

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**APLICAÇÃO DO EXTRATO DA SEMENTE DO MAMÃO
(*Carica papaya* Linn) NA PREVENÇÃO E NO
TRATAMENTO DA ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA EM
ANIMAIS**

LORRAINE APARECIDA PINTO

**DOURADOS-MS
2013**

LORRAINE APARECIDA PINTO

APLICAÇÃO DO EXTRATO DA SEMENTE DO MAMÃO (*Carica papaya* Linn) NA PREVENÇÃO E NO TRATAMENTO DA ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA EM ANIMAIS

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 Eliana Janet Sanjinez Argadoña

**DOURADOS-MS
2013**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central da UFGD, Dourados, MS, Brasil**

P659a Pinto, Lorraine Aparecida.
Aplicação do extrato da semente do mamão (*Carica papaya* Linn) na prevenção e no tratamento da úlcera gástrica induzida em animais / Lorraine Aparecida Pinto – Dourados, MS : UFGD, 2013.
68 f.

Orientadora: Profa. Dra. Karine de Cássia Freitas.
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) –
Universidade Federal da Grande Dourados.

1. Úlcera – Tratamento. 2. Úlcera gástrica. 3.
Semente do mamão (medicamento). I. Título.

CDD: 616.99

Agradecimentos

No momento em que pronunciamos a palavra “agradecimentos”, para retribuir a todos que colaboraram com esta conquista, o agradecimento parece tão amplo, e ao mesmo tempo, tão pequeno.

Meu agradecimento vem de minha alma e do meu coração.

Não há como enumerar a ordem de importância de todas as pessoas que se dispuseram a me ajudar, e a avançar nesta nova etapa.

Minha querida MÃE, a senhora mesmo ausente, é tão presente em minha vida. É engraçado e ao mesmo tempo tão surreal, mas acredite a sua essência é minha essência, o que sou hoje, vem de TI. As atitudes pensadas e repensadas, a maneira de ser, não há como fugir... Sou sua filha de corpo, alma e olhar.

PAI, obrigado eternamente por me amar! Só o senhor mesmo para me ajudar a procurar uma plantação de mamão incansavelmente e sentir o maior orgulho de ser meu PAI, e muitas vezes querendo até escrever minha dissertação: “minha filha é fácil escrever, quer que eu te ajude?”.

Aos meus irmãos Flávio e Eveline, que muitas vezes coloquei para participar dos meus estudos, e principalmente dos meus sonhos, me auxiliando em experimentos, nas limpezas das caixas e muito mais. E principalmente, por aguentar os momentos difíceis, que não foram poucos!

Ao meu querido “co-mestrando”, Nichollas, que se empenha de todas as formas para me auxiliar, muitas vezes apreendendo com mais facilidade do que eu. E adorando explicar como fazer, de forma correta é claro! A você meu amor, dedico esta nossa conquista, pois definitivamente somos uma só carne, minha conquista é sua conquista. Amo-te e obrigado por existir.

A Kátia Cordeiro Wolf, ou melhor, Kátia Wolff Cordeiro, minha amiga o que falar de você? Tenho tantas coisas para dizer que acredito que não caberiam aqui, mas quero agradecer mesmo a sua parceria, sua amizade e seu carinho. Este mestrado é um sonho que foi construído juntamente com você, em todas as etapas, na dificuldade, na alegria, nas muitas risadas e nos choros. Te amo muito minha amiga e meu sincero obrigado. E que venha mais pesquisas, pois amamos o que fazemos.

Antes que eu me esqueça, você sempre menciona querer ser uma profissional igual a mim, te garanto que você é melhor, sinto orgulho de ser sua amiga, e ter você como colega de profissão.

A Lidiani, companheira dos experimentos, sempre disposta a auxiliar, apreender técnicas novas e sempre com um bom humor. Minha estagiária de nutrição, que ao longo do tempo transformou-se em amiga, e uma futura colega de profissão apaixonada pela pesquisa.

Ao grupo de pesquisa da Prof^a Dr^a. Eliana Janet Sanjinez Argadoña, da Faculdade de Engenharia de Alimentos – FAEN, pelo espaço, conhecimento e parceria na realização de diversas pesquisas, principalmente a Débora e a Carol, que me auxiliaram na confecção do extrato da semente do mamão, na dosagem das fibras e na avaliação da atividade antioxidante, com muita paciência e compreensão.

Ao grupo de pesquisa do Prof. Dr. Carlos Alexandre Carollo, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, que me recebeu com muito carinho e atenção em seu laboratório, juntamente com seu aluno de pós-doutorado, Edson, que me auxiliou na identificação e na extração exaustiva dos compostos presentes na semente do mamão, com técnicas inovadoras e um conhecimento espetacular sobre os compostos químicos.

A Prof^a. Dr^a. Claudia Andréa Lima Cardoso da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, que nos recebeu com toda atenção e realizou análises pontuais da composição fitoquímica do extrato e demonstrou prontidão para trabalhar em parceria em novos estudos.

Ao Prof. Dr. José Luiz Fornasieri, pela disponibilidade de ir até o local de plantação dos pés de mamão para identificação do fruto.

Aos meus colegas de mestrado Alecxandra, Juci, Aline e Viviane, que sempre me auxiliaram e contribuíram para resultados fidedignos, e principalmente pelo companheirismo. Quero agradecer de coração a Aline. Não tenho palavras para descrever sua garra e sua vontade de vencer os obstáculos. Obrigada por sua amizade verdadeira.

A Viviane pelo auxílio desempenhado em todos os experimentos, na elaboração de projetos, nas orações, nas conquistas adquiridas. Obrigada por me auxiliar a conquistar esta nova etapa de minha vida.

A nossa estagiária do ensino médio, Aline, que nos auxilia a cuidar de nossos animais, nunca ausente, com responsabilidade e compromisso.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pelo recurso concedido para a realização da pesquisa.

Agradeço, também, a Secretaria Municipal de Saúde de Dourados, por permitir o meu afastamento, para conclusão da pesquisa.

Aos nossos ratos, sem eles não haveria tal estudo.

A Universidade Federal da Grande Dourados- Faculdade de Ciências da Saúde, por disponibilizar instalações, equipamentos e materiais necessários à realização deste trabalho.

E finalmente agradecer a Deus, por me proporcionar esta nova realização, me guiando e iluminando os meus passos, colocando na minha vida a Prof^a Karine, que é uma pessoa espetacular, que me conduziu e orientou muito. Acredito fielmente que Deus sabe o que faz.

Prof^a Karine, novamente as palavras não conseguem expressar minha gratidão pela senhora. Obrigada pela paciência, companheirismo, ensinamentos, pela sua presença constante, e desculpe as falhas ocasionadas sem propósito.

Certo dia, ouvi uma mulher sábia comentar que havia feito um propósito a Deus. Que ela e sua família, seria um exemplo para outras pessoas e perante aos olhos de Deus. Acredito que seus pais devem ter feito o mesmo propósito, pois a senhora é um exemplo a ser seguido, de coração. Orgulho-me de ser sua orientanda. Cada pessoa que passa em nossa vida passa sozinha e não nos deixa só, porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso.

Muito Obrigada!

Dedicatória

A aquela que me amou do início ao fim de sua vida, que apenas com um olhar podia me compreender, que mesmo ausente, sinto o seu incentivo para nunca desistir dos meus SONHOS. Sinto sua falta.

Obrigada Mãe!

Resumo

Objetivos: Avaliar o efeito gastroprotetor e curativo do extrato metanólico das sementes do mamão formosa *Carica papaya* Linn (EMCP) em ratos.

Metodologia/Constatações Principais: Utilizaram-se os modelos de indução de úlcera gástrica aguda por etanol e indometacina e úlcera crônica por ácido acético, em ratos. 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. Entre os parâmetros analisados, nenhum sinal de toxicidade foi observado. No modelo de etanol o EMCP nas doses de 125, 250 e 500 mg/kg reduziram significativamente a lesão gástrica com 56,16%, 76,08% e 82,54% de inibição, respectivamente, e o lansoprazol na dose de 30 mg/kg apresentou 79,08% de inibição. No modelo de indometacina, as três doses do EMCP e da cimetidina (200 mg/kg), reduziram significativamente a lesão gástrica, com 61,67%, 66,77%, 81,40% e 85,12% de inibição, respectivamente. Os tratamentos com EMCP (500 mg/kg) e cimetidina (200 mg/kg) apresentaram redução significativa nos parâmetros ulcerativos induzidos pelo ácido acético, com 84,33% e 73,07% de cura, respectivamente. O EMCP não apresentou envolvimento com o óxido nítrico, pois manteve os níveis de inibição. Porém, a atividade antiulcerogênica do EMCP parece envolver os compostos sulfidrílicos (GSH), já que a inibição caiu de 72,51% para 13,41% na presença do inibidor dos GSH. Além disso, o EMCP apresentou ação sistêmica, aumentando a produção de muco e diminuindo a acidez gástrica.

Conclusão: Os tratamentos com o EMCP induzem a atividade de gastroproteção, sem sinais de toxicidade. Este efeito parece envolver compostos sulfidrílicos, aumentando o muco e reduzindo a acidez gástrica.

Abstract

Objectives: To evaluate the gastroprotective and healing effects of the methanolic extract of the formosa papaya *Carica papaya* Linn (MECP) seed in rats.

Methodology/Main Findings: Models of acute gastric ulcer induction by ethanol and indomethacin and of chronic ulcer by acetic acid were used in rats. The gastric juice and mucus parameters were evaluated using the pylorus ligation model, and the gastroprotective action involvement of sulfhydryl compounds (GSH) and nitric oxide were analyzed using the ethanol model. The toxicity was assessed through acute and subacute toxicity tests. No sign of toxicity was observed among the analyzed parameters. The MECP in doses of 125, 250, and 500 mg/kg significantly reduced the gastric lesion with 56.16%, 76.08%, and 82.54% inhibition, respectively, and a dose of 30 mg/kg lansoprazole showed 79.08% inhibition in the ethanol model. The MECP (125, 250, 500 mg/kg) and cimetidine (200 mg/kg) doses significantly reduced the gastric lesion in the indomethacin model, with 61.67%, 66.77%, 81.40%, and 85.12% inhibition, respectively. The MECP (500 mg/kg) and cimetidine (200 mg/kg) treatments showed a significant reduction in ulcerative parameters induced by acetic acid with a cure of 84.33% and 73.07%, respectively. MECP showed no involvement with the nitric oxide levels because it kept the inhibition levels. However, the antiulcerogenic activity seems to involve the MECP GSH because the inhibition dropped from 72.51% to 13.41% in the GSH inhibitor's presence. Moreover, the MECP showed systemic action, increasing the mucus production and decreasing gastric acidity.

Conclusion: Treatments with MECP induce gastroprotection activity without toxicity signs. This effect seems to involve sulfhydryl compounds, increased mucus, and reduced gastric acidity.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	03
2.1 Sistema Digestivo.....	03
2.2 Secreção Gástrica	06
2.3 Elementos secretados da mucosa gástrica.....	07
2.3.1 Secreção de Muco e Bicarbonato	07
2.3.2 Secreção do Ácido Clorídrico (HCl).....	07
2.3.3 Secreção de Pepsinogênio	08
2.4 Regulação neuroendócrina da secreção gástrica	08
2.5 Fatores Protetores da Mucosa Gástrica.....	10
2.5.1 Barreira de Muco-Bicarbonato-Fosfolipídeos	11
2.5.2 Prostaglandinas.....	12
2.5.3 Fluxo Sanguíneo Contínuo.....	12
2.5.4 Óxido Nítrico.....	13
2.5.5 Compostos Sulfidrílicos.....	13
2.5.6 Antioxidante.....	14
2.6 Fisiopatologia da Úlcera Gástrica.....	15
2.7 Modelos de Indução da Úlcera Gástrica em Animais.....	17
2.7.1 Mecanismo de Úlcera Gástrica Induzida por Etanol.....	17
2.7.2 Mecanismo de Úlcera Gástrica Induzida por AINEs (Indometacina).....	18
2.7.3 Mecanismo de Indução de Úlcera Gástrica por Ácido Acético.....	20
2.8 Tratamento Medicamentoso.....	20
2.9 Plantas Medicinais	21
2.10 <i>Carica papaya</i> Linn.....	22
3. OBJETIVOS.....	26
4. BIBLIOGRÁFIAS.....	27
5. ANEXOS.....	40
5.1. Artigo Científico.....	40
5.2. Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal.....	68

1. INTRODUÇÃO

Elementos da natureza para fins terapêuticos são empregados historicamente pela civilização humana, destacando-se a utilização de produtos fitoterápicos, que são consumidos sob a forma de medicamentos. Tais produtos são derivados de plantas medicinais, que possuem em sua composição compostos ativos, utilizados para diversas finalidades, como profilática, curativa, paliativa ou mesmo para fins de diagnóstico, voltados à saúde humana [1].

A utilização de plantas medicinais com finalidade terapêutica foi reconhecida oficialmente pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 1978, com difusão em âmbito mundial dos conhecimentos necessários para o consumo, respeitando os critérios e as normativas vigentes para a sua aplicabilidade. No entanto, ainda existe o consumo de plantas medicinais sem embasamento científico suficiente, que acontece em decorrência das indicações populares [1].

Estima-se que 80% da população brasileira utilizam produtos à base de plantas medicinais na atenção à saúde, com o intuito de tratar e prevenir diversas doenças [2, 3, 4]. Destaca-se que pesquisas científicas estão partindo do uso popular para evidenciar a efetividade das plantas, as quais são ativas para distintos fins terapêuticos [5, 6, 7, 8].

Dentre as doenças tratadas com base na indicação popular, encontra-se a úlcera péptica, que abrange tanto a úlcera gástrica como a duodenal [9]. A úlcera péptica está sendo considerada como a nova epidemia do século 21 [10], pois anualmente afeta 4 milhões de pessoas no mundo [11], principalmente os idosos. Fator este preocupante, já que a população mundial está se tornando cada vez mais idosa [12], e tais indivíduos tendem a ter maior prevalência de comorbidade e fatores relacionados a transtornos da secreção gástrica [13].

Estes transtornos são ocasionados pelo desequilíbrio entre os fatores gastroprotetores e agressores da mucosa gástrica, além de outros fatores de origem genética, que provocam inflamação do tecido gástrico [14, 15].

Na literatura, observa-se que diversas plantas e alimentos já foram estudados na prevenção e no tratamento de úlcera gástrica, sendo alegado que as suas propriedades

terapêuticas podem estar relacionadas com a presença de flavonoides, taninos, gomas, fibras, mucilagens, terpenóides, isotiocianato, alcalóides, glicosídeos, saponinas e esteróides [16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24].

Alguns desses compostos mencionados anteriormente encontram-se presentes nas sementes do mamão *Carica papaya* Linn [25, 26], o que pode validar o seu consumo popular para o tratamento da úlcera gástrica. No entanto, ainda não há dados que evidencie a sua efetividade na gastroproteção [27]. Dessa forma, este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar se o extrato metanólico da semente do mamão formosa *Carica papaya* Linn, possui ação protetora e/ou curativa no tratamento da úlcera gástrica, utilizando diferentes modelos experimentais.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Sistema Digestório

A fisiologia aponta as principais funções do sistema digestório. Além dos processos inerentes à digestão e absorção dos alimentos, consiste em um dos sistemas endócrinos mais importantes do corpo, devido a sua própria rede neuronal integrativa, innervados pelos plexos mioentéricos e submucosos interconectados [28]. São responsáveis pela digestão das substâncias alimentares advindas da nutrição extracorpórea e pela absorção de moléculas provenientes de nutrientes para corrente sanguínea [29], fornecendo suprimentos essenciais ao metabolismo [30].

Constituído basicamente por um longo tubo muscular com epitélio especializado, que compreende a boca, faringe, esôfago, estômago, intestino delgado e grosso, ânus e órgãos anexos, como as glândulas salivares, fígado e o pâncreas, os quais são responsáveis por secretar substâncias que auxiliam no processo digestivo dos alimentos, e são controlados pelos sistemas nervoso e endócrino, para realizar a função de receber, digerir, absorver e eliminar substâncias ingeridas [31].

Neste processo, o tubo digestivo é a parte fundamental para a simplificação do alimento, obedecendo a uma sucessão de etapas. O estômago, que é o órgão de interesse desse estudo, serve como reservatório do alimento, processando-o mecanicamente, favorecendo a formação do quimo e, quimicamente, o estômago contribui pela secreção de pepsina, ácido clorídrico e do fator intrínseco, além de direcionar os alimentos parcialmente digeridos para o intestino, que completa o processo de digestão e absorção dos nutrientes [32].

O estômago é constituído por quatro regiões anatômicas (Figura 1), com características diferenciadas, sendo distribuídas em cárdia, fundo, corpo, antro ou porção pilórica. A parede do tubo digestivo é composta por camadas teciduais, tais como a mucosa, submucosa, camada muscular ou muscular externa e camada serosa ou serosa, com algumas características individuais peculiares a cada região (Figura 2). O estômago, além de ter uma camada longitudinal externa e uma circular interna de músculo liso, possui

uma camada oblíqua localizada dentro da camada circular, sendo a musculatura mais abundante na porção pilórica [31].

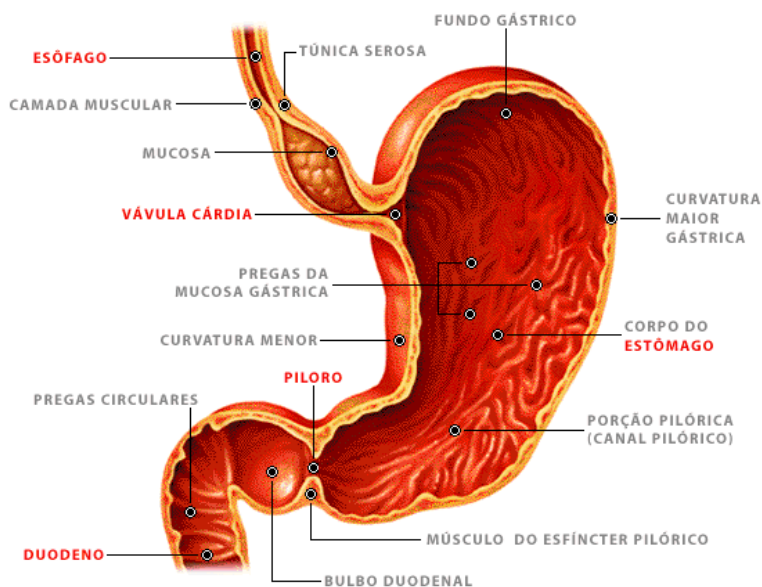


Figura 1. Representação anatômica e estrutural da mucosa gástrica. Fonte: Enciclopédia do Corpo Humano [33].

