos com diferentes níveis de umidade. *Revista Brasileira de Botânica* 27, 271-280.
- Maciel, M.A., Pinto, A.C., Arruda, A.C., Pamplona, S.G., Vanderlinde, F.A., Lapa, A.J., Echevarria, A., Grynberg, N.F., Cólus, I.M., Farias, R.A., Luna Costa, A.M., Rao, V.S., 2000. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. *Journal of Ethnopharmacology* 70, 41-55.

- Maciel, M.A., Pinto, A.C., Veiga Júnior, V.F., 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova* 25, 429-438.
- Malfertheiner, P., Chan, F.K., Mccoll, K.E., 2009. Peptic ulcer disease. *Lancet* 374, 1449-1461.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., Tuñón, M.J., 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria* 6, 271-278.
- Matsuda, H., Li, Y., Yoshikawa, M., 1999. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulfhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by momordin Ic, an oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesions in rats. *Life Sciences* 65, 27-32.
- Merchant, J.L., 2007. Tales from the crypts: regulatory peptides and cytokines in gastrointestinal homeostasis and disease. *The Journal of Clinical Investigation* 117, 6-12.
- Meyer, O., 2003. Testing and assessment strategies, including alternative and new approaches. *Toxicology Letters* 140, 21-30.
- Miner, P.J., Katz, P. O., Chen, Y., S, M., 2003. Gastric acid control with esomeprazole, lansoprazole, omeprazole, pantoprazole, and rabeprazole: a five-way crossover study. *The American Journal of Gastroenterology* 98, 2616-2620.
- Ministério da Saúde, 2006. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápico. Ministério da Saúde, Brasília.
- Monteiro, E.C.A., Trindade, J.M.F., Duarte, A.L.B.P., Chahade, W.H., 2008. Os antiinflamatórios não esteroidais (AINES). *Temas de Reumatologia Clínica* 2, 53-63.
- Moraes, T.M., Kushima, H., Moleiro, F.C., Santos, R.C., Rocha, L.R., Marques, M.O., Vilegas, W., Hiruma-Lima, C.A., 2009. Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: role of prostaglandins and gastric mucus secretion. *Chemico-Biological Interactions* 3, 499-505.
- Morais, S.M., Catunda Jr, F.E.A., Silva, A.R.A., Martins Neto, J.S., 2006. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. *Química Nova* 29, 907-910.
- Morimoto, Y., Shimohara, K., Oshima, S., Sukamoto, T., 1991. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. *Japanese Journal of Pharmacology* 57, 495-505.
- Motta, V.T. 2003. *Bioquímica clínica para laboratório: princípios e interpretações*. 4.ed. Editora Médica Missau, Porto Alegre, RS, Brasil. p.419.

- Oates, P.J., Hakkinen, J.P., 1988. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterology* 94, 10-21.
- Okabe, S., Amagase, K., 2005. An overview of acetic acid ulcer models the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 8, 1321-1341.
- Okabe, S., Miyake, H., Awane, Y., 1986. Cytoprotective effects of NC-1300 and omeprazole on HCl ethanol-induced gastric lesions in rats. *Japanese Journal of Pharmacology* 42, 123-133.
- Oliveira, I.S., Lima, J.C.S., Silva, R.M., Martins, D.T.O., 2008. Triagem da atividade antibacteriana *in vitro* do látex e extratos de *Croton urucurana* Baillon. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18, 587-593.
- Osta, V., Gastaldi, M.J., Trifone, L., 2008. Utilidad del índice Aspartato-aminotransferasa/plaquetas (APRI) en el diagnóstico no invasivo de fibrosis hepática en niños y adolescentes obesos con enfermedad hepática grasa no alcohólica. *Bioquímica y Patología Clínica* 72. 19-26.
- Padilla, F.B., Noriega, J.R.Z., 2001. Comparación de los inhibidores de la bomba de protones omeprazol, lansoprazol, pantoprazol y rabeprazol en la tratamiento de enfermedad ácido péptica. *Medicina Universitaria* 3, 37-50.
- Pasa, M.C., Soares, J.J., Guarim Neto, G., 2005. Estudo etnobotânico na comunidade de Conceição-Açu (alto da bacia do rio Aricá Açu, MT, Brasil). *Acta Botânica Brasílica* 19, 195-207.
- Patwardhan, B., Vaidya, A.D., 2010. Natural products drug discovery: accelerating the clinical candidate development using reverse pharmacology approaches. *Indian Journal of Experimental Biology* 48, 220-227.
- Peres, M.T., Delle Monache, F., Cruz, A.B., Pizzolatti, M.G., Yunes, R.A., 1997. Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (*Euphorbiaceae*). *Journal of Ethnopharmacology* 3, 223-226.
- Peres, M.T.L.P., Monache, F.D., Pizzolatti, M.G., Santos, A.R.S., Beirith, A., Calixto J.B., Yunes, R.A., 1998. Analgesic compounds of *Croton urucurana* Baillon. Pharmaco-chemical criteria used in their isolation. *Phytotherapy Research* 12, 209-211.
- Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M., Moore, P.K., 2004. Tratado gastrointestinal, *in*: *Farmacologia*, quinta ed. Elsevier, Rio de Janeiro, pp. 305-317.
- Rates, S.M.K., 2001. Plants as source of drugs. *Toxicon* 39, 603-613.
- Repetto, M.G., Llesuy, S.F., 2002. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 5, 523-534.

- Ribeiro, B.M.R., 1998. Fitofisionomias do bioma do cerrado, in: Cerrado: ambiente e flora. Planaltina.
- Riehl, O., Fontana, K.E., López, R.F.A., 2004. Excreção de creatinina como meio de análise da massa corporal magra. *Revista Digital*, Buenos Aires, 69.
- Robert, A., 1979. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology* 77, 761-767.
- Rodrigues, P.A., Morais, S.M., Marques, M.M.M., Aguiar, L.A., Nunes-Pinheiro, D.C.S., 2008. Atividade antioxidante e gastro-protetora de produtos naturais em animais experimentais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 10, 116-123.
- Rodríguez-Hernández, H., Jacobo-Karam, J.S., Guerrero-Romero, F., 2001. Factores de riesgo para la recurrencia de úlcera péptica. *Gaceta Médica de México* 137, 303-310.
- Salim, A.S., 1992. Sulphydryl-containing agents: a new approach to the problem of refractory peptic ulceration. *Pharmacology* 45, 301-306.
- Scalon, S.P.Q., Kodama, F.M., Scalon Filho, H., Mussury, R.M., 2008. Crescimento inicial de mudas de sangra-d'água (*Croton urucurana* Baill.) sob sombreamento e aplicação de giberelina. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 10, 61-66.
- Schubert, M.L., Peura, D.A., 2008. Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology* 134, 1842-1860.
- Seo, J.Y., YU, J.H., Lim, J.W., Mukaida, N., Kim, H., 2009. Nitric oxide-induced IL-8 expression is mediated By NF- κ B and AP-1 in gastric epithelial AGS cells. *Journal of Physiology and Pharmacology* 60, 101-106.
- Sener, G., Paskaloglu, K., Anyaanoglu-Dulger, G., 2004. Protective effect of increasing doses of famotidine, omeprazole, lansoprazole, and melatonin against ethanol-induced gastric damage in rats. *Indian Journal of Pharmacology* 36, 171-174.
- Shaw, S., Herbert, V., Colman, N., Jayatilleke, E., 1990. Effect of ethanol-generated free radicals on gastric intrinsic factor and glutathione. *Alcohol* 7, 153-157.
- Silva, M.S., Antonioli, A.R., Batista, J.S., Mota, C.N., 2006. Plantas mediciniais nos distúrbios do trato gastrintestinal no povoado Colônia Treze, Lagarto, SE, Brasil. *Acta Botânica Brasil*. 4, 815-829.
- Silverthorn, D.U., 2003. Digestão, in: *Fisiologia Humana: uma abordagem integrada*. Manole, Barueri, pp. 602-637.
- Silverthorn, D.U., 2010. *Fisiologia humana: uma abordagem integrada*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed.
- Simionatto, E., Bonani, V.F.L., Morel, A.F., Poppi, N.R., Raposo Júnior, J.L., Stuker, C.Z., Peruzzo, G.M., Peres, M.T.L.P., Hess, S.C., 2007. Chemical composition and

- evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (*Euphorbiaceae*) stem bark. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 5, 879-885.
- Souza-Brito, A.R.M., 1994. *Manual de Ensaio Toxicológicos in vivo*. Editora da UNICAMP, Campinas, SP, Brasil, p. 122.
- Souza, C.D., Felfili, J.M., 2006. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. *Acta Botânica Brasil* 1, 135-142.
- Spence, A.P., 1991. Sistema digestivo, *in: Anatomia Humana Básica*. Manole, São Paulo, pp. 537-572.
- Takagi, K., Okabe, S., Saziki, R., 1969. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. *The Japanese Journal of Pharmacology* 19, 418-426.
- Takase, H., Inoue, O., Saito, Y., Yumioka, E., Suzuki, A., 1991. Roles of sulfhydryl compounds in the gastric mucosal protection of the herb drugs composing oren-gedoku-to (a traditional herbal medicine). *Japanese Journal of Pharmacology* 56, 436-439.
- Toso, R.E., Skliar, M.I., 2000. Histofisiopatología y tratamiento de la úlcera gástrica. Usos de drogas vegetales. *Anuario Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa* 7-21.
- Trueba, G.P., 2003. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana Investigaciones Biomédicas* 1, 48-57.
- Ueshima, K., Takeuchi, K., Okabe, S., 1992. Effects of sulfhydryl-related compounds on indomethacin induced gastric lesions in rats: role of endogenous sulfhydryls in the pathogenesis. *Japanese Journal of Pharmacology* 58, 157-165.
- Ustulin, M., Figueiredo, B.B., Tremea, C., Pott, A., Pott, V.J., Bueno, N.R., Castilho, R.O., 2009. Plantas medicinais comercializadas no Mercado Municipal de Campo Grande-MS. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19, 805-813.
- Veiga Júnior, V.F., Pinto, A.C., 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova* 3, 519-528.
- Yuan, Y., Padol, I.T., Hunt, R.H., 2006. Peptic ulcer disease today. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology* 3, 80-89.
- York, J.L., 1998. Enzimas: classificação cinética e controle. p. 105-145. *In: Delvin, T.M., 1998. Manual de bioquímica com correlações clínicas*. 4ed. Editora Edgard Blucher Ltda, São Paulo, Brasil, p.1007.
- Wallace, J.L., Granger, D.N., 1996. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *The FASEB Journal* 10, 731-740.

- Wallace, J.L., Ma, L., 2001. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. *Experimental Biology and Medicine* 226, 1003-1015.
- Wallace, J.L., 2008. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? *Physiological Reviews* 88, 1547-1565.
- Watts, N.B., 2008. Osteoporosis: treatment of postmenopausal osteoporosis, *in: Primer on the rheumatic diseases*, thirteenth ed. Georgia.
- WHO, 1999. *Monographs on selected medicinal plants*. Geneva. pp. 289.
- Wolfe, M.M., Sachs, G., 2000. Acid suppression: optimizing therapy for gastroduodenal ulcer healing, gastroesophageal reflux disease, and stress-related erosive syndrome. *Gastroenterology* 118, 9-31.

5. ANEXO

5.1. Artigo Científico

O artigo científico descrito neste item será submetido à revista *Journal of Ethnopharmacology*, e as normas para a submissão neste periódico encontram-se disponíveis no *site*: http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/506035/authorinstructions. Acesso em: 16 de novembro de 2011.

Título: Efeito antiulcerogênico da casca da *Croton urucurana* Baillon

Kátia Wolff Cordeiro^a, Lorraine Aparecida Pinto^a, Anelise Samara Nazari Formagio^b, Sérgio Faloni de Andrade^c, Cândida Aparecida Leite Kassuya^a, Karine de Cássia Freitas^{a†}

^aUniversidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências da Saúde, CEP 79804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil

^bUniversidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias, CEP 79804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil

^cUniversidade do Vale do Itajaí, Núcleo de Investigações Químico-Farmacêutica, Rua Uruguai, 458, CEP 88302-202, Itajaí, Santa Catarina, Brasil

^{a†} Autor correspondente. Endereço para correspondência: Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados - Itaum, km 12, Dourados, Mato Grosso do Sul, CEP 79804-970, Brasil. Telefone: + 55 67 34102327. Fax: + 55 67 34102320. E-mail: kcfreitas@gmail.com

Resumo

Relevância etnofarmacológica: A casca da *Croton urucurana* (*Euphorbiaceae*) é utilizada pela população para tratar úlcera gástrica. Entretanto, sob nosso conhecimento, nenhum estudo foi conduzido para comprovar esta propriedade terapêutica. *Objetivo do estudo:* Avaliar o efeito antiulcerogênico da casca da *C. urucurana* em modelos de úlcera gástrica induzida em ratos e seus possíveis efeitos tóxicos. *Materiais e métodos:* As ações de prevenção e cura do extrato metanólico da *C. urucurana* (ECU) foram avaliadas em modelos experimentais de indução de úlcera gástrica aguda (etanol e indometacina) e crônica (ácido acético). Os parâmetros do suco gástrico e muco foram avaliados pelo modelo de ligadura de piloro, e o envolvimento da ação gastroprotetora com os compostos sulfidrílicos e óxido nítrico foram analisados utilizando o modelo de etanol. A toxicidade foi avaliada por meio dos testes de toxicidade aguda e subaguda. *Resultados:* Dentro dos parâmetros analisados, nenhum sinal de toxicidade foi observado. No modelo de etanol foi observado que o tratamento com todas as doses testadas do ECU (50, 100 e 250 mg/kg) reduziram significativamente a lesão gástrica com 70,25%, 95,40% e 98,71% de inibição respectivamente, e o lansoprazol (controle positivo) na dose de 30 mg/kg apresentou 82,58% de inibição. No modelo de indometacina, as doses do ECU (50, 100 e 250 mg/kg) e do controle positivo, cimetidina (200 mg/kg), reduziram significativamente a lesão gástrica, com 54,75%, 82,50%, 64,19% e 91,02% de inibição, respectivamente. Os tratamentos com ECU (100 mg/kg) e cimetidina (200 mg/kg) apresentaram redução significativa nos parâmetros ulcerativos induzidos pelo ácido acético, com 81,55% e 72,62% de cura, respectivamente. Com relação ao envolvimento do óxido nítrico, não houve alteração da citoproteção gerada pelo ECU. No entanto, a atividade antiulcerogênica do ECU parece envolver os compostos sulfidrílicos, pois houve inibição de sua ação nos animais que receberam o bloqueador de compostos sulfidrílicos. Além disso, o ECU apresentou ação sistêmica, aumentando a produção de muco e diminuindo a acidez gástrica. *Conclusões:* Segundo este estudo a casca da *C. urucurana* é capaz de induzir atividade de gastroproteção, em ratos, sem sinais de toxicidade. Este efeito parece envolver compostos sulfidrílicos, aumentando o muco e reduzindo a acidez gástrica.

Palavras-chaves: úlcera gástrica, cerrado, plantas medicinais, sangra d'água, *Euphorbiaceae*

1. Introdução

A úlcera péptica é uma doença em evidência no mundo (Birdane et al., 2007; Falcão et al., 2008; Cemek et al., 2010), com prevalência de 10% na população (Rodríguez-Hernández et al., 2001; Zapata-Colindres et al., 2006). É desencadeada pelo desequilíbrio entre os mecanismos de defesa, como a secreção de muco, regeneração celular, e os agentes agressores, como a secreção de ácido e pepsina (Adeyemi et al., 2005; Bighetti et al., 2005). Hábitos dietéticos inadequados, consumo exagerado de álcool, fumo, uso prolongado de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), estresse, infecção por *Helicobacter pylori*, herpes simples e fatores de origem genética, podem provocar inflamação da mucosa gástrica (Falcão et al., 2008; Klein et al., 2010).