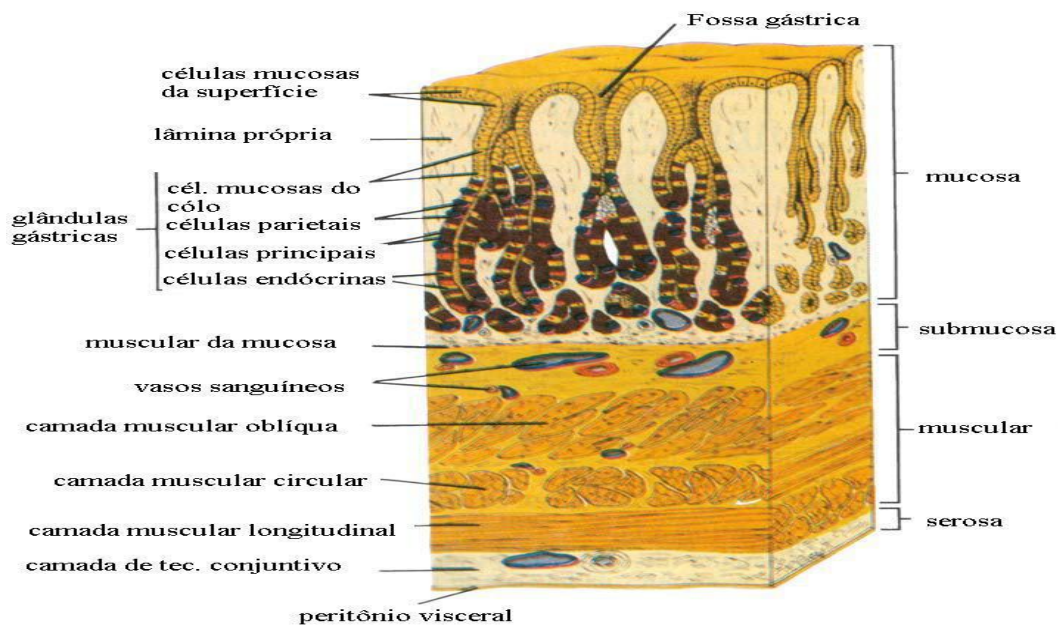


Figura 2. Estruturas da mucosa gástrica de acordo com SCHAUF [34], com modificações.

A mucosa gástrica é limitada na superfície pela membrana plasmática apical das células epiteliais superficiais e pelo estrato muscular da mucosa na região basal das glândulas gástricas. Seu epitélio é formado por células que revestem a superfície, as depressões gástricas e as glândulas gástricas. As células que revestem a superfície e as depressões gástricas são semelhantes, ambas secretam muco e bicarbonato, no entanto as glândulas gástricas possuem características diferenciadas de uma região para a outra do estômago [30, 31].

Na mucosa gástrica encontram-se uma série de depressões denominadas fossetas gástricas, que são pequenas invaginações da mucosa do estômago, nas quais desembocam as glândulas gástricas classificadas em fúndicas, pilóricas e cárdicas [30, 31].

Glândulas fúndicas: as glândulas fúndicas, oxínticas ou gástrica (Figura 3), compreendem 80% do órgão, localizadas principalmente no corpo e fundo do estômago. São constituídas de células de distribuição não-uniforme, tais como os *mucócitos cervicais* (células secretoras de muco, pepsinogênio (tipo II)), *células-tronco* (regeneração celular do epitélio gástrico), *células parietais* (produtoras e secretoras do ácido clorídrico e do fator intrínseco), *células principais* (produtora e secretora dos grânulos de pepsinogênio (tipo I e II)), *endocrinócitos* (secretora de serotonina, somatostatina, polipeptídeo intestinal vasoativo (VIP)) e *células enterocromafins* (ECL) (secretora de histamina) [30, 31, 35].

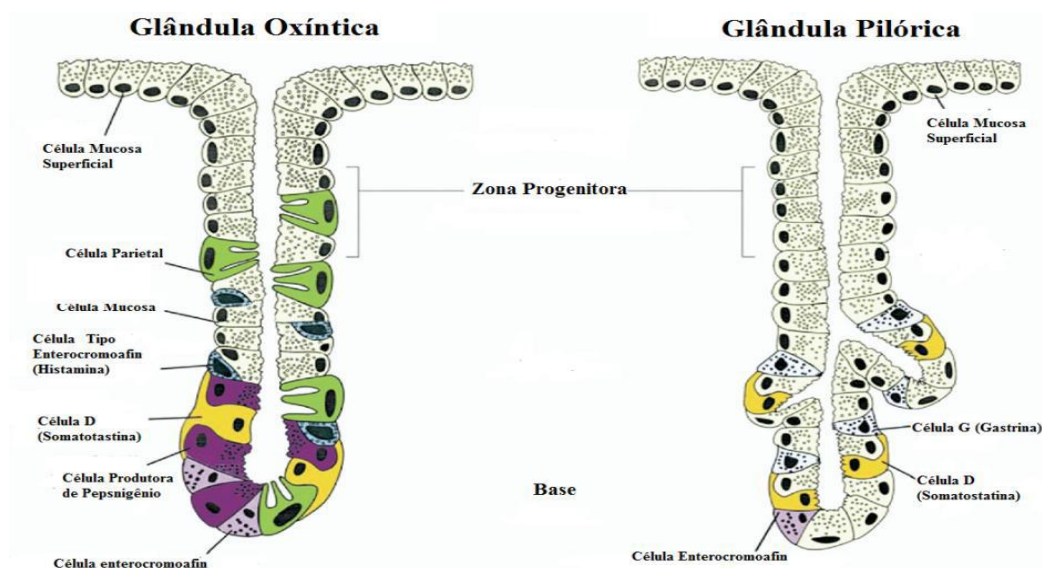


Figura 3. Anatomia funcional das glândulas da mucosa gástrica. Adaptada de Schubert [36].

Glândulas cardíacas: situadas próximo à terminação do esôfago. São similares às glândulas da porção terminal do esôfago, com a presença dos mucócitos, com poucas ou nenhuma células zimogênicas, parietais e endocrinócitos. Secretam muco e pepsinogênio (tipo II) [30, 31, 35].

Glândulas pilóricas: situam-se no antro (Figura 3), ocupam em torno de 15% do estômago. Essas glândulas são como as cardíacas, tanto na forma quanto na constituição celular, no entanto, as glândulas pilóricas são curtas e desembocam em fossetas longas e apresentam muitos endocrinócitos produtores do hormônio gastrina [37], células enterocromafins, produtoras de serotonina, células D, produtoras de somatostatina e células produtoras de enteroglucagon [30, 31, 35].

Outras células não epiteliais localizadas na lâmina própria são importantes na fisiologia da secreção ácida, como a presença de mastócitos, produtores de histamina que possuem o papel de estimular a secreção ácida e os plasmócitos, que secretam imunoglobulina A (IgA) no muco e no suco gástrico. Embora a IgA não tenha efeito conhecido na secreção gástrica, certas moléculas de IgA são produzidas pelos plasmócitos, que em condições patológicas, atuam sobre os antígenos de células secretoras de ácido clorídrico (HCl) [30, 31].

Todas essas estruturas gástricas desempenham funções específicas, essenciais para a manutenção da integridade gástrica. Estão relacionadas à secreção de HCl, pepsinogênio, muco, bicarbonato e prostaglandinas, além de outras substâncias, como o óxido nítrico (ON), as enzimas antioxidantes e a glutatona reduzida (GSH) [35].

2.2 Secreção Gástrica

A secreção gástrica é produzida pelas células parietais, presentes nas glândulas oxínticas [38], localizadas na região glandular do corpo e fundo do estômago, reguladas pelas vias neuronal (glândula pituitária), parácrina (histamina) e endócrina (gastrina, grelina e apelina) [32, 39], através de um mecanismo direto ou indireto constituído de três fases, a cefálica, gástrica e intestinal [31].

Tais fases são responsáveis por desenvolverem funções fisiológicas diferenciadas, de acordo com o local onde surge o estímulo que inicia a secreção gástrica podendo chegar a produção diária de 1500 mL de suco gástrico em todo o processo digestivo [31].

2.3 Elementos secretados pela mucosa gástrica

2.3.1 Secreção de Muco e Bicarbonato

As células epiteliais superficiais e as células mucosas, que se encontram nas glândulas distribuídas em todo o estômago são produtoras de muco gástrico (solução coloidal de mucina), responsável por formar uma camada espessa que lubrifica a superfície gástrica, proporcionando uma camada inerte de água que retarda a difusão de íons H^+ para a mucosa, separando-a do meio intragástrico fortemente ácido [40].

Outra secreção das células epiteliais é o bicarbonato que se difunde para o interior da camada inerte que recobre o epitélio gástrico, com pH alcalino (pH 7.0). O seu mecanismo de secreção no suco gástrico acontece contra o gradiente eletroquímico, com transporte HCO_3^- e Cl^- na superfície luminal, estimulada pelo nervo vago e mediada em nível colinérgico, tornando o epitélio gástrico coberto por uma camada de muco e bicarbonato, responsáveis pela proteção contra o mecanismo de acidez do suco gástrico [40].

2.3.2 Secreção do Ácido Clorídrico (HCl)

Um dos principais papéis do estômago é a produção do ácido clorídrico, que facilita a digestão de proteínas, promove a absorção de ferro, de cálcio, de vitamina B12 e de alguns medicamentos. Além disso, contribui no combate de bactérias, infecções entéricas, pneumonia, peritonite bacteriana espontânea, e na prevenção de alergias alimentares [32, 35].

O mecanismo básico para acidificar o suco gástrico é realizado por uma bomba de prótons, existente na célula parietal, que secreta o HCl. Neste mecanismo, o ácido não é formado dentro das células, mas sim fora delas. Os prótons e íons cloreto são extraídos do sangue e lançados ativamente nos canalículos intracelulares das células parietais, onde se combinam para formar o HCl [40].

Para esta formação, os íons H^+ são bombeados contra um alto gradiente de concentração, a partir da H_2O . Os íons OH^- reagem com CO_2 , originando H^+ e HCO_3^- . Este HCO_3^- é trocado por Cl^- através de um sistema antiporte localizado na membrana basolateral da célula. Os íons Cl^- trocados pelo HCO_3^- e transportados pelos canalículos

intracelulares juntamente com os íons K^+ , pelas vias de condutância de Cl^- e K^+ , associados à ATPase $H^+ - K^+$ e secretados para fora das células. Os íons H^+ são trocados na relação 1:1, pela catalisação da ATPase $H^+ - K^+$, o que resulta na presença do HCl no suco gástrico [40].

2.3.3 Secreção de Pepsinogênio

O pepsinogênio é uma proteína digestiva, secretada e armazenada em grânulos zimogênicos das células principais na forma de pró-enzimas, que no lúmen do estômago é convertido em enzima ativa pelo ácido clorídrico presente no suco gástrico, sendo a partir de então, denominada pepsina [40]

A estimulação da secreção gástrica estimula a produção de pepsinogênio, que sofre a ação de agentes como as prostaglandinas, acetilcolina, colecistoquinina, secretina, peptídeo vasoativo intestinal (VIP), fatores de crescimento epidérmico e óxido nítrico, e do aumento do nível intracelular de Adenosina Monofosfato Cíclica (AMPC), do cálcio intracelular, excitação vagal, histamina e a gastrina [41].

2.4 Regulação neuroendócrina da secreção gástrica

A mucosa gástrica é constituída por células com funções específicas e complexas, reguladas por mecanismos neurais, endócrinos e parácrinos, os quais são compreendidos em níveis centrais e periféricos que realizam o processo de secreção do ácido gástrico, por meio da atividade de determinadas enzimas nas células parietais gástricas, envolvendo mecanismos diretos e indiretos, estimulando ou inibindo o processo de secreção [35, 42, 43].

Dentre estes, os sinais sensoriais, como o paladar, o olfato, a sensação ou visualização dos alimentos ativam os neurônios do sistema nervoso central (SNC) com impulsos, os quais são transmitidos pela via do nervo vago a neurônios intramurais gástricos. Destaca-se o peptídeo liberador de gastrina (GRP), peptídeo intestinal vasoativo (VIP), peptídeo ativador de adenilato ciclase pituitárias (PACAP) e a acetilcolina (ACh) (Figura 4) [35].

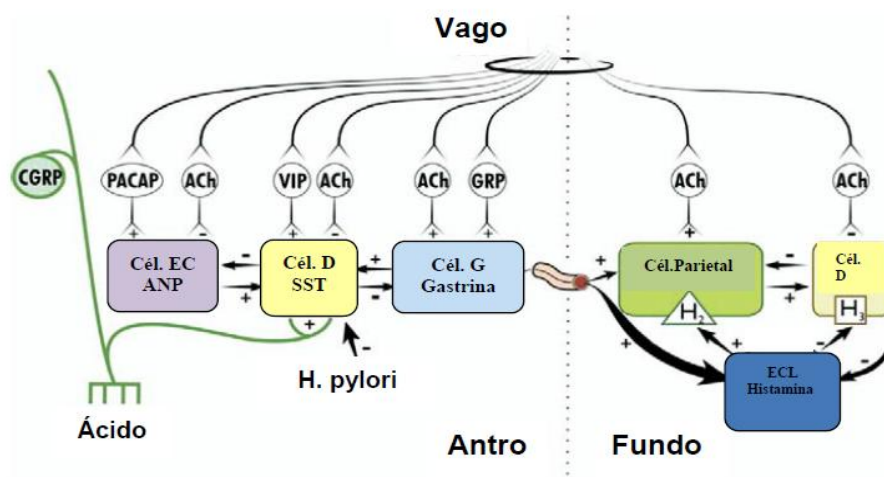


Figura 4. Modelo ilustrando a regulação neural, endócrina e parácrina da secreção de ácido gástrico. Adaptado de Schubert e Pleura [35].

A acetilcolina estimula de forma direta o processo de secreção, ativando os receptores muscarínicos (tipo M3), localizados na membrana basolateral das células parietais. Após a estimulação ocorre a liberação de histamina pelas células semelhante às enterocromafins (ECL), localizadas no fundo gástrico. A histamina se liga ao seu receptor H_2 presente nas células parietais, induzindo a liberação do ácido. Durante este processo ocorre também liberação de histamina das células ECL com os receptores H_3 , acoplados nas células D, que inibem a secreção de somatostatina (SST), aumentando de maneira indireta a secreção ácida [32].

Na mucosa pilórica, os neurônios estimulam diretamente a produção do ácido gástrico pela acetilcolina, com a secreção de gastrina pelas células G localizadas no antro pilórico. Esse hormônio atinge a circulação sanguínea e estimula a secreção ácida ao se ligar aos receptores da gastrina localizados na célula parietal. A liberação de gastrina é inibida pela colecistocinina, via receptor CCK_A da célula D, pelos neurônios colinérgicos atuantes na célula G, e assim, quando o pH cai a um valor inferior a 3,0, a síntese de gastrina é inibida e a célula D estimula a produção de somatostatina, bloqueando a produção de gastrina, equilibrando a produção de HCl [40, 35, 43].

2.5 Fatores Protetores da Mucosa Gástrica

O trato gastrointestinal é submetido repetidamente a diversos estímulos nocivos, tanto endógenos: produção fisiológica excessiva de ácido gástrico, alterações de mucosa provocadas por estresse e secreções biliopancreáticas; como exógenos: uso contínuo de anti-inflamatórios não esteroidais, álcool, alimentação inadequada, infecções por *Helicobacter pylori*, tabagismo, lesões relacionadas à isquemia e reperfusão, que ocasionam danos à mucosa gástrica. No entanto, existem mecanismos de defesa que evitam tais danos, conservando a integridade da mucosa gástrica [44, 45, 46].

Dentre estes mecanismos de defesa, podemos incluir os locais e neuro-hormonais (Figura 5). Entre os mecanismos locais, os mais importantes incluem a barreira muco-bicarbonato-fosfolipídeos, as células epiteliais de superfície, a capacidade de regeneração rápida, o fluxo alcalino, a geração contínua de prostaglandinas PGE₂ e PGI₂, a microcirculação na mucosa e a liberação de óxido nítrico e compostos sulfidrílicos [45, 47].

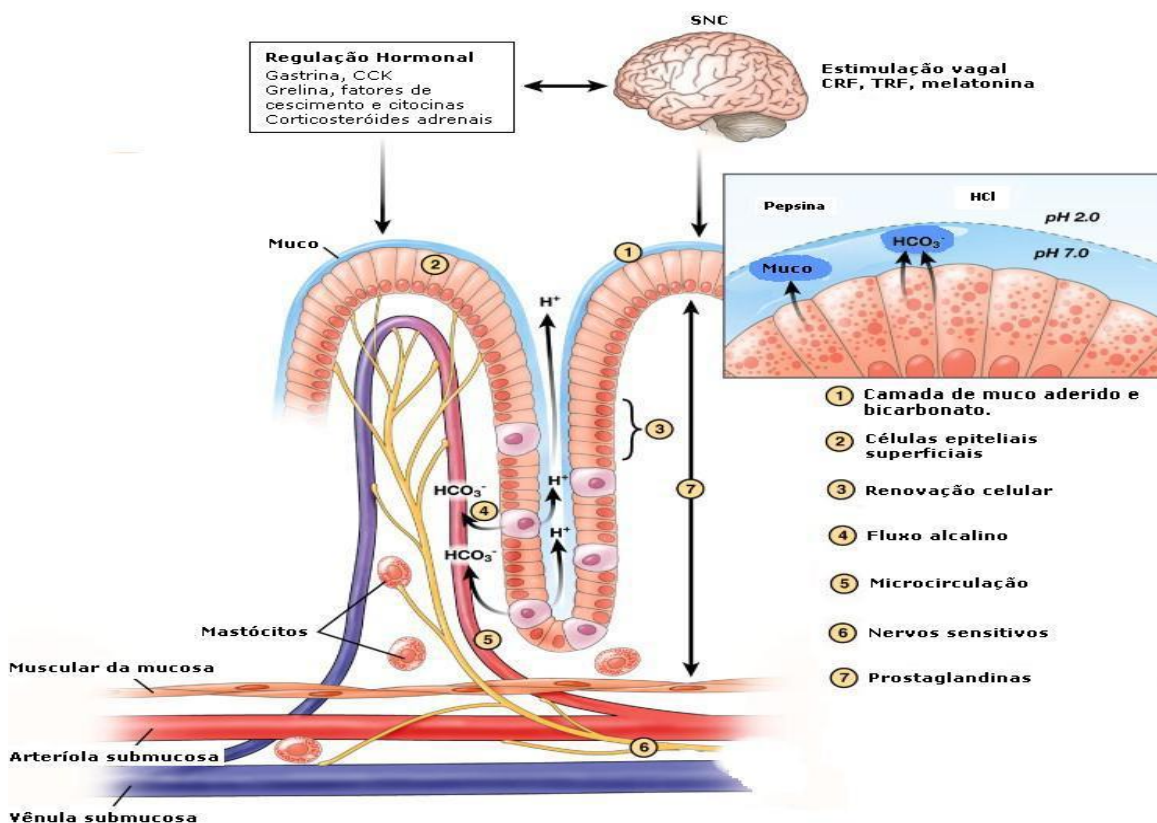


Figura 5. Principais mecanismos de defesa da mucosa gástrica. Adaptado de Laine et al [45].

2.5.1 Barreira de Muco-Bicarbonato-Fosfolipídeos

O epitélio gástrico possui uma barreira constituída de água, bicarbonato, mucina, e peptídeos de fator trefoil (TFF), que formam a camada de gel espessa que se adere ao epitélio [48]. A estrutura e a espessura da camada determina a eficácia gastroprotetora [49].