O tratamento medicamentoso na prática clínica consiste na administração de antiácidos, inibidores de bomba de prótons, anticolinérgicos e antagonistas dos receptores para histamina (Malfertheiner et al., 2009). Estes apresentam diversos efeitos colaterais, como trombocitopenia, nefrite intersticial aguda, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, reações anafiláticas, ginecomastia e impotência (Chan e Leung, 2002). Em sua maioria, apresentam custo elevado, tornando seu uso restrito (Santin et al., 2010), colaborando para a procura da população por tratamentos alternativos, como o uso de plantas medicinais.

Sabe-se que em países em desenvolvimento, cerca de 65-80% da população depende exclusivamente das plantas medicinais à atenção básica da saúde (WHO, 1999). Dentre as plantas medicinais utilizadas no tratamento da úlcera gástrica destaca-se a “sangra d’água”, de nomenclatura científica *Croton urucurana* Baillon, a qual pertence ao gênero *Croton*, da família *Euphorbiaceae*, que corresponde a um dos maiores, com cerca de 1.300 espécies (Simionatto et al., 2007), distribuídos entre as Américas e a Ásia (Oliveira et al., 2008).

A casca da *C. urucurna* é utilizada na forma de chá da casca para obter benefício no alívio e/ou tratamento de gastrites, úlceras e também dores nas costas (Alves et al., 2008), e sob nosso conhecimento, sua atividade antiulcerogênica não foi estudada na literatura científica até o momento, no entanto, sua ação antimicrobiana (Oliveira et al., 2008), antidiarréica (Gurgel et al., 2001) e cicatrizante (Esmeraldino et al., 2005) já foram demonstradas em alguns estudos científicos. Baseando-se em tais evidências, este estudo foi realizado com objetivo de investigar se o extrato da casca da *C. urucurana* apresenta

efeito protetor e/ou curativo no tratamento de úlcera gástrica por meio de modelos experimentais.

2. Materiais e métodos

2.1. Material vegetal e preparação do extrato

A casca da *C. urucurana* foi coletada em maio de 2010, em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil em latitude de 22°17.142'S e longitude de 54°43.327'W com altitude média de 388 m. A planta foi identificada pela professora Dr^a Zefa Valdivina Pereira da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e depositada no Herbário DDMS da Cidade Universitária de Dourados sob o número 4601. As cascas da *C. urucurana* foram secas (320 g), moídas em moinho de facas, e extraídas por maceração em metanol a 95%. O extrato obtido foi filtrado, concentrado em rotaevaporador a 45°C sob pressão e liofilizado, produzindo 36 g, com rendimento de 11,25%. Antes da administração aos animais, o mesmo foi dissolvido em salina, o controle negativo. Tal procedimento foi realizado de acordo com a metodologia de Cechinel Filho e Yunes (1998) com algumas modificações.

2.2. Animais

Foram utilizados ratos e ratas *Wistar* (150-250 g), adquiridos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, os quais foram mantidos à temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ \text{C}$), em ciclo de luz de 12 h claro/12 h escuro, e alimentados com ração comercial e água *ad libitum*. Doze horas antes dos experimentos, a ração foi retirada, mas a água foi oferecida *ad libitum* até 1 hora antes de iniciar os procedimentos. Durante o jejum, os animais foram acondicionados em gaiolas com piso elevado para evitar coprofagia. A eutanásia foi realizada com a administração intraperitoneal da combinação de anestésicos (75 mg/kg de quetamina associado a 10 mg/kg de xilazina). Os animais utilizados no presente estudo foram mantidos e tratados de acordo com a legislação do Governo Federal (CONCEA, 2008). Os experimentos também foram aprovados pelo protocolo número

041/11 do Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN), Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

2.3. Toxicidade aguda

O estudo de toxicidade aguda foi realizado conforme descrito no “Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method” (OECD, 2001). Após jejum de 12 h, as ratas foram divididas em dois grupos (n=3) e tratadas via oral (gavagem) com 10 mL/kg de salina ou dose única de 2000 mg/kg do extrato metanólico da casca da *C. urucurana* (ECU). O jejum depois dos tratamentos foi mantido por 3 horas, e então a ração e água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento. Os animais foram observados individualmente logo após a administração, nos primeiros 30 minutos, e periodicamente durante 24 h (com atenção especial durante as primeiras 4 h) e diariamente por um período de 14 dias. As características observadas relacionavam-se às alterações na pele, pêlos, olhos, mucosas, comportamentais e nos sinais clínicos. Tanto o consumo alimentar, quanto a ingestão hídrica e o peso dos animais foram verificados diariamente. Decorridos 14 dias, realizou-se a eutanásia e o peso dos seguintes órgãos foram comparados com relação ao grupo controle negativo: coração, pulmão, baço, fígado e rins. Este experimento foi repetido em outro momento de acordo com a orientação da OECD (2001).

2.4. Avaliação da atividade antiúlcera

2.4.1. Úlcera gástrica induzida por etanol

O experimento foi realizado de acordo com a metodologia de Morimoto et al. (1991) com algumas modificações descritas a seguir. Após 12 h de jejum, os ratos foram divididos em grupos (n=7) e pré-tratados com 10 mL/kg de salina, 30 mg/kg de lansoprazol (controle positivo), ou 50, 100 e 250 mg/kg de ECU, respectivamente. Decorrido 1 h, todos os ratos receberam 0,5 mL/100 g de peso corporal de etanol 70% para induzir a úlcera gástrica (Mello et al., 2008). Todas as administrações foram por via oral (gavagem). Depois de 1 h, os animais foram submetidos a eutanásia e os estômagos foram removidos e abertos ao longo da curvatura maior.

Os estômagos foram delicadamente lavados com água para remover o conteúdo gástrico e colocados entre placas de vidro para digitalização. As imagens obtidas foram analisadas utilizando o *software* específico “EARP” para medir a área de lesão. As úlceras foram classificadas como nível I, área da úlcera $<1 \text{ mm}^2$; nível II, área da úlcera $1-3 \text{ mm}^2$; e nível III, área da úlcera $> 3 \text{ mm}^2$. Os seguintes parâmetros foram determinados: (a) índice de lesões ulcerativas (ILU) como $1 \times (\text{número de úlceras de nível I}) + 2 \times (\text{número de úlceras nível II}) + 3 \times (\text{número de úlceras nível III})$, (b) porcentagem inibição ou cura, que foi determinada da seguinte forma: $\% \text{ I ou } \% \text{ C} = 100 - (\text{ILU tratados} \times 100 / \text{ILU controle negativo})$; (c) área total da lesão; (d) porcentagem de área de lesão em relação à área do estômago total (Andrade et al., 2006).

2.4.2. Úlcera gástrica induzida por anti-inflamatório não esteroidal (AINE)

O experimento foi realizado de acordo com a metodologia de Hayden et al. (1978), com algumas modificações. Após 12 h de jejum, os ratos foram divididos em grupos ($n=9$), pré-tratados com 10 mL/kg de salina, 200 mg/kg de cimetidina (grupo controle) ou 50, 100 e 250 mg/kg de ECU. Depois de 1 h, todos receberam 100 mg/kg de indometacina diluída em 0,5% de bicarbonato de sódio para induzir a úlcera gástrica. Após 12 h, os animais foram submetidos a eutanásia. Todas as administrações foram por via oral (gavagem). Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da curvatura maior, lavados, colocados entre placas de vidro e digitalizados. As imagens foram analisadas usando os mesmos parâmetros descritos anteriormente.

2.4.3. Úlcera gástrica induzida por ácido acético

O experimento foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Takagi et al. (1969), com algumas modificações. Após 12 h de jejum, os ratos foram divididos em grupos ($n=6$). Sob anestesia, realizou-se laparotomia por meio de uma incisão epigástrica na linha média. Depois de expor o estômago, 0,03 mL de solução de ácido acético a 30% foi injetado na camada da submucosa na parte glandular da parede anterior, em seguida, o órgão foi banhado com soro fisiológico para evitar a aderência na superfície externa da região ulcerada. O abdômen foi suturado e os animais foram alimentados *ad libitum*.

Depois de 24 h da cirurgia, foi administrado 10 mL/kg de salina, 200 mg/kg de cimetidina (controle positivo) ou 100 mg/kg de ECU via oral (gavagem) aos respectivos grupos formados, uma vez ao dia, durante 14 dias consecutivos. Após 24 h da última administração, os ratos foram submetidos a eutanásia e os estômagos foram removidos e abertos ao longo da curvatura maior. Os estômagos foram limpos, colocados entre placas e digitalizados. A área da úlcera (mm²) e a porcentagem de cura (%) foram determinados posteriormente com auxílio do *software* “EARP”.

2.4.3.1 Estudo da toxicidade subaguda

Ao se avaliar o efeito de cura do ECU em úlceras gástricas induzidas por ácido acético em ratos tratados diariamente, simulamos não só a maneira de uso de muitos medicamentos comercializados para úlceras gástricas em humanos, mas também seus possíveis efeitos tóxicos e cumulativos ao longo dos 14 dias de administração diária.

Assim, durante este período, os possíveis efeitos do ECU relacionados às alterações do peso corporal, pele, pêlos, olhos, mucosas, comportamental e nos sinais clínicos, foram diariamente observadas nos ratos tratados. Sob anestesia foi coletado sangue da veia cava inferior. Após centrifugação (4000 rpm x 10 min) o soro foi encaminhado para análise bioquímica, na qual, foram quantificados aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamiltransferase (γ -GT) para avaliar danos hepáticos, e uréia e creatinina para avaliar danos renais. Tais análises foram realizadas por um sistema de análises bioquímicas semi-automático (Vasconcelos et al., 2010).

2.5. Mecanismo de ação gastroprotetor

2.5.1 Determinação da secreção gástrica

O experimento foi realizado utilizando o método de Shay et al. (1945) com algumas modificações. Os animais foram divididos em grupos (n = 7) e depois de 12 h de jejum, foram anestesiados e submetidos a laparotomia, para realizar a ligadura de piloro. Imediatamente, foi administrado intraduodenalmente 100 mg/kg de ECU, 200 mg/kg de cimetidina (controle positivo) ou 5 ml/kg de salina, nos respectivos grupos experimentais.

Após 4 horas, os animais foram submetidos a eutanásia, o abdômen foi reaberto, e outra ligadura foi realizada na região da cárdia, para evitar extravasamento da secreção gástrica. Os estômagos foram removidos e o conteúdo gástrico coletado e centrifugado (4000 rpm × 10 min). A quantidade de suco gástrico (mL) e os valores de pH foram determinados. A secreção de ácido total do suco gástrico presente no volume do sobrenadante foi determinada por titulação com pH 7,0, usando uma solução de NaOH 0,01 mol.L⁻¹ utilizando fenolftaleína como indicador. A concentração de íons H⁺ foi expressa em mEq/L/4h.

2.5.2 Determinação de muco no conteúdo gástrico

Este experimento foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Sun et al. (1991), com algumas modificações. Os ratos foram divididos em grupos (n = 7) e após 12 h de jejum, sob anestesia, foram submetidos a laparotomia, para realizar a ligadura de piloro. Imediatamente, foi administrado intraduodenalmente 100 mg/kg de ECU, 200 mg/kg de carbenoxolona (controle positivo), 200 mg/kg de cimetidina, ou 5 mL/kg de salina, nos respectivos grupos de tratamento. Os animais foram suturados e 4 h após submetidos a eutanásia. O abdômen foi reaberto, o estômago foi retirado, aberto pela curvarura maior e imerso em 10 mL de uma solução com 0,02% de alcian blue a 0,16 M de sacarose e 0,05 M de solução de acetato de sódio a pH 5,8, e incubados por 24 h a 25° C. Após este período os estômagos foram desprezados e a solução foi centrifugada (4000 rpm × 10 min). A absorção de alcian blue retido no sobrenadante foi medida por espectrofotometria a 615 nm. O muco livre no conteúdo gástrico foi calculado a partir da quantidade de alcian blue aderido (mg/peso de tecido (g)).

2.5.3. Avaliação da participação do óxido nítrico e compostos sulfidrílicos

Esta análise foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Matsuda et al. (1999), com algumas modificações. Os ratos foram divididos em grupos (n=6-8), sob jejum de 12 h. Estes foram pré-tratados intraperitonealmente com 10 mg/kg de N-etilmaleimida (NEM), 70 mg/kg de NG-nitro-l-arginina metil ester (L-NAME), ou 5mL/kg de salina. Depois de 30 minutos, tais grupos receberam via oral (gavagem) 10 mL/kg de salina, 200 mg/kg carbenoxolona (controle positivo) ou 100 mg/kg de ECU. Após 1 h,

todos os grupos foram tratados por via oral (gavagem) com 0,5 mL/100 g de peso corporal de etanol 70%, com objetivo de induzir a úlcera gástrica (Mello et al., 2008). Decorrido 1 h, os animais foram submetidos a eutanásia, os estômagos retirados, abertos pela curvatura maior, limpos, colocados entre placas e digitalizados. As lesões foram quantificadas conforme descrito anteriormente.

2.6. Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro do padrão da média (E.P.M). Teste “t” de Student foi utilizado para comparar dois grupos, enquanto que a análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey foi utilizada para comparar três ou mais grupos. Utilizou-se o programa Jandel Sigma-Stat (Systat Software, Inc, USA) fixando-se em 0,05 ou 5% o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

3. Resultados e discussão

A casca da *C. urucurana* é utilizada empiricamente para o tratamento de distúrbios gástricos (Alves et al., 2008), no entanto, seus efeitos toxicológicos, assim como seus efeitos farmacológicos na úlcera gástrica não foram investigados cientificamente. Com isso, sob nosso conhecimento, este é o primeiro estudo que tem a finalidade de avaliar a toxicidade da casca da *C. urucurana*, bem como seus possíveis efeitos gastroprotetores.

Devido a fisiopatologia da úlcera gástrica não estar totalmente elucidada, e esta ser um problema clínico de forte relevância, em grande parte por causa do uso cada vez mais generalizado de AINES (Malfertheiner et al., 2009), estudos com novos princípios ativos são necessários, pois, além disso, vários produtos farmacêuticos não são completamente eficientes e produzem muitos efeitos adversos (Chan e Leung, 2002). Por isso destaca-se a importância de desenvolver agentes mais efetivos e menos tóxicos, sendo as plantas medicinais uma atraente fonte para o desenvolvimento de novas drogas, em decorrência de sua riqueza de princípios ativos (Bonacorsi et al., 2009).

Sendo assim, com o objetivo de se avaliar os efeitos tóxicos, realizou-se o teste de toxicidade aguda, no qual foram utilizadas ratas por serem mais sensíveis aos sinais de toxicidade do que os machos (OECD, 2001).

Após 14 dias do tratamento agudo, não foi verificado nenhuma alteração no consumo alimentar, hídrico, comportamental (tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono e coma), assim como nenhuma diferença estatisticamente significativa entre o peso dos órgãos analisados (coração, pulmão, baço, fígado e rins) com relação ao grupo controle (dados não mostrados). Este experimento foi novamente reproduzido, conforme o procedimento descrito pela OECD (2001), e os mesmos resultados se repetiram, demonstrando ausência de toxicidade oral aguda do ECU.

Tais resultados corroboraram com os obtidos por Gurgel (2000), o qual evidenciou baixa toxicidade aguda do látex da *C. urucurana*, com uma DL 50, via oral, de $5,20 \pm 0,13$ g/kg em camundongos.

Assim, com base na ausência de toxicidade do ECU e evidências, conforme Alves et al., (2008), de que a população faz uso do chá da casca da *C. urucurana* para tratar gastrites, úlceras e dores nas costas, sem comprovação científica, avaliou-se inicialmente o efeito gastroprotetor da casca da *C. urucurana* com o modelo de indução de úlcera gástrica por etanol, o qual é favorável para avaliar a atividade citoprotetora (Robert, 1979).

O etanol é considerado um fator de risco para desenvolver úlceras gastroduodenais, pois penetra rapidamente na mucosa gástrica, devido a sua capacidade de solubilizar o muco protetor e expor a mucosa a ação hidrolítica e proteolítica do ácido clorídrico e da pepsina, respectivamente (Oates, 1988), causando dano na membrana (Sener et al., 2004). Além disso, o mesmo estimula a secreção ácida, diminui o fluxo sanguíneo, desencadeia o desequilíbrio no processo celular antioxidante, como a peroxidação lipídica (Glavin e Szabo, 1992; Repetto e Llesuy, 2002).