A barreira de muco-bicarbonato-fosfolipídeos representa a primeira linha de defesa da mucosa gástrica, contra a acidez luminal, mantendo o pH neutro, o que favorece a rápida re-epitelização da mucosa [46] e inibição da digestão proteolítica do epitélio pela penetração da pepsina [45].

O muco é secretado pelas células epiteliais superficiais, estimuladas por hormônios gastrintestinais (gastrina e secretina), prostaglandinas (PGE_2) e agentes colinérgicos [50], constituído de 95% de água e 5% de mucina [45]. A mucina é uma glicoproteína que atribui o aspecto de gel ao muco, insolúvel em água, servindo como proteção do epitélio contra o ácido, pepsina e outros agentes necrotizantes, como o álcool absoluto e os anti-inflamatórios não-esteroidais [48, 51, 52].

Com relação ao bicarbonato, este se agrega ao muco, deixando o pH aproximadamente neutro na superfície epitelial do estômago. Atua como inibidor da difusão do ácido na camada de gel do muco e, em condições fisiológicas normais, a barreira de muco bicarbonato protege a mucosa gástrica contra o ácido e pepsina, apresentando também proteção ao duodeno [49].

Outro fator relevante é a presença de proteínas da família do fator trefoil (TFF), responsáveis por alterar a viscosidade do muco, promovendo proteção as células gástricas, além de acelerar os mecanismos de reparo da mucosa [53]. Devido a este papel de defesa do epitélio, e por promover a restituição da mucosa gástrica existem três parálogos, TFF₁, TFF₂ e TFF₃, que são expressos em toda a mucosa gástrica, no entanto, o TFF₂ possui ações específicas no reparo epitelial, com recuperação de danos microscópicos e independentes da ativação da COX, essencial para a restituição epitelial rápida após a lesão gástrica [48].

A barreira de muco bicarbonato é a única barreira pré-epitelial entre o lúmen e epitélio gástrico. Quando ele está sobrecarregado ou mesmo decomposto devido à patologia, os mecanismos de proteção entram em ação com a neutralização intracelular do

ácido, reparação epitelial, com manutenção e distribuição do fluxo sanguíneo da mucosa [45].

2.5.2 Prostaglandinas

As prostaglandinas são mediadores lipídicos liberados pelas células em resposta a estímulos químicos ou mecânicos. Sua síntese é regulada por enzimas denominadas de prostaglandina endoperóxido sintetase ou pela ação da ciclooxigenase (COX) sob o ácido araquidônico, liberados pelos fosfolipídeos da membrana celular [54, 55].

A ciclooxigenase possui duas isoformas principais, COX-1 e COX-2. A primeira é responsável pela formação de prostaglandinas associadas a eventos fisiológicos, tais como a integridade da mucosa gástrica e fluxo sanguíneo renal, enquanto que COX-2 está relacionada aos eventos da resposta inflamatória [54].

A principal prostaglandina produzida para atuar no mecanismo de citoproteção gástrica não está totalmente elucidada, no entanto, sabe-se que as prostaglandinas das séries E, F e I são sintetizadas em quantidades substanciais em todo o trato gastrointestinal [46, 55].

As PGE₂ e PGI₂ contribuem para a defesa da mucosa gástrica ao facilitar o reparo de úlceras pré-existentes [15, 55]. A exposição ao ácido aumenta a taxa de produção de PGE₂ e PGI₂, o que colabora para suas múltiplas funções [46]. Devido a sua ação vasodilatadora, ocorre o aumento do fluxo sanguíneo, o que garante maior aporte nutricional necessário para o bom funcionamento celular [23], além de elevar a produção de muco e bicarbonato, aumenta os componentes sulfidrílicos e acelera a restituição epitelial, promovendo a cicatrização da mucosa [56], o que conseqüentemente reduz os níveis de ácido e pepsina no estômago, atuando como inibidores potentes da aderência de leucócitos ao endotélio vascular e, com isso inibe a produção de radicais livres [46, 57].

2.5.3 Fluxo Sanguíneo Contínuo

O fluxo sanguíneo na mucosa gástrica é um processo contínuo realizado através de microvasos que compõem a barreira endotelial [15]. As células endoteliais, que revestem estes microvasos, produzem óxido nítrico (NO) e prostaciclina (PGI₂), que atuam como vasodilatadores potentes, protegendo assim a mucosa gástrica contra danos e

prevenindo os efeitos prejudiciais de diversos vasoconstritores, incluindo leucotrieno (C4), tromboxano (A2) e endotelina [45].

Um dos papéis do fluxo sanguíneo contínuo é suprir a mucosa gástrica com oxigênio, nutrientes e hormônios, além de participar da regulação da saída do ácido, produção de muco, secreção de bicarbonato pelas células epiteliais, remoção de agentes tóxicos e retro difusão de íons hidrogênio. Esses eventos contribuem substancialmente para a manutenção fisiológica da integridade e reparação da mucosa [46].

2.5.4 Óxido Nítrico

A formação de óxido nítrico é realizada nos tecidos, a partir da arginina, através da enzima óxido nítrico sintetase (NOS), com três isoenzimas codificadas por genes distintos, classificadas em óxido nítrico sintetase neural (nNOS ou NOS1), endotelial (eNOS ou NOS3) e induzível (iNOS ou NOS2). É produzido no trato gastrointestinal por ação enzimática, não enzimática ou por mecanismos de produção bacteriana, implicados nos mecanismos que mantêm a integridade do epitélio gástrico [58].

O sistema digestório é uma das principais fontes de óxido nítrico, que desempenha um papel crucial nos processos fisiológicos, como na motilidade do trato gastrointestinal, na secreção, digestão, absorção e eliminação. É considerada a molécula do milênio por se destacar como um importante neurotransmissor não-colinérgico e não-adrenérgico, com características de efeito protetor [58].

A característica protetora inclui a regulação da secreção de muco e bicarbonato, inibindo a secreção e a mobilidade gástrica, enquanto aumenta o fluxo sanguíneo da mucosa, garantindo a manutenção da integridade gastrointestinal, e promove a angiogênese *in vivo*, protegendo a mucosa contra o dano induzido por uma variedade de agentes nocivos e substâncias corrosivas [59, 60].

2.5.5 Compostos sulfidrílicos

Os compostos sulfidrílicos são substâncias que possuem em sua composição grupamento tióis (SHs), que estão presentes no muco gástrico e em diversas enzimas do sistema antioxidante [61].

As principais propriedades estão representadas pelas substâncias sulfidrilas (GSH), que desempenham papel importante na manutenção da integridade gástrica, pela função redox, que realiza o sequestro de espécies reativas de oxigênio (ROS), formados durante o processo ou produzidos após exposição a agentes nocivos, protegendo assim a mucosa gástrica [60, 61]. No processo inflamatório as espécies reativas de oxigênio (EROs) são geradas e iniciam uma reação em cadeia que culmina na peroxidação lipídica e morte celular [64, 65].

Os SH são também importantes na produção e manutenção do muco gástrico, uma vez que suas subunidades glicoproteicas são unidas entre si por pontes dissulfeto que, uma vez reduzidas, tornam o muco hidrossolúvel [66].

Em contrapartida, a redução dos níveis normais de SH tem impacto significativo na mucosa, tornando-a susceptível ao ataque de substâncias ulcerogênicas, afetando o mecanismo defensivo da mucosa e dessa forma, facilitando a formação de lesões gástricas [66, 67, 68].

O papel gastroprotetor dos grupamentos SH endógenos já foi demonstrado em diversos modelos de indução de úlcera (etanol, AINEs e estresse), justificados pela depleção destes compostos [69, 70].

O pré-tratamento com bloqueadores de grupos SH demonstrou potencializar significativamente a indução de úlceras gástricas, enquanto que aumento significativo de grupos SH promovem gastroproteção [28, 71].

2.5.6 Antioxidantes

Pequenas quantidades de espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas constantemente, como na cadeia transportadora de elétrons (na fosforilação mitocondrial), no metabolismo de xenobióticos e na resposta inflamatória [44]. A presença de doenças inflamatórias, neurodegenerativas ou neoplásica, causa o aumento maciço da produção de radicais livres, que excedem a capacidade dos mecanismos de defesa intrínsecos, ocorrendo o acúmulo nos tecidos danificados [72].

Algumas moléculas altamente reativas, tais como o ânion superóxido (O_2^-), o radical hidroxil (OH) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) interagem com macromoléculas essenciais, como o DNA, proteínas e lipídeos, interferindo na homeostase celular [73]. Essas interações refletem na etiologia e fisiopatologia da inflamação gastrointestinal e nas

úlceras gástricas, pois o trato gastrointestinal possui a capacidade de produzir elevadas quantidades de EROs pelas enzimas oxidases da mucosa como a xantina oxidase, mieloperoxidase (MPO) e NADPH oxidase, encontradas em leucócitos residentes (macrófagos, neutrófilos e eosinófilos) da lâmina própria [44].

Tais espécies reativas desempenham um papel importante na patogênese da mucosa gástrica em processos agudos como as lesões induzida por isquemia-reperfusão e etanol em ratos. Ambas devido à formação excessiva de metabólitos reativos de oxigênio e adesão de neutrófilos nas células endoteliais [74].

A isquemia debilita a barreira da mucosa gástrica e aumenta a retrodifusão do ácido, enquanto o etanol estimula o estresse oxidativo, predispondo à lesão, com o desenvolvimento das EROs, ocorrendo a peroxidação lipídica do tecido (LPO), que, em combinação com secreção gástrica resulta em dano e morte celular [74].

A fim de proteger os tecidos contra os danos provocados pela EROs, todas as células contêm enzimas antioxidantes, como a glutaciona-peroxidase (GPx), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), glutaciona-redutase (GR), e eliminadores de radicais, tais como compostos sulfidrílicos (GSH) [74], que desempenham papéis fundamentais nos mecanismos de defesa, possuindo formulações com ações antioxidantes, eficácia na citoproteção e cura das lesões gástricas [75].

2.6. Fisiopatologia da Úlcera Gástrica

A úlcera gástrica é uma doença milenar que acomete o homem desde a pré-história, no entanto, seu reconhecimento como doença mórbida surgiu por volta do século XVI, período em que despertou maior interesse entre os pesquisadores, com observações anatomopatológicas em necrópsias e especulações teóricas de sua etiopatogenia [76, 77].

Somente após a aquisição dos conhecimentos anatomoclínicos no século XIX e início do século XX, iniciaram os estudos que individualizaram definitivamente a úlcera gástrica, como uma doença distinta de outras lesões do estômago [77, 78].

Na época, nasceram várias teorias baseadas em evidências, e identificou-se a participação do suco gástrico na formação e progressão da patologia, no entanto, era necessário determinar as causas de enfraquecimento da mucosa em determinados locais, o que ocasionava o surgimento da lesão inicial e sua evolução para úlcera típica [77, 79].

Diferentes são as teorias de evolução e causas fatoriais que originam a degradação da mucosa gástrica, podendo destacar as doenças vasculares, inflamatórias, problemas mecânicos, distúrbios endócrinos, alergias, psicossomáticas, biotipológica, genética, hipersecreção gástrica, hábitos de vida, entre outros [77, 79, 80].

Devido a todos estes fatores, a úlcera gástrica é considerada como a nova epidemia do século XXI [81], com altos índices de morbidade, principalmente em casos extremos de úlceras hemorrágicas, promovidos pelos diversos fatores agressores da mucosa [82, 83].

No que se refere à etiologia da úlcera gástrica, mesmo com todos os levantamentos e estudos realizados na atualidade, a mesma ainda não está totalmente elucidada. Fato conhecido é que ocorre um desequilíbrio entre os fatores agressores e os citoprotetores da mucosa [16, 84].

Entre os fatores agressores, incluem-se hábitos alimentares inadequados, ingestão excessiva de drogas antiinflamatórias não-esteroidais, consumo de bebidas alcoólicas, tabagismo, estresse, predisposição genética, elevada secreção do ácido clorídrico, pepsina, sais biliares, estresse oxidativo e infecção pela bactéria *H. pylori* [85]. Mesmo a secreção ácida normal pode causar ulceração na mucosa, quando alguns fatores gastroprotetores estão prejudicados [45, 86, 87], ocasionando danos ao endotélio microvascular, com redução do fornecimento do oxigênio e dos nutrientes, eventualmente com a produção de erosões da mucosa, com necrose do tecido e destruição dos componentes da mucosa, incluindo os microvasos [88].

A capacidade da mucosa gástrica de resistir a tais ferimentos é atribuída a uma série de fatores gastroprotetores, denominados como sistema de defesa da mucosa gástrica. Este termo é utilizado para descrever os fatores e componentes que permitem a mucosa permanecer intacta, apesar de sua frequente exposição às substâncias com larga variação de temperatura, pH e osmolaridade, como também a substâncias com ações detergentes ou citotóxicas ou mesmo produtos bacterianos capazes de causar reações inflamatórias sistêmicas e locais [89].

É um fato conhecido que a terapêutica bem orientada é necessária para o tratamento da úlcera péptica. Existe uma gama vasta de medicamentos disponível para o tratamento de úlcera gástrica, no entanto efeitos adversos são encontrados, tais como a hipergastrinemia, hipersensibilidade, ginecomastia, impotência, arritmia, trombocitopenia e infecções entéricas [87]. Tais circunstâncias evidenciam a necessidade de novas

pesquisas para descobrir substâncias que curem as úlceras gástricas com menos efeitos secundários [90].

2.7. Modelos de Indução da Úlcera Gástrica em Animais

2.7.1 Mecanismo de Úlcera Gástrica Induzida por Etanol

O método de indução da úlcera gástrica pela administração de etanol vem sendo utilizado como uma maneira rápida e conveniente para realizar triagem de determinados extratos de plantas, para avaliar a ação antiulcerogênica e o nível de gastroproteção da mucosa gástrica [91, 92].

A inflamação na mucosa gástrica causada por uma mistura de etanol é acompanhada por um aumento da produção de TNF- α que aumenta a geração de superóxidos que estimulam a produção de IL-1 β , com acúmulo de neutrófilos. Tanto a IL-1 β e TNF- α estão envolvidos na indução da inflamação, na lesão, e na carcinogênese de uma variedade de tecidos. Além disso, IL-1 β é considerado como um dos principais fatores responsáveis pela recorrência da úlcera [93].

As úlceras gástricas induzidas por etanol são predominantes na porção glandular do estômago. Administração do etanol aumenta a peroxidação lipídica, diminui a SOD, CAT, GSH e os fatores gastroprotetores, além disso, esgota o muco na superfície gástrica, interfere na microcirculação e inibe a síntese das prostaglandinas, resultando em dano da mucosa gástrica. As doenças gastrointestinais relacionadas ao consumo de álcool tem papel importante na prática clínica [90].

As lesões da mucosa gástrica provocadas pelo uso do etanol são inibidas por mecanismos que estimulam a produção de fatores defensivos da mucosa [94], destacando a utilização de inibidores de bomba de prótons (H⁺/K⁺ ATPase), que inibe a secreção ácida por se ligarem aos resíduos do aminoácido cisteína (fator determinante para desencadear o processo) em uma subunidade da bomba de prótons [95]. Dentre estes inibidores destaca-se o lansoprazol, fármaco utilizado no tratamento de úlcera péptica [96], que tem demonstrado eficiência na cura e tratamento da lesão gástrica provocada pelo etanol tanto nos seres humanos como nos animais, por possuir propriedade antissecretora de ácido e possível ação antioxidante do mesmo [97].

2.7.2. Mecanismo de Úlcera Gástrica Induzida por AINEs (Indometacina)

Os compostos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) estão entre os agentes farmacológicos mais utilizados na prática médica, pois possuem indicações terapêuticas, para analgesia, anti-inflamação, antipirese, profilaxia contra doenças cardiovasculares [96], edema, como também nas osteoartrites, artrite reumatoide e distúrbios músculo-esqueléticos [98].

Os AINEs possuem alguns efeitos adversos, ressaltando os distúrbios gastrointestinais e os cardiovasculares, no entanto, os efeitos colaterais gastrointestinais especialmente no estômago é uma das complicações mais graves, por produzir lesões agudas da mucosa gástrica, com risco de sangramento, de perfuração, além do risco substancial de morte por complicações gastroduodenais [99, 100].

Os AINEs estão divididos em duas classificações: os não seletivos denominados de convencionais, os quais atuam como inibidores da enzima ciclooxigenase (COX), a qual se diferencia em pelo menos duas isoformas (COX-1 e COX-2); e os seletivos, que é inibidor da COX-2 (Tabela 1) (98). Tanto a COX-1 como a COX-2 formam um endoperóxido de prostaglandina instável, a PGH₂, a partir do ácido araquidônico [101]. Vale ressaltar que a atividade de ambas é inibida por todos os AINEs, porém em níveis variáveis [102, 103].

A COX-1 atua fisiologicamente de forma constitutiva, por possui o papel de manter a arquitetura glandular do estômago, agindo como citoprotetora gástrica e mantenedora da homeostase renal e plaquetária, enquanto a COX-2 ou indutiva, surge apenas em situação de trauma tissular e inflamação [97].

O mecanismo de ação gastroprotetora da isoforma COX-1, está relacionada à produção de prostaglandinas (PGE₂ e PGI₂), responsáveis pela manutenção da integridade da mucosa gástrica, por reduzir a secreção de ácido, aumentar a secreção de bicarbonato e melhorar o fluxo sanguíneo na microcirculação da mucosa [96]. Enquanto a COX-2 corresponde à enzima indutível, importante na modulação do fluxo sanguíneo glomerular e no balanço hidroeletrolítico [104]. Autores relatam que a expressão da COX-2 controla os mecanismos de re-epitelização, angiogênese, citoproteção e proliferação celular epitelial, mediada por EGF [105, 106, 107].

Sua expressão na maioria dos tecidos é indetectável, no entanto, em condições patológicas e estímulos pró-inflamatórios, o cérebro induz a síntese da COX-2, que é a enzima chave no metabolismo do ácido araquidônico, responsável por mediar a produção de prostanoídes que tem fortes propriedades vasoativas [108].

Nos seres humanos as lesões produzidas pelo uso contínuo dos AINEs se mostram como hemorragias subepiteliais e erosões [109]. Em animais, as lesões induzidas experimentalmente apresentam-se como petéquias, hemorragias, edemas, erosões e perfurações [110].

Tabela 1. Classificação dos anti-inflamatórios não-esteroidais segundo sua seletividade para a ciclooxigenase.

Não seletivos (COX-1 e 2)	Seletivos (COX-2)/(COXIBEs)
Aspirina	Rofecoxibe (Vioxx)
Acetaminofeno	Valdecoxibe (Bextra)
Indometacina (Indocid)	Parecoxibe
Ibuprofeno (Motrin, Dalsy)	Celecoxibe (Celebra)
Naproxeno (Naprosin)	Etoricoxibe (Arcoxia)
Sulindac (Clinoril)	Lumiracoxibe (Prexige)
Diclofenaco (Voltaren)	
Piroxicam (Feldene)	
β -Piroxicam (Cicladol)	
Meloxicam (Movatec)	
Cetoprofeno (Profenid)	

Fonte: Batlouni [97].