No presente estudo, no modelo de indução de úlcera gástrica por etanol, o grupo controle negativo tratado oralmente com etanol produziu áreas de necrose, por outro lado, todos os grupos tratados com ECU (50, 100 e 250 mg/kg) reduziram significativamente a área total de lesão, o índice de lesão e porcentagem de lesão com relação ao grupo controle ($P < 0,001$), apresentando um elevado nível de gastroproteção, com 70,25%, 95,40% e 98,71% de inibição, respectivamente, contra 82,58% promovida pelo lansoprazol (controle positivo) (Tabela 1). Estes resultados sugerem que o extrato da casca da *C. urucurana*

exibe efeito antiulcerogênico relacionado com a atividade citoprotetora, uma vez que reduziu significativamente a lesão induzida por etanol.

Tabela 1

Efeito do extrato metanólico da casca da *Croton urucurana* em diferentes doses e do lansoprazol em úlceras gástricas induzidas por etanol em ratos.

Tratamentos (v.o.)	n	Dose (mg/kg)	Área total de lesão (mm ²)	% Área de lesão	Índice de lesão ulcerativo	Inibição (%)
Salina	7	-	113,37±23,15	11,71±1,46	328,17±67,27	-
Lansoprazol	7	30	22,72±3,48**	2,60±0,28**	57,18±11,43**	82,58
ECU	7	50	38,77±3,83**	4,24±0,34**	97,62±10,88**	70,25
	7	100	8,60±1,95**	0,94±0,24***	15,10±4,01**	95,40
	7	250	2,68±0,80**	0,31±0,08***	4,24±1,42**	98,71

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguida do teste de Tukey.

* $P < 0,05$ comparado com o grupo ECU 50 mg/kg

** $P < 0,001$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

Os resultados obtidos neste estudo corroboram os achados de Silva (1999), o qual demonstrou que o látex da *Croton urucurana*, no modelo de indução de úlcera, em ratos, com 0,3M de ácido clorídrico em etanol 60%, apresentou diferença significativa do grupo tratado com látex, na dose de 0,1 mL/100g, com relação ao grupo controle (água). No entanto, neste estudo, não foi realizado o grupo controle positivo. Tais resultados demonstram que a *C. urucurana* apresenta substâncias gastroprotetoras não só na casca, mas também no látex.

Outro protocolo experimental usado neste estudo foi o de indução de úlcera gástrica por AINEs. Os AINEs são muito utilizados na prática clínica, em decorrência de sua eficácia e amplo espectro de indicações terapêuticas, tais como analgesia, antiinflamação, profilaxia contra doenças cardiovasculares, e como importante analgésico pós-operatório (Kummer e Coelho, 2002). Todavia, as lesões agudas gastrointestinais são os efeitos colaterais mais graves e frequentes dos AINEs, o que os tornam responsáveis pela causa mais comum do desenvolvimento de úlceras gastroduodenais nos países ocidentais (Glavin e Szabo, 1992; Yuan et al., 2006) e no mundo (Chan e Sung, 2001).

Os resultados aqui obtidos demonstram que o tratamento com o ECU, em todas as doses testadas, assim como a cimetidina na dose de 200 mg/kg, reduziram significativamente a lesão gástrica, em todos os parâmetros avaliados, quando comparados com o grupo controle negativo ($P < 0,05$).

Entretanto, a dose de 100 mg/kg foi a apresentou inibição numericamente maior (82,50%) em relação as outras doses de do ECU (Tabela 2), ou seja, não houve efeito de

dose resposta, tal qual foi verificado no estudo de Mello et al. (2008), utilizando o mesmo modelo, em que a maior dose testada (100 mg/kg) de enzimas proteolíticas derivadas do látex dos frutos verdes da *Carica candamarcensis* não resultaram diferença significativa na inibição das lesões gástrica com relação ao controle negativo (água), no entanto, as doses de 0,1, 1 e 10 mg/kg foram efetivas, com diferença significativa em relação ao grupo controle.

Tabela 2

Efeito do extrato metanólico da casca da *Croton urucurana* em diferentes doses e da cimetidina em úlceras gástricas induzidas por AINES em ratos.

Tratamentos (v.o.)	n	Dose (mg/kg)	Área total de lesão (mm ²)	% Área de lesão	Índice de lesão ulcerativo	Inibição (%)
Salina	9	-	9,61±1,91	1,03±0,17	17,7±4,37	-
Cimetidina	9	200	1,47±0,29**	0,19±0,04**	1,59±0,36**	91,02
ECU	9	50	4,31±1,02*	0,44±0,10*	5,69±1,67*	54,75
	9	100	2,42±0,77**	0,27±0,08**	3,10±1,01**	82,50
	9	250	3,44±0,70*	0,33±0,07**	5,13±1,36*	64,19

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguida do teste de Tukey.

* $P < 0,05$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

** $P < 0,001$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

Em virtude dos resultados encontrados nestes dois modelos agudos de indução de úlcera gástrica, os quais demonstraram que ECU na dose de 100 mg/kg apresentou atividade gastroprotetora equivalente a dose de 250 mg/kg, apenas a dose de 100 mg/kg do extrato foi utilizada nos demais modelos.

Em sequência, foi realizado o modelo de indução de úlcera gástrica por ácido acético, que de acordo com Okabe e Amagase (2005), possibilita acompanhar o processo de cicatrização da mesma. Este modelo permite estudar o processo de cura da úlcera gástrica, de forma semelhante ao processo de doença no ser humano devido tanto as suas características patológicas (por necrosar a mucosa gástrica), como pelos mecanismos de cicatrização. Este processo de cicatrização envolve migração celular, proliferação, reepitelização, angiogênese e deposição de matriz extracelular, sendo mediado por vários fatores, dentre eles as citocinas, prostaglandinas, óxido nítrico e os fatores de crescimento (Tarnawski, 2000).

Após a indução de úlcera gástrica, por meio da administração de ácido acético, os grupos foram tratados com salina, ECU (100 mg/kg) e cimetidina (200 mg/kg). O ECU, assim como a cimetidina, apresentaram redução significativa da área lesada ($P < 0,001$), com relação ao grupo controle negativo, com 81,55% e 72,62% de cura, respectivamente

(Tabela 3), demonstrando que o extrato acelera o processo de cicatrização do tecido lesionado, bem como reduz a área de lesão.

Tabela 3

Efeito do extrato metanólico da casca da *Croton urucurana* e da cimetidina em úlceras gástricas induzidas por ácido acético em ratos.

Tratamentos (v.o.)	n	Dose (mg/kg)	Área total de lesão (mm ²)	% Área de lesão	% Cura
Salina	6	-	38,65±5,88	4,94±0,63	-
Cimetidina	6	200	10,59±3,15**	1,28±0,36**	72,62
ECU	6	100	7,13±2,62**	0,97±0,34**	81,55

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguida do teste de Tukey.

** $P < 0,001$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

Com o intuito de avaliar possíveis efeitos tóxicos do ECU durante o tratamento diário de 14 dias (no modelo de indução de úlcera gástrica por ácido acético), foram realizados exames bioquímicos com o soro coletado no momento da eutanásia. Foram quantificados o marcador inespecífico de lesão hepática (AST), marcador específico de lesão do parênquima hepático (ALT), indicador inicial de toxicidade hepática (γ GT), além de uréia e creatinina que são marcadores de lesão renal (Dugo et al., 2004). No entanto, nenhum parâmetro apresentou diferença estatisticamente significativa com relação ao grupo controle negativo (salina) (Tabela 4).

Tabela 4

Quantificação bioquímica da aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama-glutamilttransferase (γ -GT), creatinina e uréia em ratos tratados com salina (controle), cimetidina (200 mg/kg) ou extrato da casca da *Croton urucurana* (ECU, 100 mg/kg) por 14 dias no modelo de indução de úlcera gástrica por ácido acético.

Tratamentos (v.o.)	n	AST (U/L)	ALT (U/L)	γ -GT (U/L)	Creatinina (mg/dL)	Uréia (mg/dL)
Salina	6	121,27±13,57	24,83±1,14	7,55±1,17	0,57±0,05	31,93±4,93
Cimetidina	6	109,93±9,43	21,32±1,09	6,85±0,53	0,52±0,05	36,87±6,14
ECU	6	98,85±2,08	22,88±1,16	7,73±0,89	0,58±0,04	39,63±5,47
P		0,287	0,121	0,769	0,577	0,618

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

Além disso, nenhuma diferença significativa no peso, na mucosa e pêlos dos animais foi verificado com relação aos grupos controles (negativo e positivo) (dados não mostrados). Tais resultados corroboraram com os achados no teste de toxicidade aguda, indicando evidência de ausência de toxicidade do extrato metanólico da casca da *C. urucurana*.

Estes resultados diferem do que foi encontrado por Silva (1999), pois ao testar a toxicidade do látex da *C. urucurana*, em ratas *Wistar*, com tratamento diário com 0,1 mL/kg, foi constatado que no quarto dia houve morte de animais devido à insuficiência respiratória aguda, sendo que num período de 15 dias todas morreram. Isso demonstra que a casca da *C. urucurana* apresenta ser mais segura do que o látex, e reforça a necessidade de pesquisas com várias partes da mesma planta medicinal.

Após os resultados encontrados nestes modelos de prevenção e de cura da úlcera gástrica e a ausência de sinais de toxicidade, despertou-se o interesse em avaliar a possível relação do efeito gastroprotetor aos compostos sulfidrílicos e ao óxido nítrico.

Sabe-se que a aderência de neutrófilos no endotélio, causada por agentes agressores danificam a mucosa gástrica por liberar proteases e obstruir o fluxo sanguíneo. Em modelo animal, a inibição dessa aderência diminui o índice de lesão e por isso, estudos atentam-se para o papel do óxido nítrico e compostos sulfidrílicos, pois ambos são capazes de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa, estimular a secreção de muco e inibir a aderência de neutrófilos (Wallace et al., 1990).

Por sua vez, os compostos sulfidrílicos desempenham papel na citoproteção da mucosa gástrica (Okabe, 1986), pois no processo inflamatório espécies reativas de oxigênio são liberadas, as quais iniciam uma reação de peroxidação lipídica e morte celular (Repetto e Llesuy, 2002). Os compostos sulfidrílicos se ligam a estes radicais livres, evitando assim a morte celular, e conseqüentemente, a lesão gástrica (Ueshima et al., 1992).

Em nosso experimento pode-se observar que o inibidor de óxido nítrico sintetase (L-NAME) não alterou a citoproteção promovida pelo ECU (Tabela 5), demonstrando que o efeito gastroprotetor do ECU independe da presença de óxido nítrico. No entanto, foi evidente o envolvimento do ECU com os compostos sulfidrílicos (Tabela 5), já que a lesão gástrica foi significativamente maior quando os animais receberam o bloqueador de compostos sulfidrílicos (NEM) do que o grupo que recebeu salina. Tal fato pode estar relacionado com o muco, cuja produção é naturalmente controlada por compostos sulfidrílicos (Salin, 1992). O muco equivale a um gel transparente, viscoso, elástico, aderente, constituído por 95% de água e 5% de glicoproteínas, que cobre toda a mucosa (Repetto e Llesuy, 2002), protegendo-a da ação proteolítica das enzimas digestivas (Atuma et al., 2000; Allen e Flemstrom, 2005).

Tabela 5

Efeito do extrato metanólico da casca da *Croton urucurana* (ECU) sobre lesões gástricas induzidas por etanol em ratos pré-tratados com inibidor da óxido nítrico sintetase (L-NAME) ou bloqueador de compostos sulfidrílicos (NEM).

Pré-tratamentos (i.p.)	Tratamentos (v.o.)	n	Área total de lesão (mm ²)	%Área de lesão	Inibição (%)
Salina	Salina	7	113,63±19,37	11,45±2,16	-
Salina	Carbenoxolona	8	0,73±0,42	0,06±0,04	99,73
Salina	ECU	8	37,17±4,30	3,90±0,46	71,15
L-NAME	Salina	7	152,21±27,88	14,52±2,17	-
L-NAME	Carbenoxolona	8	37,53±8,18	16,08±6,26*	3,20
L-NAME	ECU	7	20,27±5,35	1,95±0,46	84,58
Salina	Salina	7	98,82±20,26	10,94±1,95	-
Salina	Carbenoxolona	7	2,31±1,25	0,27±0,14	98,94
Salina	ECU	7	20,94±5,96	2,39±0,70	81,13
NEM	Salina	8	219,39±33,05*	22,44±3,18*	-
NEM	Carbenoxolona	6	53,79±18,68	6,26±2,03	45,29
NEM	ECU	7	176,14±22,91**	17,02±2,14**	-

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguida do teste de Tukey.

* $P < 0,05$ comparado com o respectivo grupo controle negativo (salina).

** $P < 0,001$ comparado com o respectivo grupo controle negativo (salina).

Para avaliar a possível relação do ECU com a produção de muco, foi realizado o modelo de ligadura de piloro, que permite estudar as mudanças nos parâmetros do conteúdo gástrico (Andrade et al., 2008). Com isso, foi observado que o pré-tratamento intraduodenal com o extrato aumentou significativamente ($P < 0,05$) a produção de muco na mucosa estomacal com relação ao controle negativo (Tabela 6). Este aumento correlaciona-se com o efeito gastroprotetor gerado pelo ECU neste estudo, evidenciando, também, a ação sistêmica do extrato.

Tabela 6

Quantificação do muco aderido na mucosa gástrica de ratos tratados com extrato metanólico da casca da *Croton urucurana*.

Tratamentos (i.d.)	n	Dose (mg/kg)	Alcian blue quelado (mg/peso do tecido (g))
Salina	7	-	1,70±0,05
Carbenoxolona	7	200	2,03±0,02**
Cimetidina	7	200	1,60±0,03
ECU	7	100	1,95±0,05*

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

* $P < 0,05$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

** $P < 0,001$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

Utilizando ainda o modelo de ligadura de piloro, avaliou-se também a ação sistêmica do ECU na secreção gástrica, no pH e na concentração de íons de hidrogênio do conteúdo gástrico, após o pré-tratamento via intraduodenal. Neste experimento, o ECU,

assim como a cimetidina, aumentaram significativamente ($P < 0,05$) o gradiente de pH, assim como os íons H^+ , diminuindo a acidez gástrica (Tabela 7).

Tabela 7

Efeito do extrato metanólico da casca da *Croton urucurana* administrado intraduodenalmente nos parâmetros do suco gástrico no modelo de ligadura de piloro.

Tratamentos (i.d.)	n	Dose (mg/kg)	pH	Volume gástrico (mL)	[H ⁺] mEq/L/4h
Salina	7	-	2,67±0,18	1,56±0,25	51,83±8,95
Cimetidina	7	200	6,11±0,35**	0,93±0,16	14,59±2,09*
ECU	7	100	4,81±0,56*	1,97±0,42	28,55±5,49*

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

* $P < 0,05$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

** $P < 0,001$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

Essa queda na acidez estomacal contribui na terapêutica da úlcera gástrica, pois a exposição da mucosa a altas concentrações de ácido favorece a lesão epitelial (Laine et al., 2008), já que, o contato do ácido com os mastócitos da submucosa e da lâmina própria ativa a desgranulação dos mesmos e a liberação de histamina, a qual estimula a secreção pela célula parietal de ácido clorídrico, além de produzir inflamação e edema agudo no local (Rodrigues et al., 2008).

A atividade antiulcerogênica da casca da *C. urucurana* evidenciada neste estudo pode estar relacionada com seus constituintes reportados por estudos prévios, como as proantocianinas encontradas no estudo de Esmeraldino et al. (2005), as quais, pertencem ao grupo dos flavonóides, compostos altamente antioxidantes (Martínez-Florez et al., 2002; Trueba, 2003), assim como as catequinas encontradas no extrato metanólico da casca da *C. urucurana* por Peres et al. (1997).

Sabe-se que os flavonóides têm a capacidade de deter as espécies reativas de oxigênio (EROs) e os radicais livres produzidos via endógena e exógena, desencadeando facilmente a lesão da mucosa (Repetto e Llesuy, 2002).