A administração da indometacina, que é um potente anti-inflamatório inibidor não seletivo da ciclooxigenase, é utilizado como parâmetro de AINEs nos modelos de indução de lesão gástrica aguda em animais, por ser um modelo muito simples e eficaz [67], estando relacionado a vários fatores, como a inibição da síntese de PGE₂, o stress oxidativo, peroxidação lipídica, declínio na produção do muco, ativação de neutrófilos, assim como na modulação de várias enzimas, citocinas e mediadores solúveis, que desempenham papéis cruciais na ulceração gástrica induzida pela indometacina, além de retardar a cicatrização de feridas resultando em úlceras hemorrágicas [90, 111].

2.7.3. Mecanismo de Indução de Úlcera Gástrica por Ácido Acético

O modelo de indução de úlcera gástrica por ácido acético é outro protocolo utilizado para indução da lesão na mucosa gástrica, sendo o procedimento que mais se assemelha as úlceras crônicas dos humanos, tanto nas características patológicas como nos mecanismos de cura [112, 113].

O procedimento é bastante simples, de fácil execução, o qual gera úlceras com tamanho consistente, com uma incidência de 100%. As úlceras podem ser curadas por remissão espontânea, assim como em pacientes com úlcera péptica. Outro fator positivo é a boa resposta as várias drogas antiúlcera, podendo este ser utilizado como modelo de úlcera padrão para triagem de compostos que possuem potencial farmacológico antiulcerogênico e curativo [113].

2.8. Tratamento Medicamentoso

Em estudos atuais percebe-se decréscimo gradativo da úlcera duodenal, com estabilização das úlceras gástricas. Tais resultados podem ser justificados pelo uso de medicamentos específicos e também pela melhoria da qualidade de vida da população em geral. No entanto, os estudiosos preocupam-se com a gravidade da doença, a qual apresenta índices elevados de mortalidade e morbidade, com reincidências frequentes [75, 114, 115].

Fan et al [116], relatam que a prevalência em adultos fica em torno de 5% a 10% da população mundial, com chance de cura superior a 95%, e reincidência de 65% a 80% em até um ano após a cura e quase 100% até dois anos. O que fornece uma justificativa plausível quando se destaca os distúrbios gastrointestinais como a patologia mais comum na prática clínica [117]. Além de comprovar que as úlceras pépticas, tanto gástricas como duodenal, consistem em doenças crônicas e recorrentes [30].

Com este intuito curativo e preventivo, drogas são desenvolvidas para proteger a mucosa gástrica dos fatores agressores, com o desenvolvimento de antagonistas dos receptores histaminérgicos e colinérgicos, inibidores da H⁺/K⁺-ATPase e agentes citoprotetores [118].

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 H₂ 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) [119].

2.9 Plantas medicinais

Devido a todos os efeitos colaterais relatados pelos fármacos antiulcerogênicos, houve o crescente interesse em terapias alternativas para tratamento e prevenção da úlcera gástrica com a utilização de produtos naturais, especialmente os derivados de plantas [120, 121] por apresentarem baixo custo e fácil acesso da população mais carente [122, 123].

Vale ressaltar que, cerca da metade das novas moléculas introduzidas em drogas antiulcerogênicas, são provenientes de compostos naturais, análogos semi sintéticos ou compostos sintéticos baseados em grupos farmacofóricos (regiões molecular do fármaco essencial para desenvolver sua atividade) de produtos naturais [124], os quais são denominados de fitoterápicos.

De fato, os produtos naturais destinados para o tratamento de problemas gástricos são muito procurados pela população na prática de automedicação [90, 125]. Calixto [126], no entanto, relata que menos de 10% das plantas brasileiras possuem estudos científicos validados em relação a sua qualidade, segurança e eficácia. Assim como todos os medicamentos, estes devem oferecer garantia de qualidade, com efeitos terapêuticos comprovados, composição padronizada e segurança para o uso da população em geral [120, 127].

Para a utilização dos produtos naturais na forma terapêutica e preventiva da úlcera gástrica, vale destacar que os mesmos devem possuir propriedades necessárias para sua efetividade, contendo em sua composição substâncias vegetais como os flavonoides, fibras,

taninos, gomas, glicosinolatos, mucilagens e terpenóides, que possuem atividades antiulcerogênicas [16, 17, 18, 19, 20, 21].

2.10. *Carica papaya* Linn

O mamoeiro é nativo da América do Sul, sendo uma das plantas frutíferas mais cultivadas do mundo, especialmente, nas áreas tropicais e subtropicais [128, 129]. É uma planta herbácea perene, com látex leitoso, que pode alcançar até 12 metros de altura [130, 131] (Figura 6).

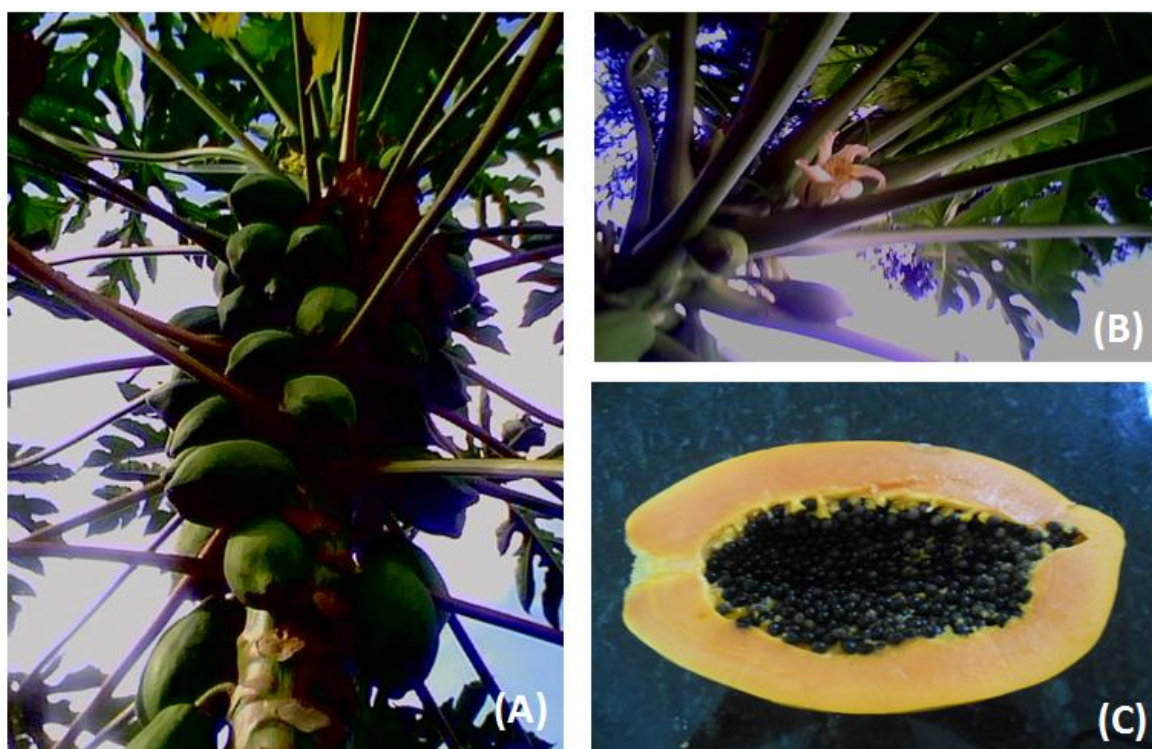


Figura 6. Fotos do mamão formosa *Carica papaya* Linn: (A) Árvores mostrando folhas e frutos, (B) Flor (C) Sementes. Fonte (A), (B) e (C): Arquivo pessoal.

O Brasil é um dos principais produtores mundiais junto com o México, Nicarágua, entre outros países. O mamão é produzido no país durante quase todos os meses do ano e as perspectivas de comercialização, para consumo *in natura* no mercado interno ou para exportação, são bastante favoráveis, colocando a cultura entre as mais promissoras [132].

Pertencente à família Caricaceae e ao gênero *Carica*, possui 22 espécies, no entanto a mais cultivada é o *Carica papaya* Linn. Seu fruto possui uma baga carnosa, derivada de um único ovário, normalmente com cinco carpelos. Pode ser arredondado, cilíndrico ou piriforme e amarelo ou alaranjado quando maduro. As variedades mais cultivada do mamão são aquelas do grupo solo e o formosa [133].

Os frutos são consumidos tanto *in natura*, como também processados e com isso, uma porcentagem significativa de resíduos são gerados. Para o processamento dos frutos são retiradas as casca e sementes, o que constitui cerca de 50% do mesmo [129].

Na medicina tradicional, as diferentes partes de *C. papaya* Linn, incluindo suas folhas, cascas, raízes, látex, frutas, flores e sementes têm uma ampla gama de aplicação medicinal [134, 135, 136]. As folhas [135] e o extrato aquoso das sementes verdes [137] do *C. papaya* Linn, apresentaram efetividade na gastroproteção em modelos de indução de úlcera por etanol e ação hipoglicemiantes e hipolipemiantes em modelos experimentais [138].

O fruto verde é usado tradicionalmente para o tratamento de várias doenças humanas e veterinárias como a malária, hipertensão, diabetes mellitus, hipercolesterolemia, icterícia, helmintíase intestinal, anemia falciforme [130, 139], dispepsia, irritação intestinal, prisão de ventre, diarreia crônica e para a hepatotoxicidade [131] e como antiulcerogênico [140].

O fruto maduro é usado como curativo de úlceras crônicas da pele [141], as folhas são usadas para cólica, febre, beribéri, aborto, asma [142], e câncer [136, 143]. O látex é empregado como adstringente e para desbridamento quando aplicado topicamente em queimaduras e tecido necrosado [144].

Embora, os *C. papaya* Linn sejam um importante fruto tropical, há poucos estudos farmacológicos, em comparação com outras frutas. Os estudos realizados possuem dados limitados, no entanto, vários alegam benefícios para a saúde [131, 136, 145].

No *screening* fitoquímico realizado no mamoeiro, identifica-se a presença de enzimas (no látex), carotenóides (no fruto e sementes), alcalóides (em folhas e sementes), compostos fenólicos (frutos, sementes, folhas e brotos) e glicosinolatos (em frutos e sementes) [142, 146].

Tal dado científico é relevante, pois há décadas o Brasil é o principal produtor de mamão do mundo [128, 147], no entanto, suas sementes, que correspondem em média a 14% do peso do fruto, constituem material de descarte tanto na indústria de alimentos,

quanto no consumo doméstico [148]. Este desperdício ainda acontece mesmo sendo comprovado seu alto valor nutricional (com baixos níveis lipídicos e calóricos), a presença de antioxidantes e alto teor de fibras [149].

Em estudos realizados para identificar os constituintes químicos dos extratos da semente do *C. papaya* Linn, com diferentes solventes, pode-se observar a presença de antioxidantes naturais (compostos fenólicos totais e flavonóides) [150, 151, 152], alcalóides, saponinas, glicosídeos, taninos, glicosídeos cardíacos, terpenos, esteróides, antraquinonas, carboidratos [26] e glicosinolatos (Tabela 2) [129].

Tabela 2. Análise fitoquímica de diferentes extratos da Semente do Mamão *Carica papaya* Linn.

Compostos Fitoquímicos	Extratos				
	Acetona	Água quente	Água gelada	Metanol	Etanol
Alcalóides	+	-	-	+	+
Saponinas	+	+	+	-	-
Tanino	+	+	+	+	+
Fenóis	+	-	-	+	-
Flavonoides	-	-	-	+	-
Terpenóides	+	-	-	-	+
Açúcares redutores	-	+	+	+	+
Glicosinolatos	+	+	+	+	+

+ Indica presença de compostos; - indica ausência dos Compostos.

Fonte: (Freire et al [153], Deon et al [154], Ocloo et al [26], Venturini et al [129]).

Venturini et al [129] demonstram que o extrato de semente de mamão, obtido por extração aquosa ou com solventes orgânicos, apresenta um componente bioativo, o isotiocianato de benzila, o qual é obtido a partir da conversão dos glicosinolatos pela ação da enzima mirosinase, presente no próprio vegetal ou na microbiota do trato digestório humano.

Este constituinte inicia sua atividade quando o tecido vegetal sofre algum tipo de injúria ou sob ação de fungos ou, ainda, pela mastigação de insetos ou, então, pela própria mastigação das plantas frescas [155]. Os glicosinolatos, encontrados no mamão, tem ação inibidora no desenvolvimento de câncer de pâncreas [156] e câncer de pulmão, aumentando a ocorrência de destruição das células cancerosas [157, 158].

Além destas características, estudos laboratoriais confirmaram que várias preparações das sementes do mamão podem eliminar de forma efetiva, helmintos *in vitro* e

in vivo, sendo o isotiocianato de benzila o composto ativo responsável por tal característica [129]. As doses de isotiocianato em níveis menores acentuam o mecanismo de defesa, por outro lado, concentrações acima do limite, favorecem o estresse celular e efeitos tóxicos [159].

O isotiocianato induz a apoptose das células de câncer de pulmão em baixas concentrações ($<10 \mu\text{M}$), mas causa até a necrose do tecido em concentrações de $25 \mu\text{M}$ [157]. Estão presentes nas brássicas, como couve, nabo e repolho, que possuem efeitos gastroprotetores comprovados [21, 22], no entanto, Ragasa et al [160] relatam que o isotiocianato pode inibir a restituição e a cicatrização gástrica após lesão, e, Wallmark et al [161] destacam que ele atua como um inibidor reversível da secreção de ácido gástrico. De forma geral, ele estimula a produção de enzimas de proteção [52], mas os estudos ainda são contraditórios.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a efetividade do extrato metanólico da semente do mamão formosa *Carica papaya* Linn na prevenção e no tratamento de úlcera gástrica induzida em ratos.

3.2. Objetivos Específicos

Investigar o efeito protetor e curativo da semente do mamão formosa (*Carica papaya* Linn) sobre a úlcera gástrica em ratos.

Determinar a dose efetiva do extrato da semente do mamão formosa *Carica papaya* Linn no tratamento da úlcera gástrica.

Avaliar a toxicidade aguda e subaguda do extrato da semente do mamão formosa *Carica papaya* Linn.

Verificar o efeito extrato da semente do mamão formosa *Carica papaya* Linn sobre a secreção gástrica ácida e a produção de muco.

Avaliar os possíveis mecanismos de ação do extrato da semente do mamão formosa *Carica papaya* Linn relacionados ao óxido nítrico e aos compostos sulfidrílicos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil (2012) Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica Ministério da Saúde 1: 1-156.
2. Rodrigues AG, Santos MG, De Simoni C (2011) Fitoterapia na saúde da família. Sociedade brasileira de medicina de família e comunidade (org). Programa de atualização em medicina de família e comunidade (Promef). Porto Alegre: Artmed/Panamericana 1: 131-165.
3. Pereira FL, Fernandes JM, Leite JPV (2012) Ethnopharmacological survey: A selection strategy to identify medicinal plants for a local phytotherapy program. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 48: 299-313.
4. Bermúdez A, Oliveira-Miranda MA, Velazquez D (2005) La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Inci [online]*30: 453-459.
5. Campbell-Tofte JIA, Molgaard PER, Winther KAJ (2012) Harnessing the potential clinical use of medicinal plants as anti-diabetic agents. *Botanics: targets and therapy* 2: 7-19.
6. Dey A, De JN (2012) Ethnobotanical survey of purulia district, west bengal, india for medicinal plants used against gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 143: 68-80.
7. Rao RV, Descamps O, John V, Bredesen D (2012) Ayurvedic medicinal plants for alzheimer's disease: a review. *Alzheimer's Research & Therapy* 4: 22.
8. Eddouks M, Chattopadhyay D, Feo VD, Cho WC (2012) Medicinal plants in the prevention and treatment of chronic diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1: 1-2.
9. D'Acampora AJ (2008) Perfil epidemiológico dos pacientes portadores de úlcera péptica perfurada atendidos no centro cirúrgico do hospital florianópolis. *Revista do Médico Residente* 10: 138.
10. O'Malley P (2003) Gastric ulcers and gerd: the new "plagues" of the 21st century update for the clinical nurse specialist. *Clinical Nurse Specialist* 17: 286-289.
11. Zelickson MS, Bronder CM, Johnson BL, Camunas JA, Smith De, Rawlinson D, Von S, Stone HH, Taylor SM (2011) *Helicobacter pylori* is not the predominant etiology for peptic ulcers requiring operation. *The American Surgeon* 77: 1054-1060.

12. Thorsen K, Soreide JA, Kvaloy JT, Glomsaker T, Soreide K (2013) Epidemiology of perforated peptic ulcer: age- and gender-adjusted analysis of incidence and mortality. *World Journal Gastroenterology* 19: 347-354.
13. Polo CM, Moraes TM, Pellizzon CH, Marques MO, Rocha, LRM, Hiruma-Lima CA (2012) Gastric ulcers in middle-aged rats: the healing effect of essential oil from *Citrus aurantium* L. (rutaceae). *Evidence-based complementary and alternative medicine* 1: 1-8.
14. El-Shinnawy NA, Abd-Elmageid SA, Alshailabi EM (2013) Evaluation of antiulcer activity of indole-3-carbinol and/or omeprazole on aspirin-induced gastric ulcer in rats. *Toxicology and Industrial Health* 1: 1-19.
15. Tarnawski A, Ahluwalia A, Jones MK (2013) Gastric cytoprotection beyond prostaglandins: Cellular and molecular mechanisms of gastroprotective and ulcer healing actions of antacids. *Current Pharmaceutical Design* 19:1 26-132.
16. Borrelli F, Izzo AA (2004) The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research* 14: 581-591.
17. Rodriguez JA, Hiruma-Lima CA, Souza Brito AR (2004) Antiulcer activity and subacute toxicity of trans-dehydrocrotonin from *Croton cajucara*. *Human & Experimental Toxicology* 23: 455-461.
18. Marques DA, Foglio MA, Morgante PG, Sluys MAV, Shepherd SLK (2006) Biotechnology approaches for production of antiulcerogenic dihydro-epideoxyarteannuin b isolated from *Artemisia annua* L. *Rev Bras Farmacogn* 16: 291-299.
19. Silvério MS, Sousa OV, Del-Vechio-Vieira G, Miranda MA, Matheus FC, Kaplan MAC (2008) Propriedades farmacológicas do extrato etanólico de *Eremanthus erythropappus* (dc.) Mcleisch (Asteraceae). *Rev Bras Farmacogn* 18: 430-435.
20. Mota KSL, Pita JCLR, Estevam EC, Medeiros VM, Tavares JF, Agra MF, Diniz MFFM, Silva MS, Batista LM (2008) Evaluation of the toxicity and antiulcerogenic activity of the ethanol extract of *Maytenus obtusifolia* mart. Leaves. *Revista Brasileira Farmacognocia* 18: 441-446.
21. Lemos M, Santin JR, Júnior LC, Niero R, Andrade SF (2011) Gastroprotective activity of hydroalcoholic extract obtained from the leaves of *Brassica oleracea* var. *Acephala* dc in different animal models. *Journal of Ethnopharmacology* 18: 1-138.
22. Carvalho CA, Fernandes KM, Matta SLP, Silva MB, Oliveira LL, Fonseca CC (2011) Evaluation of antiulcerogenic activity of aqueous extract of *Brassica oleracea* var. *Capitata* (cabbage) on wistar rat gastric ulceration. *Arquivos de Gastroenterologia* 48: 276-282.
23. Possenti A, Carvalho JE, Monteiro KM, Dias IMG, Gibrim NF, Jacobucci HB (2012) Efeito de fermentado (utilizado como alimento funcional) sobre: a citoproteção

gástrica, atividade anti-secretória e a motilidade intestinal em animais. *International Journal of Nutrology* 5: 35-41.