As EROs ativam as vias de sinalização celular no início da transdução responsáveis pela ativação do fator nuclear kappa B (NF- κ B) e do ativador de proteína 1 (AP-1), resultando no aumento da regulação do gene da molécula de adesão inter-celular 1 (ICAM-1) no endotélio vascular e subsequente acumulação de neutrófilos (Chang et al., 2001). Esta resposta pró-inflamatória pode ser controlada pelas catequinas, antioxidantes que podem eliminar as EROs e conseqüentemente, a atividade anti-inflamatória (diminuindo NF- κ B, AP-1 e ICAM-1) (Yu et al., 2005).

Ainda, há evidência de que os flavonóides apresentam a capacidade de aumentar o conteúdo de prostaglandina na mucosa, diminuir a produção de histamina pelos mastócitos por inibição da enzima histidina descarboxilase, e ainda por inibir o crescimento de *Helicobacter pylori* (Borelli e Izzo, 2000), com isso, protegendo a mucosa contra fatores agressores.

No entanto, torna-se necessário realizar estudos com as frações do extrato da casca da *C. urucurana* para identificar qual grupo de compostos é responsável pelo efeito gastroprotetor, afim de elucidar se tal efeito relaciona-se com algum composto isolado ou se é devido ao sinergismo entre os mesmos, assim como elucidar os possíveis mecanismos envolvidos.

4. Conclusão

Conclui-se que o extrato metanólico da casca da *Croton urucurana* apresenta atividade gastroprotetora, tanto nos modelos de prevenção como no modelo de cura de úlcera gástrica, com resultados melhores que os obtidos com drogas já comercializadas e indicadas para o tratamento de úlcera gástrica. O efeito gastroprotetor não se relacionou a ação do óxido nítrico endógeno, mas foi dependente dos compostos sulfidrílicos, assim como aumentou a produção de muco e diminuiu a acidez gástrica. Além disso, o ECU nos parâmetros avaliados não desencadeou sinais toxicidade nos animais. Tais dados sugerem o potencial para o desenvolvimento de uma nova droga antiulcerogênica a partir do extrato da casca da *Croton urucurana*, porém faz-se necessário outros estudos para elucidar o possível mecanismo de ação do composto e/ou compostos envolvidos na sua ação antiulcerogênica, assim como a realização de estudos clínicos para suportar o uso pela população, como foi evidenciado nos estudos etnofarmacológicos.

Agradecimentos

Somos gratos à Profa. Zefa Valdivina Pereira - UFGD por identificar esta espécie de planta, ao Laboratório Escola de Análises Clínicas do Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela fonte de apoio à investigação.

Referências

- Adeyemi, E.O., Bastaki, S.A., Chandranath, I.S., Hasan, M.Y., Fahim, M., Adem, A., 2005. Mechanisms of action of leptin in preventing gastric ulcer. *World Journal of Gastroenterology* 27, 4154-4160.
- Alves, E.O., Mota, J.H., Soares, T.S., Vieira, M.C., 2008. Crescimento e distribuição espacial de *Croton urucurana* Baill. em Dourados-MS. *Revista Caatinga* 21, 83-88.
- Andrade, S.F., Antonioli, D., Comunello, E., Cardoso, L.G.V., Carvalho, J.C.T., Bastos, J.K., 2006. Antiulcerogenic activity of crude extract, fractions and populnic acid isolated from *Austroplenckia populnea* (Celastraceae). *Zeitschrift fur Naturforschung C* 61, 329-333.
- Andrade, S.F., Comunello, E., Noldin, V.F., Monache, F.D., Cechinel Filho, V., Niero, R., 2008. Antiulcerogenic activity of fractions and 3,15-dioxo-21d-hydroxy friedelane isolated from *Maytenus robusta* (Celastraceae). *Archives Pharmacal Research* 31, 41-46.
- Allen, A., Flemstro, G., 2005. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *American Journal of Physiology Cell Physiology* 288, 1-19.
- Atuma, C., Strugala, V., Allen, A., Holm, L., 2001. The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology* 280, 922-929.
- Bighetti, A.E., Antonio, M.A. Kohn, L.K., Rehder, V.L.G, Foglio, M.A., Possenti, A., Vilela, L., Carvalho, J.E., 2005. Antiulcerogenic activity of a crude hydroalcoholic extract and coumarin isolated from *Mikania laevigata* Schultz Bip. *Phytomedicine* 12, 72-77.
- Birdane, F.M., Cemek, M., Birdane, Y.O., Gülçin, İ., Büyükokuroğlu, M.E., 2007. Beneficial effects of *Foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. *World Journal of Gastroenterology* 13, 607-611.
- Bonacorsi, C., Raddi, M.S.G., Carlos, I.Z., Sannomiya, M., Vilegas, W., 2009. Anti-*Helicobacter pylori* activity and immunostimulatory effect of extracts from *Byrsonima crassa* Nied. (Malpighiaceae). *Complementary and Alternative Medicine* 9, 1-7.
- Borrelli, F., Izzo, A.A., 2000. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research* 8, 581-591.

- Cemek, M., Yilmaz, E., Büyükokuroğlu, M.E., 2010. Protective effect of *Matricaria chamomilla* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. *Pharmaceutical Biology* 48, 757–763.
- Chan, F.K., Leung, W.K., 2002. Peptic-ulcer disease. *Lancet* 360, 933-941.
- Chan, F.K., Sung, J.J., 2001. Role of acid suppressants in prophylaxis of NSAID damage. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 3, 1433-1445.
- Chang, C.K., Albarillo, M.V., Schumer, W., 2001. Therapeutic effect of dimethyl sulfoxide on ICAM-1 gene expression and activation of NF-B and AP-1 in septic rats. *Journal of Surgical Research* 95, 181–187.
- Cechinel Filho, V., Yunes, R.A., 1998. Estratégia para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutura para otimização da atividade. *Química Nova* 21, 99-105.
- CONCEA, 2008. Lei nº 11.974 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. *Diário Oficial*.
- Dugo, L., Collin, M., Cuzzocrea, S., Thiemermann, C., 2004. 15d-prostaglandin J2 reduces multiple organ failure caused by wall-fragment of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *European Journal of Pharmacology* 498, 295-301.
- Esmeraldino, L.E., Souza, A.M., Sampaio, S.V., 2005. Evaluation of the effect of aqueous extract of *Croton urucurana* Baillon (*Euphorbiaceae*) on the hemorrhagic activity induced by the venom of *Bothrops jararaca*, using new techniques to quantify hemorrhagic activity in rat skin. *Phytomedicine* 8, 570-576.
- Falcão, H.S., Mariath, I.R., Diniz, M.F.F.M., Batista, L.M., Barbosa-Filho, J.M., 2008. Plants of the American continent with antiulcer activity. *Phytomedicine* 15, 132-146.
- Glavin, G.B., Szabo, S., 1992. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. *The FASEB Journal* 3, 825-831.
- Gurgel, L.A., 2000. Avaliação experimental da atividade antidiarréica do látex da *Croton urucurana* Baill. 134f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- Gurgel, L.A., Silva, R.M., Santos, F.A., Martins, D.T.O., Mattos, P.O., Rao, V.S.N., 2001. Studies on the antidiarrhoeal effect of dragon's blood from *Croton urucurana*. *Phytother Research* 4, 319-322.
- Hayden, L.J., Thomas, G., West, G.B., 1978. Inhibitors of gastric lesions in the rat. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 30, 244-246.
- Klein, L.C., Gandolfi, R.B., Santin, J.R., Lemos, M., Cechinel Filho, V. Andrade, S.F., 2010. Antiulcerogenic activity of extract, fractions, and some compounds obtained from *Polygala cyparissias* St. Hillaire & Moquin (*Polygalaceae*). *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* 381, 121-126.
- Kummer, C.L., Coelho, T.C., 2002. Cyclooxygenase-2 inhibitors nonsteroid anti-inflammatory drugs: current issues. *Revista Brasileira de Anestesiologia* 4, 498-512.
- Laine, L., Takeuchi, K., Tarnawski, A., 2008. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology* 135, 41-60.
- Luchi, A.E., 2004. Anatomia do lenho de *Croton urucurana* Baill. (*Euphorbiaceae*) de solos com diferentes níveis de umidade. *Revista Brasileira de Botânica* 27, 271-280.
- Malfertheiner, P., Chan, F.K., Mccoll, K.E., 2009. Peptic ulcer disease. *Lancet* 374, 1449-1461.

- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., Tuñón, M.J., 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria* 6, 271-278.
- Matsuda, H., Li, Y., Yoshikawa, M., 1999. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulphhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by mormodin Ic, on oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesion in rats. *Life Sciences* 65, 27-32.
- Mello, V.J., Gomes, M.T.R., Lemos, F.O., Delfino, J.L., Andrade, S.P., Lopes, M.T.P., Salas, C.E., 2008. The gastric ulcer protective and healing role of cysteine proteinases from *Carica candamarcensis*. *Phytomedicine* 15, 237-244.
- Monteiro, E.C.A., Trindade, J.M.F., Duarte, A.L.B.P., Chahade, W.H., 2008. Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). *Temas de Reumatologia Clínica* 2, 53-63.
- Morimoto, Y., Shimohara, K., Oshima, S., Sukamoto, T., 1991. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. *Japanese Journal of Pharmacology* 57, 495-505.
- Oates, P.J., Hakkinen, J.P., 1988. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterology* 94, 10-21.
- OECD, 2001. Guideline for testing of chemicals: acute oral toxicity-acute toxic class method, n. 423. Paris, France. december 17, pp.14
- Okabe, S., Amagase, K., 2005. An overview of acetic acid ulcer models the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 8, 1321-1341.
- Okabe, S., Miyake, H., Awane, Y., 1986. Cytoprotective effects of NC-1300 and omeprazole on HCl ethanol-induced gastric lesions in rats. *Japanese Journal of Pharmacology* 42, 123-133.
- Oliveira, I.S., Lima, J.C.S., Silva, R.M., Martins, D.T.O., 2008. Triagem da atividade antibacteriana *in vitro* do látex e extratos de *Croton urucurana* Baillon. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18, 587-593.
- Peres, M.T., Delle Monache, F., Cruz, A.B., Pizzolatti, M.G., Yunes, R.A., 1997. Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (*Euphorbiaceae*). *Journal of Ethnopharmacology* 3, 223-226.
- Repetto, M.G., Llesuy, S.F., 2002. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 5, 523-534.
- Robert, A., 1979. Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterology* 77, 761-767.
- Rodrigues, P.A., Morais, S.M., Marques, M.M.M., Aguiar, L.A., Nunes-Pinheiro, D.C.S., 2008. Atividade antioxidante e gastro-protetora de produtos naturais em animais experimentais. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 10, 116-123.
- Rodríguez-Hernández, H., Jacobo-Karam, J.S., Guerrero-Romero, F., 2001. Factores de riesgo para la recurrencia de úlcera péptica. *Gaceta Médica de México* 137, 303-310.
- Salim, A.S., 1992. Sulphydryl-containing agents: a new approach to the problem of refractory peptic ulceration. *Pharmacology* 45, 301-6.
- Santin, J.R., Lemos, M., Klein, L.C.J., Niero, R., Andrade, S.F., 2010. Antiulcer effects of *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Asteraceae) (Marcela), a folk medicine plant, in different experimental models. *Journal of Ethnopharmacology* 130, 334-339.
- Sener, G., Paskaloglu, K., Anyaanoglu-Dulger, G., 2004. Protective effect of increasing doses of famotidine, omeprazole, lansoprazole, and melatonin against ethanol-induced gastric damage in rats. *Indian Journal of Pharmacology* 36, 171-174.

- Silva, G. A., 1999. Estudo farmacognóstico de *Croton urucurana* Baillon (sangra d'água). 285f. Tese (Doutorado em Fármacos e Medicamentos). Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, São Paulo.
- Simionatto, E., Bonani, V.F.L., Morel, A.F., Poppi, N.R., Raposo Júnior, J.L., Stuker, C.Z., Peruzzo, G.M., Peres, M.T.L.P., Hess, S.C., 2007. Chemical composition and evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (*Euphorbiaceae*) stem bark. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 5, 879-885.
- Shay, H., Komarov, S.A., Fels, S.S., Marenze, D., Grunstein, M., Siplet, H., 1945. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology* 5, 43-61.
- Sun, S.B., Matsumoto, T., Yamada, H., 1991. Effects of a polysaccharide fraction from the roots of *Bupleurum folcatum* L. on experimental gastric ulcer models in rats and mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 43, 669-704.
- Takagi, K., Okabe, S., Saziki, R., 1969. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. *The Japanese Journal of Pharmacology* 19, 418-426.
- Tarnawski, A., 2000. Molecular mechanisms of ulcer healing. *Drug News & Perspectives* 13, 3, 158-168.
- Trueba, G.P., 2003. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana Investigaciones Biomédicas* 1, 48-57.
- Ueshima, K., Takeuchi, K., Okabe, S., 1992. Effects of sulfhydryl-related compounds on indomethacin induced gastric lesions in rats: role of endogenous sulfhydryls in the pathogenesis. *Japanese Journal of Pharmacology* 58, 157-165.
- Vasconcelos, P.C.P., Andreo, M.A., Vilegas, W., Hiruma-Lima, C.A., Pellizzon, C.H., 2010. Effect of *Mouriri pusa* tannins and flavonoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology* 131, 146-153.
- Yuan, Y., Padol, I.T., Hunt, R.H., 2006. Peptic ulcer disease today. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology* 3, 80-89.
- Yu, H.J., Lin, B.R., Lee, H.S., Shun, C.T., Yang, C.C., Lai, T.Y., Chien, C.T., Hsu, S.M., 2005. Sympathetic vesicovascular reflex induced by acute urinary retention evokes proinflammatory and proapoptotic injury in rat liver. *American Journal Physiology Renal Physiology* 288, 1005-1014.
- Wallace, J.L., Keenan, C.M., Granger, D.N., 1990. Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a neutrophil-dependent process. *American Journal of Physiology* 259, 462-467.
- WHO, 1999. Monographs on selected medicinal plants. Geneva. pp. 289.
- Zapata-Colindres, J.C., Zepeda-Gómez, S., Montañó-Loza, A., Vázquez-Ballesteros, E., Villalobos, J.J., Valdovinos-Andraca, F., 2006. The association of *Helicobacter pylori* infection and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in peptic ulcer disease. *The Canadian Journal of Gastroenterology* 20, 277-280.

5.2. Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal 121/10

COMITÊ DE ÉTICA PARA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

Dourados, 14 de Junho de 2010.

Prezados Pesquisadores:

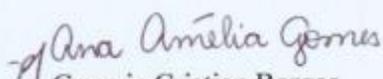
Karina de Cássia Freitas

Kátia Wolff Cordeiro

O Projeto de vossa autoria 121/10, intitulado: “*Avaliação da eficácia da *Cróton urucurana* Baill. e da semente do mamão papaia (*Carica papaya*) na prevenção de úlcera péptica induzida em animais*” foi integralmente **APROVADO** pelo CEP-UNIGRAN e poderá ser conduzido. Os pesquisadores atenderam as recomendações dos relatores.

Ressalto que os relatórios semestrais devem ser apresentados ao Comitê para acompanhamento e que alterações em seu projeto devem ser avisadas previamente a coordenação.

Respeitosamente,


Georgia Cristian Borges

Coordenadora do CEP-UNIGRAN

Ana Amélia Gomes
Secretária Executiva CEP-UNIGRAN

5.3. Carta de Aprovação do Comitê Ética em Experimentação Animal 041/11



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA UNIGRAN

Dourados, 14 de junho de 2011.

Prezada Pesquisadora
Karine de Cássia Freitas

O Projeto de vossa autoria **041/11**, intitulado: “**Atividade antiulcerogênica da *Cróton urucurana* na prevenção e cura de úlcera gástrica induzida em animais** ” foi integralmente **APROVADO** pelo CEP-UNIGRAN e poderá ser conduzido.

Ressalto que os relatórios semestrais devem ser apresentados ao Comitê para acompanhamento e que alterações em seu projeto devem ser avisadas previamente a coordenação.

Respeitosamente,


Adriana Mary Mestriner Felipe de Melo
Coordenadora do CEP-UNIGRAN