24. Haida KS, Haas J, Lima DS, Haida KY, Silva FJ, Limana S, Rodrigues RT (2012) Atividade antioxidante e compostos fenólicos de *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*. *Revista Saúde e Pesquisa* 5: 360-368.

25. Ikpeme EV, Ekaluo UB, Kooffreh ME, Udensi O (2011) Phytochemistry and hematological potential of ethanol seed leaf and pulp extracts of *Carica papaya* (Linn.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 14: 408-411.

26. Ocloo A, Nwokolo NC, Dayie NTKD (2012) Phytochemical characterization and comparative efficacies of crude extracts of *Carica papaya*. *International Journal of Drug Research And Technology* 2: 399-406.

27. Boscolo OH, Valle LS (2008) Plantas de uso medicinal em quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. *Iheringia Série Botânica* 63: 263-277.

28. Guedes MM, Carvalho ACS, Lima AF, Lira SSR, Queiroz SS, Silveira ER, Santos FA, Rao VS (2008) Gastroprotective mechanisms of centipedic acid, a natural diterpene from *Egletes viscosa* Less. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 31: 1351-1355.

29. Cordeiro KW, Pinto LA, Formagio ASN, Andrade SF, Kassuya CAL, Freitas KC (2012) Antiulcerogenic effect of *Croton urucurana* baillon Bark. *Journal of Ethnopharmacology* 143: 331-337.

30. Guyton AC, Hall JE (2006) *Textbook of medical physiology*. 11 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders.

31. Jacob SW, Francone CA, Lossow WJ (1990) *Anatomia e fisiologia humana*. Guanabara Koogan 5.

32. Shijian C, Mitchell L, Schubert B (2012) Gastric secretion. *Current Opinion in Gastroenterology* 28: 587-593.

33. *Enciclopédia do Corpo Humano* (2000) São Paulo: planeta de Agostini.4.

34. Schauf CL, Moffett DF, Moffett SBO (1993) Trato gastrintestinal. In: *Fisiologia Humana*, Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

35. Schubert ML, Peura DA (2008) Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology* 134: 1842-1860.

36. Schubert ML (2011) Gastric secretion. *Current Opinion in Gastroenterology* 6: 536-42.

37. Schubert ML (2004) Gastric secretion. *Current Opinion in Gastroenterology* 6: 519-25.

38. Yao X, Forte JG (2003) Cell biology of acid secretion by the parietal cell. *Annual Review of Physiology* 65: 103-31.
39. Konturek, Weslaw WP (2006) Prostaglandin/cyclooxygenase pathway in ghrelin-induced gastroprotection against ischemia-reperfusion injury. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics* 319: 477-487.
40. Douglas CR (2006) *Fisiologia Aplicada à Nutrição*. Guanabara Koogan 2: 1074.
41. Schubert ML (2009) Gastric exocrine and endocrine secretion. *Current Opinion in Gastroenterology* 6: 529-36.
42. Schubert ML (2005) Gastric secretion. *Current Opinion in Gastroenterology* 6: 636-643.
43. Jain KS, Shah AK, Bariwal J, Shelke SM, Kale AP, Jagtap JR, Bhosale AV (2007). Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 3: 1181-205.
44. Dong MH, Kaunitz JD (2006) Gastroduodenal mucosal defense. *Current Opinion in Gastroenterology* 22: 599-606.
45. Laine L, Takeuchi K, Tarnawski A (2008) Reviews in basic and clinical gastroenterology: gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Gastroenterology* 135: 41–60.
46. Rajkumar P, Jain S, Malviya S, Ahmed A (2012) Pharmacological review on leaves of “*annona Squamosa*” in GI. Tract ulcer in albino wistar rats. *World journal of pharmacy and pharmaceutical Sciences* 2: 499-524.
47. Brzozowski T, Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowska I, Pawlik T (2005) Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 5: 33-55.
48. Palileo C, Kaunitz JD (2011) Gastrointestinal defense mechanisms. *Current Opinion in Gastroenterology* 6: 543-8.
49. Allen A, Flemström G (2005) Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 1: 1-19.
50. Phillipson M, Johansson MEV, Henriksnas J, Petersson J, Gendler SJ, Sandler S, Persson AEG, Hansson GC, Holm L (2008) The gastric mucus layers: constituents and regulation of accumulation. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 295: 806–812.

51. Bighetti EA (2004) Atividade antiulcerogênica, isolamento e identificação dos princípios ativos da *Mikania laevigata* Schult bip.152 f. Tese (doutorado em clínica médica)- Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas.
52. Carvalho GB, Machado CMM, Moretti CL, Fonseca MEN (2006) Hortaliças como alimentos funcionais. *Horticultura Brasileira* 24: 397-404.
53. Al-Jiboury H, Kaunitz JD (2012). Gastroduodenal mucosal defense. *Current Opinion in Gastroenterology* 6: 594-601.
54. Grangeiro NMGC, Chaves HV, Silva AAR, Graça JRV, Lima V, Bezerra MM (2008) Enzimas ciclooxigenases 1 e 2: inflamação e gastro- cardio proteção. *Repm.* 3: 13-20.
55. Bighetti AE, Antônio MA, Carvalho JE (2002). Regulação e modulação da secreção gástrica. *Revista Ciência Médica Campinas* 1: 55-60.
56. Kwiecien S, Konturek PC, Sliwowski Z, Mitis-Musiol M, Pawlik MW, Brzozowski B, Jasnos K, Magierowski M, Konturek SJ, Brzozowski T (2012) Interaction between selective cyclooxygenase inhibitors and capsaicin-sensitive afferent sensory nerves in pathogenesis of stress-induced gastric lesions. Role of oxidative stress. *Journal of Physiology and Pharmacology* 63: 143-151.
57. Nartey ET, Ofosuhene M, Agbale CM (2012) Anti-ulcerogenic activity of the root bark extract of the african laburnum "*Cassia sieberiana*" and its effect on the anti-oxidant defence system in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 10: 12:247.
58. Kochar NI, Chandewal AV, Bakal RL, Kochar PN (2011) Nitric oxide and the gastrointestinal tract. *International Journal of Pharmacology* 7: 31-39.
59. Wallace JL, Ma L (2001) Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. *Experimental Biology and Medicine* 226: 1003-1015.
60. Szlachcic A, Krzysiek-Maczka G, Pajdo R, Targosz A, Magierowski M, Jasnos K, Drozdowicz D, Kwiecien S, Brzozowski T (2013) The impact of asymmetric dimethylarginine (adama), the endogenous nitric oxide (no) synthase inhibitor, to the pathogenesis of gastric mucosal damage. *Current Pharmaceutical Design* 19: 90-97.
61. Bilska-Wilkosz A, Ochenduska, Iciek M, Soko M, Wiliński M, Góralska M, Srebro Z, Odek LW (2013) Effects of acetylsalicylic acid on the levels of sulfane sulfur and non-protein sulfhydryl groups in mouse tissues. *Pharmacological Reports* 65: 173-178.
62. Sgarbieri VC (2004) Physiological-functional properties of milk whey proteins. *Revista Nutrição* 4: 397-409.
63. Sánchez-Mendoza ME, Reyes-Ramírez A, Cruz Antonio L, Martínez Jiménez L, Rodríguez-Silverio, J, Arrieta J (2011). Bioassay-guided isolation of an anti-ulcer

compound, tagitinin c, from *Tithonia diversifolia*: role of nitric oxide, prostaglandins and sulfhydryls. *Molecules* 16: 665-674.

64. Aftab T, Khan MMA, Idrees M, Naeem M, Moinuddin (2010) Effects of aluminium exposures on growth, photosynthetic efficiency, lipid peroxidation, antioxidant enzymes and Artemisinin content of *Artemisia annua* L. *Journal of Phytochemistry* 8: 23-37.

65. Bhagawati S, Sanjay S (2011) Investigations on gastroprotective effect of citalopram, an antidepressant drug against stress and pyloric ligation induced ulcers. *Pharmacological Reports* 63: 1413-1426.

66. Benito R, Sánchez-Mendoza ME, Becerra-García AA, Cedillo-Portugal E, Castillo-Henkel C, Arrieta J (2008) Bioassay-guided isolation of an anti-ulcer diterpenoid from *Croton reflexifolius*: role of nitric oxide, prostaglandins and sulfhydryls. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 60: 931-936.

67. Glavin GB, Szabo S (1992) Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. *The FASEB Journal* 3: 825-831.

68. Ko JKS, Cho CH (1995) The role of non-protein sulfhydryl compound in gastric adaptive cytoprotections against ethanol-induced mucosal damage in rats. *Inflammation Research* 44: 242-244.

69. Hernández HR, Karam JSJ, Romero FG (2000). Factores de riesgo para la recurrencia de úlcera péptica. *Academia Nacional de Medicina de México* 137: 303-310.

70. Bayir Y, Odabasoglu F, Cakir A, Aslan A, Suleyman H, Halici M (2006). The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine* 13: 584-590.

71. Sener-Muratoglu G, Paskaloglu K, Arbak S, Hurdag C, Yanoglu-Dulger G (2001). Protective effect of famotidine, omeprazole, and melatonin against acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats. *Digestive Diseases and Sciences* 46: 318-330.

72. Brzozowski T, Konturek PC, Sliwowski, Pajdo R, Drozdowicz D, Kwiecien S, Burnat G, Stanislaw J K. Pawlik WW (2006) Prostaglandin/Cyclooxygenase Pathway in Ghrelin-Induced Gastroprotection against Ischemia-Reperfusion Injury. *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 319: 477-487.

73. Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, Van Zanden J, Van Bladeren, P J (2001) The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 10: 141-152.

74. De-Faria FM, Almeida ACA, Luiz-Ferreira A, Takayama C, Dunder RJ, Da Silva MA, Salvador MJ, Abdelnur PV, Eberlin MN, Vilegas W, Toma W, Souza-Brito RAM (2011) Antioxidant action of mangrove polyphenols against gastric damage induced by absolute ethanol and ischemia-reperfusion in the rat. *The Scientific World Journal* 1:1-9.

75. Onasanwo SA, Singh N, Olaleye SB, Mishra V, Palit G (2010) Anti-ulcer & antioxidant activities of *hedranthera barteri* {(hook f.) Pichon} with possible involvement of h⁺, k⁺ ATPase inhibitory activity. *Indian Journal of Medical Research* 132: 442-449.
76. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL (2005). *As bases farmacológicas da terapêutica*. Goodman & Gilman.11.
77. Rezende JM (2009) Úlcera péptica e a ilusão do conhecimento: um exemplo de falácia das evidências em medicina. Unifesp. 1 ed. São Paulo.
78. Groenen MJ, Kuipers EJ, Hansen BE, Ouwendijk RJ (2009) Incidence of duodenal ulcers and gastric ulcers in a western population: back to where it started. *Canadian Journal of Gastroenterology* 23: 604-608.
79. Carvalho AST (2000) Peptic ulcer. *Jornal de Pediatria* 76:127 -134.
80. Pacheco MTB, Bighetti E, Antônio M, Carvalho JE, Rosaneli CF, Sgarbieri VC (2006) Efeito de um hidrolisado de proteínas de soro de leite e de seus peptídeos na proteção de lesões ulcerativas da mucosa gástrica de ratos. *Revista de Nutrição* 19: 47-55 .
81. O'Malley P (2003) Gastric ulcers and gerd: the new "plagues" of the 21st century update for the clinical nurse specialist. *Clinical Nurse Specialist* 17: 286-289.
82. Spirt MJ (2004) Stress-related mucosal disease: risk factors and prophylactic therapy. *Clinical Therapeutics* 26: 197-213.
83. Post PN, Kuipers J, Meijer JA (2006) Declining incidence of peptic ulcer but not of its complications: A nation-wide study in the Netherlands. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 23: 1587–1593.
84. Donatini RS, Ishikawa T, Barros SBM, Bacchi AM (2009) Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *syzygium jambos* (L.) Alston (myrtaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19: 89-94.
85. Birdane FM, Cemek M, Birdane YO, Gülçin I, Büyükkuroğlu ME (2007) Beneficial effects of *Foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. *World Journal Gastroenterology* 4: 607-611.
86. Jainu M, Devi CSS (2006) Antiulcerogenic and ulcer healing effects of *solanum nigrum* (L.) On experimental ulcer models: possible mechanism for the inhibition of acid formation. *Journal of ethnopharmacology* 104: 156–163.
87. Ignatius V, Narayanan M, Subramanian V, Periyasamy BM (2013) Antiulcer activity of indigenous plant *operculina turpethum* linn. *Evidence-based complementary and Alternative Medicine* 1: 1-7.
88. Maity B, Chattopadhyay S (2008) Natural antiulcerogenic agents: an overview. *Current Bioactive Compounds* 4: 225-244.

89. Wallace JL, Granger DN (1996) The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *FASEB J* 10: 731–740.
90. Rozza CA, Hiruma-Lima AT, Pellizzon CH (2012) Morphologic and pharmacological investigations in the epicatechin gastroprotective effect. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 1: 1-8.
91. Kanter M, Demir H, Karakaya C, Ozbek H (2005) Gastroprotective activity of nigella sativa oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World Journal Gastroenterology* 42: 6662-6666.
92. Sidahmed HA, Abdelwahab SI, Mohan S, Abdulla MA, Taha ME, Hashim NM, Hadi AHA, Vadivelu J, Fai ML, Rahmani M, Yahayu A (2013) α -Mangostin from *Cratoxylum arborescens* (Vahl) Blume Demonstrates Anti-Ulcerogenic Property: A Mechanistic Study . *Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine* 1: 1-10.
93. Omar NAM, Abdullah N, Kuppusamy UR, Abdulla MA, Sabaratnam V (2011) “Nutritional composition, antioxidant activities, and antiulcer potential of lentinus squarrosulus (mont.) Mycelia extract”. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1: 1-8.
94. 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. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan* 57: 495-505.
95. Padilla FB, Noriega JRZ (2001) Comparación de los inhibidores de la bomba de prótones omeprazol, lansoprazol, pantoprazol y rabeprazol em el tratamiento de enfermedad ácido péptica. *Medicina universitária* 3:37-50.
96. Sener G, Paskaloglu K, Ayanoglu-dülger G (2004) Protective effect of increasing doses of famotidine, omeprazole, lansoprazole, and melatonin against ethanol-induced gastric damage in rats. *Indian pharmacological society* 36: 171-174.
97. Kummer CL, Coelho TRB (2002) Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais. *Revista Brasileira Anestesiologia* 52: 498-512.
98. Batlouni M (2010) Anti-inflamatórios não esteróides: efeitos cardiovasculares, cérebro-vasculares e renais. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 94: 556-563.
99. Hiruma-Lima CA, Rodrigues CM, Kushima H, Moraes TM, Lolis SF, Feitosa SB, Magri LP, Soares FR, Cola MM, Andrade FDP, Vilegas W, Souza Brito ARM (2009) The anti-ulcerogenic effects of *Curatella americana* L. *Journal of Ethnopharmacology* 121: 425-432.
100. Filaretova TR, Bagaeva OYU, Morozova DZ (2011) The healing of nsaid-induced gastric lesion may be followed by small intestinal and cardiovascular side effects. *Journal of Physiology and Pharmacology* 62: 619-625.

101. Mendes RT, Stanczyk CP, Sordi R, Otuki ML, Dos Santos FA, Fernandes D (2012) Inibição seletiva da ciclo-oxigenase-2: riscos e benefícios. *Revista Brasileira Reumatologia* 5: 767-782.
102. Monteiro ECA, Trindade JMF, Duarte ALBP, Chahade WH (2008) Os antiinflamatórios não esteroidais (AINES). *Temas de reumatologia clínica* 2: 53-63.
103. Lima GRM, Montenegro CA, Falcão HS, Jesus NZT, Cabral AGS, Gomes IF, Agra MF, Tavares JF, Batista L (2012) Gastroprotective activity of the ethanolic extract and hexane phase of *Combretum duarceanum* Cambess. (Combretaceae). *Journal of Natural Medicines* 1: 1-11.
104. WATTS NB (2008) Osteoporosis: treatment of postmenopausal osteoporosis, in: primer on the rheumatic diseases, thirteenth ed. Georgia 742.
105. Tarnawski AS (2005) Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. *Digestive Diseases and Sciences* 50: 24–33.
106. Wallace JL, Devchand PR (2005) Emerging roles for cyclooxygenase-2 in gastrointestinal mucosal defense. *British Journal Pharmacology* 145: 275-282.
107. Schmassmann A, Zoid G, Peskar BM, Waser B, Schmassmann-Suhijar D, Gebbers JO, Reubi JC (2005) Role of the different isoforms of cyclooxygenase and nitric oxide synthase during gastric ulcer healing. *Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 293: 788-797.
108. Font-Nieves M, Sans-Fons MG, Gorina R, Bonfill-Teixidor E, Salas-Pédomo A, Márquez-Kisinousky L, Santalucia T, Planas AM (2012) Induction Of Cox-2 Enzyme And Down-Regulation Of Cox-1 Expression By Lipopolysaccharide (Lps) Control Prostaglandin E2 Production In Astrocytes. *The Journal of Biological Chemistry* 9: 6454-6468.
109. Laine L (2002) The gastrointestinal effect of non-selective Nsaids and cox-2 seletive inhibitors. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 3: 25-32.
110. Szabo S, Trier J, Brown A, Schnoor J (1985) Early vascular injury and increased vascular permeability in gastric mucosal injury caused by ethanol in the rat. *Gastroenterology* 88: 228-236.
111. Filipini CB, Da Paixão DR, De Ávila MAP, Flausino PA, Pereira VA, Oliveira JA, Costa AMDD, Terra FS, Soares EA (2012) Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol em ratas. *Revista Brasileira Clinica Medica* 2: 112-115.
112. Guinal O, Oktar BK, Özçinar E, Sungur M, Arbak S, Yegen BÇ (2003). Estradiol treatment ameliorates acetic acid-induced gastric and colonic injuries In rats. *Inflammation Research* 6: 351-359.

113. 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.
114. Rodríguez-Hernández R, Jacobo-Karam JS, Guerrero-Romero F(2001) Factores de riesgo para la recurrencia de úlcera péptica. *Gaceta Médica de México* 137: 303-310.
115. Saul C, Teixeira CR, Pereira JCL (2008) Redução da prevalência de úlcera duodenal: um estudo brasileiro (análise retrospectiva na última década: 1996-2005). *Arquivos de Gastroenterologia* 44: 320-324.
116. Fan TY, Feng QQ, Jia CR, Fan Q, Li C, Bai XL (2005) Protective effect of weikang decoction and partial ingredients on model rat with gastric mucosa ulcer. *World Journal Gastroenterology* 8:1204-1209.
117. Bafna PA, Balaraman R (2004) Anti-ulcer and antioxidant activity of dhc-1, a herbal formulation. *Journal of Ethnopharmacology* 1:123-127.
118. Aihara T, Nakamura E, Amagase K, Tomita K, Fujishita T, Furutani K, Okabe S (2003) Pharmacological control of gastric acid secretion for the treatment of acid-related peptic disease: past, present and future. *Pharmacology & Therapeutics* 98: 109–127.
119. Rang HP et al (2004) *Farmacologia*. 5.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 904.
120. Rates SMK (2001) Plants as source of drugs. *Toxicon* 39: 603-613.
121. Oliveira JA, Costa AMDD, Terra FS, Boriollo MFG, Soares EA (2010) Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol. *Revista Brasileira Clinica Medica* 2: 129-134.
122. Maciel MAM, Pinto AC, Veiga VE (2002) Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova* 23: 429-438.
123. Veiga Júnior VF, Pinto AC (2005) Plantas medicinais: cura segura?. *Química nova* 3: 519-528.
124. Newman DJ, Cragg GM, Snader KM (2003) Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *Journal of Natural Products* 7: 1022–1037.
125. Twardowschy A (2007) Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das cascas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex griseb (bignoniaceae). Tese de mestrado 1:1-76.
126. Calixto JB (2005) Twenty-five years of research on medicinal plants in latin america a personal view. *Journal of Ethnopharmacology* 1:131-134.
127. Pasa MC, Soares JJ, Neto GG (2005) Estudo etnobotânico na comunidade de conceição-açu (alto da bacia do rio aricá açu, MT/Brasil). *Acta Botanica Brasilica* 2:195-207.

128. Silva GG, Diniz RG, Silva ME (2007) Avaliação química do mamão papaia (*Carica papaya* Linn.) em diferentes estádios de maturação. *Revista Capixaba de Ciência e Tecnologia* 2: 1-7.
129. Venturini T, Benchimol LR, Bertuol DA, Da Rosa MB, Meil L (1996). Estudo da secagem e extração de sementes de mamão (*Carica papaya* L.) *Revista Eletrônica Em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental* 5: 950–959.
130. Olagunjua JA, Adeneyeb AA, Fagbohunkac BS, Bisugac NA, Ketikuc AO, Benebod AS, Olufowobic OM, Adeoyec AG, Alimic MA, Adelekec AG (2009). Nephroprotective activities of the aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. In carbon tetrachloride induced renal injured wistar rats: a dose- and time dependent study. *Biology and Medicine* 1: 11-19.
131. Sadeque MZ, Begum ZA, Umar BU, Ferdous AH, Sultana S, Uddin MK (2012) Comparative efficacy of dried fruits of *Carica papaya* Linn. and vitamin-e on preventing hepatotoxicity in rats. *Faridpur Medical College Journal* 1: 29-32.
132. Cia P, Benato EA (2005) Doenças do mamão. *Informe Agropecuário* 26: 1-68.
133. Jacomino AP, Bron IU, Kluge RA (2003) Avanços em tecnologia pós-colheita de mamão. *Papaya brasil* 1: 1-11.
134. Jaime A, Teixeira da S, Zinia R, Duong TN, Dharini S, Abed G, Manoel TS, Paula FT (2007). *Papaya (carica papaya l.) Biology and biotechnology. Tree forest. Sci. Biotechnology* 1: 47-73.
135. Indran AA Mahmood UR, Kuppusamy A (2008) Protective effect of *Carica papaya* L leaf extract against alcohol induced acute gastric damage and blood oxidative stress in rats. *West Indian Medical Journal* 57: 323-326.
136. Nguyen TT, Shaw PN, Parat MO, Hewavitharana AK (2012) Anticancer activity of *Carica papaya*: a review. *Molecular Nutrition & Food Research* 1:153-164.
137. Okewumi TA, Oyeyemi AW (2012) Gastro-protective activity of aqueous *Carica papaya* seed extract on ethanol induced gastric ulcer in male rats. *African Journal of Biotechnology* 11: 8612-8615.
138. Maniyar Y, Bhixavatimath P (2012) Antihyperglycemic and hypolipidemic activities of aqueous extract of *carica papaya* linn. Leaves in alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ayurveda And Integrative Medicine* 2: 70-4.
139. Ogunyemi CM, Elujoba AA, Durosinmi MA (2008) Antisickling properties of *carica papaya* linn. *Journal of Natural Products* 1: 56-66.
140. Ezike AC, Akah PA, Okoli CO, Ezeuchenne NA, Ezeugwu S.(2009) *Carica papaya* (paw-paw) unripe fruit may be beneficial in ulcer. *Journal of Medicinal Food* 6: 1268-1273.

141. Hewitt H, Whittle S, Lopez S, Bailey E, Weaver S (2000) Tropical use of papaya in chronic skin ulcer therapy in Jamaica. *West Indian Medical Journal* 49: 32-33.
142. Krishna KI, Paridhavi M, Jagruti Ap (2008). Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of papaya (*Carica papaya* Linn.). *National Public Radio* 7: 364-373.
143. Otsuki N, Dang NH, Kumagai E, Kondo A, Iwata S, Morimoto C (2010) Aqueous extract of *Carica papaya* leaves exhibits anti-tumor activity and immunomodulatory effects. *Journal of Ethnopharmacology* 3: 760-767.
144. Nayak BS, Ramdeen R, Adogwa A, Ramsubhag A, Marshall JR (2012) Wound-healing potential of an ethanol extract of *Carica papaya* (caricaceae) seeds. *International Wound Journal* 6: 650-655.
145. Afolabi IS, Ofobrukmeta K (2011) Physicochemical and nutritional qualities of *Carica papaya* seed products. *Journal of Medicinal Plants Research* 14: 3113-3117.
146. Parle M , Gurditta A (2011). Basketful benefits of papaya. *International Research Journal of Pharmacy* 2: 6-12.
147. Shinagawa FB (2009) Avaliação das características bioquímicas da polpa de mamão (*Carica papaya* linn) processada por alta pressão hidrostática. Tese de mestrado. UFRJ, Centro de Tecnologia.
148. Nata SG, Basnet S (2009) Wound healing properties of *Carica papaya* latex: in vivo evaluation in mice burn model. *Journal of Ethnopharmacology* 121: 338–341.
149. Jorge N, Malacrida CR (2008) Extratos de sementes de mamão (*Carica papaya* Linn.) como fonte de antioxidantes naturais. *Alimentos Nutrição Araraquara/ UNESP* 19: 337-340.
150. Dwikat M, Dini L (2010) Antioxidant effect of aqueous *Carica papaya* seeds extract. *Biotechnology Research and Applications in Palestine* 1: 26-27
151. Kothari V, Seshadri S (2010) Antioxidant activity of seed extracts of *Annona squamosa* and *Carica papaya*. *Nutrition & Food Science* 40: 403-408.
152. Zhou K, Wang H, Mei W, Li X, Luo Y, Dai H (2011) Antioxidant activity of papaya seed extracts. *Molecules* 16: 6179-6192.
153. Freire FM, Sampaio CG, Souza KJO, Leite JGG, Silva JGA, Lima NR (2005) Testes fitoquímicos do extrato metanólico das sementes de *Anacardium occidentale* L., *Artocarpus heterophylla*, *Carica papaya* e *Persea americana* m. X Semana Universitária, UECE 1: 162.
154. Deon B, Madella B, Pertusatti B, Salvador CS, Strapazzon RC (2010) Análise fitoquímica do extrato hidroalcoólico da semente de mamão formosa disponível

comercialmente no município de Palmas – PR. III Jornada de Produção Científica, IFPR1:163

155. Castro IM, Anjos MR, Oliveira ES (2008) Determinação de isotiocianato de benzila em *Carica papaya* utilizando cromatografia gasosa com detectores seletivos. *Química Nova* [online] 31: 1953-1959.

156. Kermanshai R, Mccarry BE, Rosenfeld J, Summers PS, Weretilnyk EA, Sorger GJ (2001) Benzyl isothiocyanate is the chief or sole anthelmintic in papaya seed extracts. *Phytochemistry* 57: 427–435.

157. Kuang YF, Chen YH (2004) Induction of apoptosis in a non-small cell human lung cancer cell line by isothiocyanates is associated with p 53 and p 21. *Food and Chemical Toxicology* 42: 1711–1718.

158. D'Agostini F, Izzotti A, Balansky RM, Bennicelli C, De Flora S (2005) Modulation of apoptosis by cancer chemopreventive agents. *Mutation Research* 591: 173-186.

159. Zhang R, Loganathan S, Humphreys I, Srivastava SK (2006) Benzyl isothiocyanate-induced dna damage causes g2/m cell cycle arrest and apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Journal Nutrition* 11: 2728-34.

160. Ragasa R, Nakamura E, Marrone L, Yanaka S, Hayashi S, Takeuchi K, Hagen SJ(2007) Isothiocyanate inhibits restitution and wound repair after injury in the stomach: ex vivo and in vitro studies *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1: 1-9.

161. Wallmark B, Briving C, Fryklund J, Munson K, Jackson R, Mendlein J, Rabon E, Sanchs G (1987) Inhibition of Gastric H⁺,K⁺-ATPase and Acid Secretion by SCH 28080, a Substituted Pyridyl(2a) imidazole. *The Journal of Biological Chemistry* 5: 2077-2084.

5 ANEXOS

5.1 Artigo Científico

O artigo científico descrito neste item será submetido à revista **PloS One - Public Library of Science** e as normas para a submissão neste periódico encontram-se disponíveis no site: < <http://www.plosone.org/static/submissionInstructions#submission>>. Acesso em: 14 de Agosto de 2013.

Título: Atividade antiulcerogênica da semente de *Carica papaya* em ratos.

Lorraine Aparecida Pinto¹, Kátia Wolff Cordeiro², Viviane Carrasco¹, Carlos Alexandre Carollo³, Cláudia Andréa Lima Cardoso⁴, Eliana Janet Sanjinez Argadoña⁵, Karine de Cássia Freitas^{7†}

¹ Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências da Saúde, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. ² Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Faculdade de Medicina, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. ³ Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Departamento de Farmácia Bioquímica, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. ⁴ Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul, Núcleo de Química, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. ⁵ Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Engenharia, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. ⁷ Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

^{7†} Autor correspondente. Endereço para correspondência: Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande – MS. Cidade Universitária s/n, CEP 79070-900, Brasil. Telefone: + 55 67 3345-7404. Fax: + 55 67 3787-1081. E-mail: kcfreitas@gmail.com

Resumo

Objetivos: Avaliar o efeito gastroprotetor e curativo do extrato metanólico das sementes do mamão formosa *Carica papaya* Linn (EMCP) em ratos.

Metodologia/Constatações Principais: Utilizaram-se os modelos de indução de úlcera gástrica aguda por etanol e indometacina e úlcera crônica por ácido acético, em ratos. 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. Entre os parâmetros analisados, nenhum sinal de toxicidade foi observado. No modelo de etanol o EMCP nas doses de 125, 250 e 500 mg/kg reduziram significativamente a lesão gástrica com 56,16%, 76,08% e 82,54% de inibição, respectivamente, e o lansoprazol na dose de 30 mg/kg apresentou 79,08% de inibição. No modelo de indometacina, as três doses do EMCP e da cimetidina (200 mg/kg), reduziram significativamente a lesão gástrica, com 61,67%, 66,77%, 81,40% e 85,12% de inibição, respectivamente. Os tratamentos com EMCP (500 mg/kg) e cimetidina (200 mg/kg) apresentaram redução significativa nos parâmetros ulcerativos induzidos pelo ácido acético, com 84,33% e 73,07% de cura, respectivamente. O EMCP não apresentou envolvimento com o óxido nítrico, pois manteve os níveis de inibição. Porém, a atividade antiulcerogênica do EMCP parece envolver os compostos sulfidrílicos (GSH), já que a inibição caiu de 72,51% para 13,41% na presença do inibidor dos GSH. Além disso, o EMCP apresentou ação sistêmica, aumentando a produção de muco e diminuindo a acidez gástrica.

Conclusão: Os tratamentos com o EMCP induzem a atividade de gastroproteção, sem sinais de toxicidade. Este efeito parece envolver compostos sulfidrílicos, aumentando o muco e reduzindo a acidez gástrica.

Introdução

A integridade estrutural da mucosa gástrica é constantemente desafiada por agentes nocivos, como os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) [1], o etanol [2], o fumo [3], a *Helicobacter pylori* [4], hábitos dietéticos inadequados, além de outros fatores de origem genética [5].

Para proteção da mucosa, fatores de defesa são ativados, incluindo secreção de muco, formando uma barreira protetora, inibição da liberação de ácido clorídrico, neutralização de espécies reativas de oxigênio, contínua restituição epitelial, além de inibição de apoptose [6]. O desequilíbrio desses fatores leva a formação de úlceras gástricas, as quais apresentam prevalência mundial de 10% na população [7].

Destaca-se que esta doença está sendo considerada como a nova epidemia do século XXI [8], pois anualmente afeta 4 milhões de pessoas no mundo [9], principalmente os idosos. Fator este preocupante, já que população mundial está se tornando cada vez mais idosa [10], e estes indivíduos tendem a ter maior prevalência de comorbidade e fatores relacionados a transtornos da secreção gástrica [11].

A terapia farmacológica da úlcera consiste, principalmente, no uso de antiácidos, antagonistas de receptores H_2 , inibidores da bomba de prótons (H^+/K^+ APTase) e antibióticos quando associada a infecção por *H. pylori* [12]. No entanto, os efeitos colaterais (trombocitopenia, nefrite intersticial aguda, nefrotoxicidade e hepatotoxicidade, reações anafiláticas, ginecomastia e impotência sexual) [13] e o custo elevado os tornam restritos a maioria da população [14, 15], que busca nas plantas medicinais a terapêutica, como é o caso do uso da semente do mamão *C. papaya* [16].

Em decorrência de tais evidências, e da ausência de estudos da atividade antiulcerogênica do extrato metanólico da semente do *C. papaya* perante os modelos agudo e crônico de indução de úlcera gástrica, este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da atividade antiulcerogênica do extrato metanólico da semente do mamão formosa em modelos animais.

Materiais e Métodos

Material Vegetal e Preparação do Extrato Bruto

Os frutos do mamão formosa *Carica papaya* Linn foram coletados em 2011, na região de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil (22° 06'51.60" S, 54°42'22.32" O), identificados pelo especialista em fitotecnia Prof. Dr. José Luiz Fornasieri e depositados no Herbário DDMS da Cidade Universitária de Dourados sob o número 4893.

Os frutos foram colhidos no estágio de maturação 5, com 76 a 100% da casca amarelecida de acordo com a metodologia de Silva et al [17]. Destes, foram retiradas as sementes, as quais foram congeladas a temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$, para posterior preparação do extrato.

As sementes do *C. papaya* foram descongeladas e submetidas ao processo de secagem em estufa de circulação de ar quente a 40° C (NG Científica[®]) até a estabilização do peso (96 horas), obtendo-se 1119,65 g. Em seguida foram moídas em moinho de facas e a extração feita por maceração em metanol a 95%, na proporção de 4 L/kg [18], em agitação constante por *shaker* (Techal TE- 420[®]), 100 rpm, a 22° C por 15 dias. Posteriormente o extrato foi rotaevaporado a 40° C e liofilizado, perfazendo um rendimento de 42,85 g (3,83 %).

Screening Fitoquímico

Análise Qualitativa

O Extrato Metanólico *Carica papaya* (EMCP) foi submetido a um *screening* fitoquímico qualitativo para verificar as principais classes de metabólitos secundários presentes seguindo a metodologia de Silva et al [19].

Determinação da Quantidade de Fenólicos Totais

O teste de fenóis foi realizado com a mesma amostra do teste de flavonoides. A cada 100 μL das amostras adicionou-se 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio 2%, 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteau (1:10 v/v) e 1 mL de água destilada. Reagiu-se por 30 minutos. Fez-se a leitura no espectrofotômetro a 760 nm. O mesmo procedimento foi realizado para o branco, sendo substituído 100 μL de amostra por 100 μL do solvente utilizado no preparo das soluções [20].

Para calcular a concentração de fenóis foi preparada uma curva analítica (1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 30,0; 40,0 μg) empregando o ácido gálico como padrão. O procedimento experimental realizado com o padrão foi o mesmo utilizado para as amostras. Com estes dados foi feita a regressão linear e foi obtida a equação da reta ($a= 0,02443$, $b= 0,01266$, $r= 0,9989$), a qual teve seus dados empregados no cálculo das amostras reais. O resultado foi expresso mg de ácido gálico por g de extrato. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Determinação da Quantidade de Flavonoides Totais

Para realizar o teste quantitativo de flavonoides, cada 500 μL do EMCP foi solubilizado em metanol ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) e adicionado a: 1,5 mL de álcool etílico 95%, 0,1 mL de cloreto de alumínio 10% ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 0,1 mL de acetato de sódio ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (1 mol L^{-1}) e 2,8 mL de água destilada. Esta solução reagiu por 40 minutos e logo em seguida fez-se a leitura no espectrofotômetro a 415 nm. O mesmo procedimento foi realizado para o branco, sendo substituído 500 μL de amostra por 500 μL do solvente utilizado no preparo das soluções [21].

Para calcular a concentração de flavonoides, foi preparada uma curva analítica (2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 25,0; 50,0; 100,0 e 125,0 μg) empregando a quercetina como padrão. O procedimento experimental realizado com o padrão foi o mesmo utilizado para as amostras. Com estes dados foi feita a regressão linear e foi obtida a equação da reta ($y= a + bx$; $a= 0,00246$, $b= 0,01048$ e $r= 0,9995$, sendo $Y =$ absorvância, $a =$ coeficiente linear, $b =$ coeficiente angular, $x =$ massa (μg) e $r =$ coeficiente de correlação), a qual teve seus dados empregados no cálculo das amostras reais. O resultado foi expresso em mg de quercetina por g de extrato. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Determinação de Taninos

Foram determinados pela reação da vanilina, conforme método de Broadhurst e Jones [22], adaptado por Agostini-Costa et al [23]. Adicionou 5 mL de vanilina, reagente recém- preparado, em cada tubo de ensaio (triplicata); em seguida, os tubos foram pré-aquecidos em banho-maria a 30 °C por 30 min. Após essa etapa, foi adicionado 1 mL de extrato em cada tubo e agitado em vórtex por 30 seg. A reação foi mantida a 30° C por 20 minutos; a leitura da absorvância foi realizada a 510 nm, dentro de um prazo máximo de 1 hora. O mesmo procedimento foi feito para o branco e para os padrões. A quantificação foi

feita por meio de curva de calibração externa, empregando-se a catequina como padrão. Os resultados foram expressos em mg de catequina equivalente (CAE) por g do EMCP.

Cromatografia Gasosa

O extrato seco (0,1 mg) foi dissolvido em 1000 mL de acetato de etila para análise utilizando um cromatógrafo à gás com detector de ionização em chama (Focus, GC, Thermo Scientific, San Jose, CA, USA). O cromatógrafo gasoso foi equipado com coluna capilar OV-5 (Ohio Valley Specialty Company, Marietta, OH, USA), e composição de 5% fenil-dimetilpolisiloxano em sílica fundida capilar (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura de filme). As análises foram realizadas em modo splitless com injeção de 1 µL de amostra, com temperaturas do injetor e detector de 280°C, usando N₂ como gás carregador e fluxo constante de 1 mL/min. Rampa de aquecimento com temperatura de 50°C a 280°C à 8°C min⁻¹, por 15 minutos. A estimativa do conteúdo de isotiocianato de benzila na concentração de 0,01-40 mg / mL, foi realizada por calibração externa. Os limites de detecção e de quantificação foram avaliados empregando uma relação sinal/ruído de 3:1 e 10:1, respectivamente.

Animais

Foram utilizados *Rattus norvegicus* adultos, machos e fêmeas (150-250 g). Os animais foram fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, mantidos e tratados conforme recomendações do “*Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*” da *National Academy of Sciences* (ambiente com ciclo de claro-escuro de 12 horas, temperatura de 22 ± 2 °C, com água e ração Labina purina[®] *ad libitum*). O jejum antes dos experimentos foi de dezesseis horas retirando-se a ração e mantendo-se a água *ad libitum* até 1 hora antes de iniciar os procedimentos. Para realizar o jejum e evitar coprofagia, os animais foram acondicionados em gaiolas com piso elevado. Logo após os experimentos, a eutanásia foi realizada, por meio da combinação dos anestésicos xilazina (25 mg/kg) e quetamina (75 mg/kg) via intraperitoneal. Nos ensaios, os extratos e os controles positivos foram diluídos no veículo (salina), tanto para administração via oral (gavagem), quanto via duodenal.

Os ensaios biológicos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFGD, sob protocolo 008/11.

Toxicidade Aguda

A toxicidade aguda do EMCP da semente do mamão foram realizadas conforme a metodologia adaptada do *Guideline for Testing of Chemicals – Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method* [24]. As ratas nulíparas foram distribuídas em 2 grupos (n=3), e receberam via oral uma dose única de 2000 mg/kg de EMCP ou salina na diluição de 10 mL/kg. Após os tratamentos, os animais foram observados nos primeiros 30 minutos, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 12 h, 24 h e periodicamente durante 14 dias, para o monitoramento do peso, consumo de ração e *screening* hipocrático [25].

Ao final dos 14 dias os animais foram submetidos à eutanásia e o peso dos seguintes órgãos foram comparados com o grupo controle: coração, pulmão, fígado, baço e rins. Além disso, os órgãos foram analisados macroscopicamente [26] e, conforme a orientação da OECD [24], estes experimentos foram repetidos em outro momento, totalizando 6 animais por grupo.

Avaliação da Atividade Gastroprotetora

Úlcera Gástrica Induzida por Etanol

De acordo com a metodologia adaptada de Morimoto et al [27], os animais foram distribuídos em 5 grupos (n=8), submetidos ao jejum e pré-tratados via oral com: 5 mL/kg salina, 30 mg/kg lansoprazol (controle positivo), e EMCP nas diferentes doses: 125, 250 e 500 mg/kg. Após 1 hora do tratamento, foi administrado a todos os grupos via oral, 1 mL/100 g de peso corporal de etanol 70% para induzir a úlcera gástrica [28]. Decorrido mais 1 hora os ratos foram submetidos à eutanásia e seus estômagos foram retirados e abertos ao longo da maior curvatura, lavados com água, colocados entre placas de vidro e digitalizados para a quantificação das lesões com auxílio do *software* EARP, conforme a metodologia adaptada de Andrade [29]. As lesões foram classificadas em níveis: nível I, área da úlcera <1 mm²; nível II, área da úlcera 1-3 mm²; e nível III, área da úlcera > 3 mm². Após a classificação, alguns parâmetros foram quantificados, tais como: (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 de inibição ou cura, que foi determinado 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 - porcentagem de área relativa de lesão [29].

Úlcera Gástrica Induzida por Anti-inflamatório Não Esteroidal (AINE)

Os animais foram distribuídos em 5 grupos (n=8), submetidos ao jejum e pré-tratados com 5 mL/kg de salina, 200 mg/kg de cimetidina (controle positivo) e EMCP nas diferentes doses: 125, 250 e 500 mg/kg. Após uma hora de tratamento, cada animal recebeu indometacina (100 mg/kg) diluída em 0,5% de bicarbonato de sódio, via oral, para induzir a lesão gástrica. Decorrido 12 horas, os animais foram submetidos à eutanásia e seus estômagos retirados para avaliação das lesões gástricas conforme descrito anteriormente [30].

Úlcera Gástrica Induzida por Ácido Acético

Os animais foram previamente submetidos ao jejum, com livre acesso a água. Sob anestesia foi realizado laparotomia por meio de uma incisão epigástrica na linha alba. Depois de exposto o estômago, 30 µL de ácido acético a 30% foi injetado na camada submucosa na parte glandular da parede anterior. A região foi suturada e os animais foram alimentados *ad libitum* [31].

Após 48 horas do procedimento cirúrgico, os animais foram aleatoriamente distribuídos em três grupos (n=8), os quais receberam uma vez ao dia: 5 mL/kg salina ou 200 mg/kg cimetidina (controle positivo) ou 500 mg/kg de EMCP por 14 dias.

No décimo quinto dia, os animais foram submetidos à eutanásia, os estômagos foram abertos ao longo da maior curvatura, colocados entre placas de vidro e digitalizados. A área da úlcera (mm²) e a porcentagem de cura (%) foram determinadas com auxílio do *software* “*EARP*”.

Estudo da Toxicidade Subaguda

No modelo de indução de úlcera gástrica por ácido acético foi possível mimetizar o tratamento diário realizado em humanos, assim como averiguar possíveis efeitos tóxicos do uso contínuo do EMCP. Para tanto, durante este período foi avaliadas alterações do peso corporal, pele, pêlos, mucosas, olhos, comportamento [25]. Além disso, parâmetros bioquímicos foram determinados, como o aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamiltransferase (γ -GT) para avaliar danos hepáticos, uréia e creatinina para avaliar danos renais [32].

Mecanismo de Ação Gastroprotetora

Determinação da Secreção Gástrica

Este experimento foi realizado de acordo com a metodologia de Shay et al [33] com modificações. Os animais foram distribuídos em três grupos (n=6) e submetidos ao jejum, os quais sob anestesia sofreram laparotomia para proceder a ligadura do piloro. Logo após a ligadura, foi administrado via intraduodenal os diferentes tratamentos: 5 mL/kg salina, 200 mg/kg cimetidina, ou 500 mg/kg EMCP e em seguida a cavidade abdominal foi suturada.

Depois de 4 horas, os animais foram submetidos à eutanásia e os estômagos foram removidos para determinação do volume do suco gástrico (mL). Após a determinação do volume, foi adicionado 10 mL de água destilada à amostra, centrifugada a 4000 rpm x 10 min. No sobrenadante foi determinado o pH e posteriormente, a concentração de íons H^+ por meio da titulação com hidróxido de sódio a 0,01N, utilizando fenolftaleína como marcador, a qual foi expressa em mEq/L/4h.

Determinação de Muco no Conteúdo Gástrico

De acordo com a metodologia adaptada de Sun et al [34], os animais foram distribuídos em quatro grupos (n=6) e submetidos ao jejum. Sob anestesia, sofreram laparotomia para proceder à ligadura do piloro. Logo após a ligadura, foi administrado via intraduodenal os diferentes tratamentos: 5 mL/kg salina, 200 mg/kg de cimetidina, 200 mg/kg carbenoxolona, ou 500 mg/kg de EMCP e em seguida a cavidade abdominal foi suturada.

Após 4h, os ratos foram submetidos à eutanásia para a retirada dos estômagos, os quais foram abertos pela curvatura maior e pesados em balança analítica. Em seguida, foram acondicionados em recipientes individuais para adição de 10 mL de solução com alcian blue (alcian blue 0,02%, sacarose 0,16M, acetato de sódio 0,05M, pH 5,8) e incubados por 24 h a 25° C. Após este período, o tecido estomacal foi descartado e o líquido centrifugado a 4000 rpm por 10 minutos. A absorção de alcian blue retido no sobrenadante foi aferida 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)).

Avaliação da Participação do Óxido Nítrico

Os experimentos foram realizados conforme a metodologia adaptada de Matsuda et al [35], com seis grupos de animais (n=6) sob jejum. Três grupos foram previamente tratados com 70 mg/kg de NG-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) e os outros com 5 mL/kg salina, ambos via intra peritoneal. Após 30 minutos, tanto os animais tratados com L-NAME quanto com salina receberam os seguintes tratamentos via oral: 5 mL/kg salina, 200 mg/kg carbenoxolona ou 500 mg/kg de EMCP. Após 1 hora, todos receberam via oral 0,5 mL/100 g de peso corporal de etanol 70% para induzir a úlcera gástrica. Uma hora depois foram submetidos à eutanásia, e em seguida os estômagos retirados e aberto ao longo da curvatura maior para avaliação das lesões conforme descrito anteriormente.

Avaliação da Participação dos Compostos Sulfidrílicos

Os experimentos foram realizados conforme a metodologia adaptada de Matsuda et al [35], com seis grupos de animais (n=6), sob jejum. Três grupos foram previamente tratados com 10 mg/kg de N-etilmaleimida (NEM) e os outros com 5 mL/kg de salina, ambos via intra peritoneal. Após 30 minutos, tanto os animais tratados com NEM quanto com salina receberam os seguintes tratamentos via oral: 5 mL/kg salina, 200 mg/kg carbenoxolona ou 500 mg/kg de EMCP. Após 1 hora, todos receberam via oral 0,5 mL/100 g de peso corporal de etanol 70% para induzir a úlcera gástrica. Uma hora depois foram submetidos à eutanásia, e em seguida os estômagos retirados e abertos ao longo da curvatura maior para avaliação das lesões conforme descrito anteriormente.

Análises Estatísticas

Todos os valores foram expressos como média \pm erro-padrão da média (E.P.M.). O teste t de Student foi utilizado para comparar dois grupos (toxicidade aguda). A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para comparações entre três ou mais grupos. Quando a análise demonstrou diferença estatisticamente significativa, foi complementada com o teste de Tukey. 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.

Resultados e Discussão

Os fármacos utilizados para o tratamento de úlcera gástrica apresentam diversos efeitos colaterais [13] e uso restrito pela população de baixo poder aquisitivo, em decorrência do seu alto custo [14]. Estes fatores favorecem a busca por tratamentos alternativos, como o uso de plantas medicinais. Sabe-se que as plantas medicinais representam a fonte mais atraente para a descoberta de novos fármacos [14]. Aproximadamente 25% dos medicamentos modernos são desenvolvidos a partir delas [36]. Estes dados reforçam a relevância deste estudo, em contribuir com o desenvolvimento de agentes mais efetivos e menos tóxicos para o tratamento de úlceras gástricas.

Sendo assim, a semente do mamão formosa *C. papaya* foi estudada não só para avaliar sua efetividade na gastroproteção, mas também seus possíveis efeitos tóxicos. Para tanto, foi utilizado o extrato metanólico, que apresenta maior eficiência na extração dos compostos orgânicos [37].

Antes de iniciar os testes para verificar a efetividade gastroprotetora, foi realizado ensaio de toxicidade aguda do EMCP. O resultado não demonstrou qualquer sinal de toxicidade nos parâmetros analisados, tais como: alteração no consumo alimentar, ingestão hídrica, análise comportamental - tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono e coma (dados não demonstrados), e nenhuma diferença estatisticamente significativa entre o peso dos órgãos analisados: coração, pulmão, baço, fígado e rins, quando comparados ao veículo (salina) (Tabela 1).

Tabela 1. Peso dos órgãos das ratas tratadas com salina (10 mL/kg) e extrato metanólico da semente de *C. papaya* (2000 mg/kg) no ensaio de toxicidade aguda de dose única.

Órgãos	Momento 1			Momento 2		
	Salina (n=3)	EMCP (n=3)	P	Salina (n=3)	EMCP (n=3)	P
Pulmões	1,30±0,09	1,24±0,07	0,59	1,25±0,06	1,44±0,07	0,12
Fígado	6,39±0,29	6,30±0,13	0,80	6,71±0,32	7,45±0,81	0,45
Coração	0,75 ±0,05	0,80±0,06	0,56	0,79±0,02	0,89±0,11	0,42
Rim D	0,76±0,04	0,71±0,05	0,54	0,62±0,02	0,68±0,05	0,70
Rim E	0,70±0,04	0,73±0,03	0,55	0,65±0,03	0,82±0,05	0,55
Baço	0,45±0,06	0,43±0,01	0,82	0,36±0,02	0,40±0,07	0,64

Ratos pré-tratados com Salina (10 mL/kg) ou EMCP (2000 mg/kg) dose única. Não apresentaram morte ou toxicidade significativa durante 14 dias de observações, relacionados às análises clínicas e macroscópicas dos órgãos. Resultados em média ± E.P.M. ANOVA. Seguida do Test t Student.

Ressalta-se que este ensaio foi repetido em outro momento, de acordo com a preconização da OECD [24], e novamente nenhuma alteração foi evidenciada, confirmando assim, ausência de toxicidade aguda. Concordando com outros autores que avaliaram a toxicidade da semente do *C. papaya* frente a distintos solventes de extração, como o estudo realizado com o extrato aquoso, que averiguou a ação hipoglicemiante, hipolipemiante e cardioprotetora em ratos e a ausência de toxicidade, tanto aguda na dose única (2000 mg/kg) e sub-crônica (30 dias) das seguintes doses 100, 200 e 400 mg/kg administradas diariamente [38].

O estudo de Hamman et al [39] com ratos, averiguou a toxicidade aguda da dose única (2000 mg/kg) em fêmeas e crônica por 90 dias (100 e 250 mg/kg) em machos e concluiu que, o extrato etanólico é não-tóxico e seguro. Outro estudo observou ausência de toxicidade de uma sub-fração metanólica da fração cromatográfica de benzeno do extrato clorofórmico, frente à toxicidade aguda (2000 mg/kg) em ratas e subaguda (50, 100, 250 e 500 mg/kg) em ratos, ao avaliar a motilidade espermática [40].

Com base nestes dados que corroboram com a ausência de toxicidade aguda do EMCP, prosseguiu-se os ensaios com a avaliação da atividade gastroprotetora frente à indução de lesão gástrica pelo modelo de etanol, o qual é amplamente utilizado para estudar a patogênese das lesões gástricas [41], devido seu potencial necrotizante do epitélio gástrico, promovendo a liberação de histamina e leucotrienos C4 e outros mediadores [42], responsáveis por aumentar a peroxidação lipídica [43], as espécies reativas do oxigênio [6], diminuir a superóxido dismutase (SOD), catalase, glutatona e os fatores gastroprotetores do estômago (muco, bicarbonato, síntese de prostaglandinas e microcirculação) [44].

Conforme a Tabela 2, o EMCP apresentou efeito gastroprotetor de dose-resposta, sendo significativo em todas as doses testadas 125, 250 e 500 mg/kg, com 56,16%, 76,08% e 82,54%, respectivamente. O controle positivo apresentou 79,08% de inibição. Não houve diferença estatística entre estes grupos, exceto entre o EMCP na dose de 125 e 500 mg/kg ($p < 0,05$). A aparência macroscópica das lesões induzidas por etanol na mucosa gástrica em ratos e o efeito dos diferentes tratamentos pode ser observado na Figura 1.

Os resultados encontrados ratificam estudos realizados por autores que avaliaram a gastroproteção por método de indução por etanol. O extrato aquoso da semente do mamão verde foi administrado via oral nas doses de 50 e 100 mg/kg durante 14 dias consecutivos. Apenas após este período de tratamento, os animais receberam em jejum 1 mL de etanol a 80%. Com esta metodologia, os pesquisadores encontraram uma inibição de 44,9 e 63,9%

respectivamente, com redução significativa do volume do suco gástrico e da acidez gástrica [45]. Ao considerar apenas as doses administradas, o extrato aquoso apresentou melhores taxas de inibição do que o EMCP, no entanto, ao levar em conta a quantidade total de extrato administrada, sugere-se o EMCP, em dose única, foi mais eficiente.

Tabela 2. Efeito do extrato metanólico da semente de *C. papaya* na área total de lesão, área relativa, índice de lesão ulcerativa e porcentagem de inibição 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 ulcerativa	Inibição (%)
Salina	8	-	134,08±10,26	16,17±1,22	363,30±45,09	-
Lansoprazol	8	30	28,40±4,05**	3,30±0,49**	75,97±12,14**	79,08
EMCP	8	125	58,35±11,95**	6,37±1,27**	159,27±36,40**	56,16
	8	250	32,31±4,10**	3,51±0,47**	86,89±11,86**	76,08
	8	500	23,84±7,14**,*	2,56±0,74**,*	63,44±20,36**	82,54

Ratos pré-tratados com Lansoprazol (30 mg/kg) ou EMCP (125, 250 e 500 mg) apresentaram redução da área total da lesão, % área de lesão e índice de lesão ulcerativa sendo: **p<0,001 comparado com o grupo controle negativo (salina) e, *p<0,05 comparado com o grupo do EMCP (125 mg/kg). Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

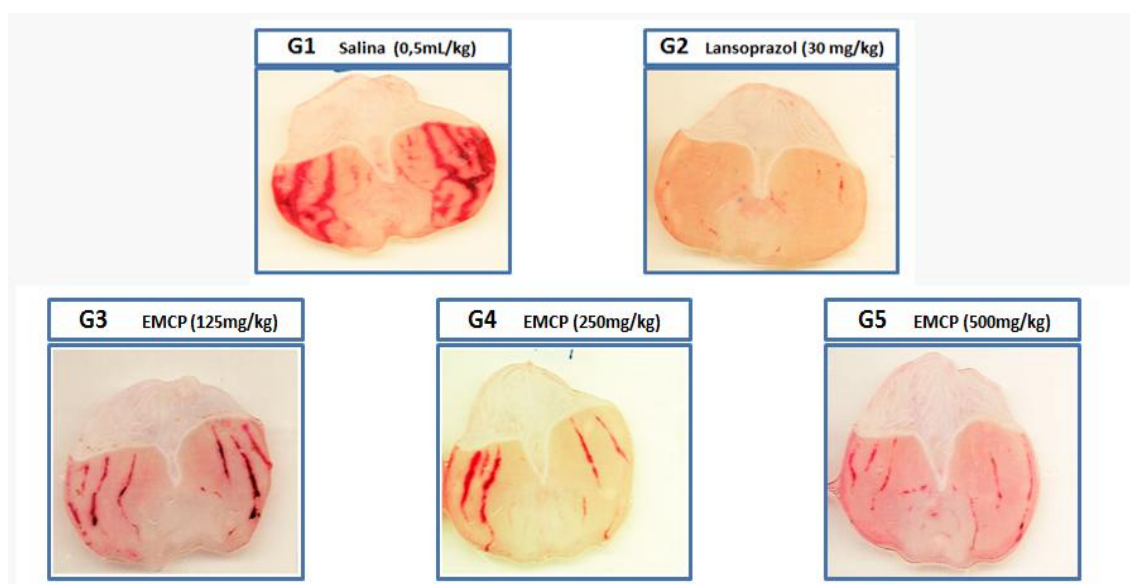


Figura 1. Aparência macroscópica das lesões induzidas por etanol na mucosa gástrica em ratos. (G1) (grupo de controle negativo), (G2) (grupo controle positivo), (G3) (125 mg/kg), (G4) (250 mg/kg), (G5) (500 mg/kg) do EMCP.

A atividade gastroprotetora evidente no modelo de etanol pode estar relacionada à presença de compostos bioativos evidenciados na análise fitoquímica do EMCP, entre os

quais observou-se alcalóides, flavonoides, glicosídeos cardioativos, fenóis, taninos, saponinas e triterpenóides (Tabela 3).

Tabela 3. Análise fitoquímica qualitativa do extrato metanólico da semente do mamão *C. papaya* (EMCP).

Compostos Fitoquímicos	EMCP
Alcalóides	+
Flavonoides	+
Glicosídeos Cardioativos	+
Fenóis	+
Taninos	+
Saponinas	+
Triterpenóides	+
Esteróides	-

+ Indica presença composto; - indica ausência do composto.

Além da atividade antioxidante dos compostos encontrados no EMCP, sabe-se que os alcalóides protegem a mucosa gástrica por se ligar a receptores muscarínicos da acetilcolina inibindo a secreção ácida [46] e atenuam o fluxo sanguíneo diminuindo as lesões hemorrágicas [47, 48]. Enquanto os flavonoides atuam como agentes citoprotetores [48] e inibem a bomba de prótons [49], assim como os glicosinolatos [50] e os glicosídeos cardiotônicos [51]. Os taninos formam complexos com proteínas e polissacarídeos que levam à formação de uma camada protetora na mucosa do estômago [52]. As saponinas aumentam o volume gástrico e a produção de muco, protegendo contra a ação do etanol [53].

Com o intuito de avaliar outro possível mecanismo de ação da semente, foi realizado o modelo de indução por indometacina, a qual impede a síntese de prostaglandinas através da inibição das ciclooxygenases [54]. As prostaglandinas desempenham um importante papel no estômago, estimulando a secreção de bicarbonato, muco, aumento do fluxo sanguíneo e reepitelização celular [13]. Portanto, quando ocorre tal inibição, os fatores gastroprotetores ficam comprometidos, o que leva a formação das lesões [50, 55, 56].

A indometacina administrada em nosso estudo produziu petéquias hemorrágicas na mucosa gástrica. A administração do EMCP, nas doses 125, 250, 500 mg/kg, assim como a cimetidina, na dose de 200 mg/kg, reduziram significativamente as lesões, em relação a área total, área relativa e índice de lesão ulcerativa, quando comparados com o veículo. Entretanto, a dose de 500 mg/kg foi a que apresentou maior inibição de lesão (81,40%) em

relação as outras doses do EMCP (Tabela 4), mantendo o efeito dose resposta encontrado no modelo de indução por etanol.

Tabela 4. Efeito do extrato metanólico da semente de *C. papaya* na área total de lesão, área relativa, índice de lesão ulcerativo e porcentagem de inibição 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	8	-	14,15±1,36	3,47±0,51	27,94±3,92	-
Cimetidina	8	200	2,22±0,59**	0,50±0,13**	4,16±1,04**	85,12
EMCP	8	125	6,44±0,52**,*	1,44±0,17**	10,71±1,48**	61,67
	8	250	5,90±0,74**	1,12±0,17**	9,28±1,86**	66,77
	8	500	4,37±0,71**	0,96±0,18**	5,20±0,90**	81,40

Ratos pré-tratados com Cimetidina (200 mg/kg) ou EMCP (125, 250 e 500 mg) apresentaram redução da área total da lesão, % área de lesão e índice de lesão ulcerativa sendo: ** p<0,001 comparado com o grupo controle negativo (salina) e, * p<0,05 comparado com o grupo controle positivo Cimetidina (200 mg/kg). Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

Portanto, sugere-se que, os compostos bioativos presentes no EMCP, podem favorecer a síntese de prostaglandina e/ou agentes protetores da mucosa. Lemos et al [50], avaliaram a atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico das folhas *Brassica oleracea*, em diferentes modelos animais, incluindo o modelo de indometacina, que apresentou gastroproteção de 66,4% na dose de 100 mg/kg, sendo que a sua composição fitoquímica evidenciou a presença de flavonoides, terpenos e glucosinolatos, que são classes semelhantes as encontradas no EMCP.

A partir dos resultados obtidos nos dois modelos agudos de indução de úlcera gástrica, optou-se por utilizar a dose de 500 mg/kg nos demais ensaios biológicos, devido a melhor efetividade nos índices avaliados.

Após identificar a gastroproteção nos modelos agudos, o modelo de úlcera crônica induzida por ácido acético foi empregado para investigar a eficácia do EMCP no tratamento da lesão. A metodologia empregada é de fácil aplicabilidade e reprodução. As lesões ocasionadas pelo ácido acético se assemelham macroscopicamente e histologicamente às lesões humanas [57]. O processo de cura está relacionado com vários mecanismos celulares, incluindo a migração, proliferação, reepitelização, angiogênese e deposição da matriz celular, mediada pelas citocinas, prostaglandinas, óxido nítrico e fatores de crescimento [58].

Na cicatrização da úlcera crônica, o EMCP e a cimetidina proporcionaram regeneração com diferença significativa quando comparados com o veículo. A porcentagem de cura da lesão do EMCP foi maior do que o controle positivo, sendo 84,33% e 73,07%, respectivamente (Tabela 5). Tais resultados demonstram que o extrato apresenta tanto atividade gastroprotetora quanto curativa, podendo estar relacionado à presença de compostos bioativos, destacando os fenólicos, carotenóides e glucosinolatos, que de acordo com Nguyen et al [59], são responsáveis por atuarem em vários mecanismos de sinalização, proliferação e angiogênese celular.

Tabela 5. Efeito do extrato metanólico da semente de *C. papaya* na área total de lesão, área relativa, porcentagem de cura 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	8	-	20,68±3,97	7,58±1,07	-
Cimetidina	8	200	5,65±1,07*	2,38±0,60**	73,07
EMCP	8	500	3,54±0,76**	1,29±0,27**	84,33

Ratos pré-tratados com Cimetidina ou EMCP (500 mg/kg) apresentaram redução da área total da lesão e % área de lesão, sendo: *p<0,01 comparado com o grupo controle negativo (salina) e, **p<0,001 comparado com o grupo controle negativo (salina) Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

Tama et al [60] avaliaram o efeito antinociceptivo e anti-inflamatório do extrato aquoso das sementes de mamão, enquanto Anaga e Onehi [61] avaliaram o extrato metanólico, nas doses de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg em ratos. Em ambos os estudos, os efeitos relacionados à analgesia e ação anti- inflamatória apresentaram ação dose dependente. Tais resultados foram correlacionados com a presença de alcalóides, flavonoides, polifenóis e saponinas no extrato analisado.

A fim de investigar efeitos toxicológicos subagudos da administração por 14 dias de 500 mg/kg de EMCP no modelo de avaliação da cicatrização gástrica, foram realizadas dosagens bioquímicas no soro extraído do sangue coletado no momento da eutanásia para verificar prováveis sinais de toxicidade hepática, quantificando: aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamiltransferase (γ GT), e possíveis danos renais a partir da determinação de uréia e creatinina [62]. Como pode ser observado na Tabela 6, não houve diferença significativa entre os grupos, reforçando a ausência de toxicidade aguda e subaguda do EMCP.

Tabela 6. Quantificação bioquímica de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), gama glutamiltransferase (γ -GT), creatinina e uréia em ratos tratados com salina (controle), cimetidina (200 mg/kg) ou *C. papaya* (EMCP 500 mg/kg) por 14 dias no modelo de indução de ácido acético.

Tratamentos	AST (U/L)	ALT (U/L)	γ -GT (U/L)	Creatinina (mg/dL)	Uréia (mg/dL)
Controle	106,25±9,80	29,63±3,81	6,75±0,25	0,35±0,03	38,74±3,34
Cimetidina	112,25±4,22	31,00±2,32	6,88±0,30	0,35±0,03	36,11±1,80
EMCP	117,00±14,05	32,38±2,44	6,88±0,30	0,35±0,03	36,46±2,08
p	0,76	0,81	0,94	1,00	0,73

Ratos pré-tratados com Salina (0,5mL/kg), Cimetidina (200 mg/ kg) ou EMCP (500 mg/kg) durante 14 dias. Não apresentaram morte, alterações significativas nos exames laboratoriais ou toxicidade significativa durante 14 dias de observações. Resultados em média \pm E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

A partir dos resultados positivos encontrados nos modelos de indução de úlcera gástrica e a ausência de sinais de toxicidade, houve interesse em avaliar a possível relação entre a ação gastroprotetora e curativa do EMCP com o óxido nítrico (NO) e os compostos sulfidrílicos (GSH), os quais consistem em importantes fatores protetores da mucosa gástrica.

O NO está relacionado no controle da secreção ácida e alcalina, na motilidade gastrointestinal, no fluxo sanguíneo gástrico, no recrutamento de neutrófilos e na secreção de muco [63]. Já os GSH fazem parte dos sistemas de defesa antioxidantes, impedindo a peroxidação lipídica e o dano celular, além de estarem relacionados com a produção e manutenção de muco gástrico [64].

Nos ensaios, a administração do inibidor de óxido nítrico sintetase não alterou significativamente a citoproteção promovida pelo EMCP, pois manteve a gastroproteção em 82% em ambos pré-tratamentos (com salina e L-NAME), demonstrando que o efeito do EMCP independe da presença de óxido nítrico (Tabela 7).

Tabela 7. Efeito do extrato metanólico da semente de *C. papaya* (EMCP 500 mg/kg) na área total de lesão, área relativa, índice de lesão ulcerativo e porcentagem de inibição em úlceras gástricas induzidas por etanol em ratos pré-tratados com inibidor da óxido nítrico sintetase (L-NAME).

Pré-tratamentos (i.p.)	Tratamentos (v.o.)	n	Área total de lesão (mm ²)	%Área de lesão	Índice de lesão ulcerativa	Inibição (%)
Salina	Salina	6	157,45±31,91	14,64±2,92	467,17±97,70	-
Salina	Carbenoxolona	6	0,75±0,15 ^{***}	0,11±0,03 ^{**}	0,75±0,15 ^{***}	99,84
Salina	EMCP	6	34,87±9,26 ^{**}	4,66±1,34 [*]	96,49±26,87 ^{**}	82,28
L-NAME	Salina	6	166,62±14,26	17,77±1,85	496,29±42,80	-
L-NAME	Carbenoxolona	6	52,34±15,66 ^{***}	6,27±2,04 ^{**}	151,91±47,70 ^{***}	69,29
L-NAME	EMCP	6	27,75±8,50 ^{***}	3,86±1,45 ^{***§}	77,80±25,89 ^{***}	82,60

Ratos previamente tratados intraperitoneal com L-NAME (70 mg/kg) e salina (0,5 mL/kg). Pré tratados com Carbenoxolona (200 mg/ kg) e EMCP (500 mg/kg), apresentaram redução da área total da lesão, % área de lesão e índice de lesão ulcerativo, sendo: *p<0,05 comparado com o grupo controle negativo (salina), **p<0,01 comparado com o grupo controle negativo (salina), *** p<0,001 comparado com o grupo controle negativo (salina) e §p<0,001 comparado com a carbenoxolona. Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

No entanto, a administração do bloqueador de compostos sulfidrílicos aumentou estatisticamente a severidade das lesões gástricas induzidas por etanol, bloqueando a porcentagem de inibição do EMCP, que foi de, aproximadamente, 72% para 13% quando pré-tratados com salina (Tabela 8). Isto sugere que os compostos presentes no extrato exercem o efeito gastroprotetor relacionados com os GSH.

Tabela 8. Efeito do extrato metanólico da semente de *C. papaya* (EMCP 500 mg/kg) na área total de lesão, área relativa, índice de lesão ulcerativo e porcentagem de inibição em úlceras gástricas induzidas por etanol em ratos pré-tratados com bloqueador de compostos sulfidrílicos (NEM).

Pré-tratamentos (i.p.)	Tratamentos (v.o.)	n	Área total de lesão (mm ²)	%Área de lesão	Índice de lesão ulcerativa	Inibição (%)
Salina	Salina	6	117,75±12,73	11,02±1,22	346,65±41,09	-
Salina	Carbenoxolona	6	2,88±1,50 ^{***}	0,32±0,17 ^{***}	6,08±3,66 ^{***}	98,25
Salina	EMCP	6	34,89±9,90 ^{***}	3,53±1,00 ^{**}	95,29±27,63 ^{***}	72,51
NEM	Salina	6	198,66±12,16	24,27±1,38	594,56±36,88	-
NEM	Carbenoxolona	6	64,36±22,46 ^{**}	7,68±2,77	188,37±68,17 ^{***}	68,32
NEM	EMCP	6	77,94±26,47 ^{**}	107,68±16,00 ^{***§}	322,06±47,31 [*]	13,41

Ratos previamente tratados intraperitoneal com NEM (10 mg/kg) e salina (0,5 mL/kg). Pré tratados com Carbenoxolona (200 mg/ kg) e EMCP (500 mg/kg), apresentaram redução da área total da lesão, % área de lesão e índice de lesão ulcerativo, sendo: *p<0,05 comparado com o grupo controle negativo (salina), **p<0,01 comparado com o grupo controle negativo (salina), *** p<0,001 comparado com o grupo controle negativo (salina) e §p<0,001 comparado com a carbenoxolona. Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

Tais dados são semelhantes aos de Cordeiro et al [65], que avaliaram o efeito antiulcerogênico da casca da *Croton urucurana*, na dose de 100 mg/kg, e encontraram a necessidade dos GSH na ação gastroprotetora do extrato. Estudos relacionam sua ação com sua função redox, seu papel no processo inflamatório e na manutenção do muco [66, 67, 68].

Para esclarecermos outras vias envolvidas no mecanismo de ação do EMCP, utilizamos o modelo de ligadura de piloro, que permite analisar parâmetros relacionados à secreção gástrica, em decorrência da ação sistêmica, já que a via de administração é intraduodenal [69].

Após a administração, observou-se que o extrato e a cimetidina proporcionaram resultados com diferença significativa quando comparados com o veículo no que se refere ao valor de pH e do volume gástrico. No entanto, apenas a cimetidina diferiu na quantidade de íons H^+ produzidos (Tabela 9). Estes resultados sugerem que o EMCP interferiu na secreção do ácido gástrico.

Tabela 9. Efeito do extrato metanólico da *C. papaya* e cimetidina 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	6	-	2,67±0,16	1,44±0,27	40,78±5,12
Cimetidina	6	200	7,13±0,18**	0,80±0,10*	12,03±3,70*
EMCP	6	500	5,59±0,80*	0,73±0,15*	26,25±6,16

Os ratos tratados previamente com EMCP (500 mg / kg) e Cimetidina (200 mg/kg) tiveram reduções significativas do pH do conteúdo gástrico e do volume gástrico. Sendo: *p<0,05 comparado com o grupo controle negativo (salina), **p<0,001 comparado com o grupo controle negativo (salina). Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

Quanto à quantificação do muco, verificou-se que o EMCP e o controle positivo apresentaram diferenças estaticamente significantes, pois aumentaram a produção de muco (Tabela 10). Este resultado reforça o papel gastroprotetor do EMCP, já que o muco está envolvido na prevenção, proteção e na reparação de danos causados ao epitélio [50].

Tabela 10. Efeito do extrato metanólico da *C. papaya*, da cimetidina e carbenoxolona administrados intraduodenalmente nos parâmetros do suco gástrico no modelo de ligadura de piloro.

Tratamentos (i.d.)	N	Dose (mg/kg)	Alcian blue quelado (mg/peso do tecido (g))
Salina	6	-	1,36±0,02
Carbenoxolona	6	200	1,95±0,15*
Cimetidina	6	200	1,69±0,09
EMCP	6	500	1,96±0,13*

Os ratos pré tratados EMCP (500 mg / kg) e Carbenoxolona (200 mg/kg) tiveram aumento significativos do muco gástrico. Sendo: * $p < 0,01$ comparado com o grupo controle negativo (salina). Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey.

A literatura ressalta que os fenóis, flavonoides e taninos estão envolvidos na ação gastroprotetora [70, 71, 72]. Em decorrência disso e a partir dos resultados encontrados, realizou-se a quantificação de compostos do EMCP, sendo evidenciada a presença de aproximadamente 210,25 mg/g de fenóis, 157,60 mg/g de flavonoides, e 145,40 mg/g de taninos (Tabela 11).

Tabela 11. *Screening* fitoquímico quantitativo das principais classes de metabólitos secundários do extrato metanólico da semente do mamão *C. papaya*.

Amostras	Fenóis (mg/g)	Coefficiente de Variação (%)	Flavonóides (mg/g)	Coefficiente de Variação (%)	Taninos (mg/g)	Coefficiente de Variação (%)
EMCP	210,25	1,31	157,60	1,77	145,37	1,15

Outros estudos também dosaram tais compostos em sementes de *C. papaya*. Zhou et al [73] identificaram nas frações de acetato de etilo da semente do *C. papaya*, 19,45 mg/g de compostos fenólicos e 117,48 mg/g de flavonoides. Enquanto Afalobi et al [74] quantificaram 1,465 mg/g de tanino na semente in natura. Tais autores ressaltaram que essas quantidades possuem ação antioxidante.

Vasconcelos et al [75] investigaram o efeito das frações de taninos e flavonoides do extrato metanólico das folhas de *Mouriri pusa* na prevenção e cicatrização das úlceras gástricas. As fração de tanino (25 mg/kg) ou de flavonoides (50 mg/kg), foram capazes de reduzir significativamente a área da lesão ($p < 0,05$), com efeito gastroprotetor, regenerativo, anti-inflamatório, com angiogênese das células lesionadas, bem como o aumento da secreção e de muco.

Venturini et al [76] demonstraram que o extrato de semente de mamão, obtido por extração aquosa ou com solventes orgânicos, apresenta um componente bioativo, o

isotiocianato de benzila, o qual é gerado a partir da conversão dos glucosinolatos pela ação da enzima mirosinase presente no próprio vegetal ou na microbiota do trato digestivo humano.

Os isotiocianatos são responsáveis por organizarem uma grande rede de genes, com ação citoprotetora, antioxidante e anti-inflamatória. É esta capacidade de induzir respostas versáteis e de longa duração, que protege contra o estresse oxidativo, estresse eletrolítico e a inflamação crônica, que faz com que estes fitoquímicos sejam agentes de proteção extremamente eficientes [77].

Estes compostos foram encontrados em vegetais que demonstraram atividade antiulcerogênica em animais, tais como o alho [78], brócolis [79], repolho [80], couve [50] e o espinafre [82]. Matsuda et al [82] avaliaram o efeito gastroprotetor de diferentes isotiocianatos, destacando o isotiocianato de benzila, que é predominante no *C papaya*, em modelo de indução aguda. No modelo de etanol, foram utilizados as doses de 0,625, 1,25 e 2,5 mg/kg com inibição da lesão de 33,6%, 71,8% e 97% respectivamente. Para o modelo de indometacina as doses foram 5, 10 e 20 mg/kg com inibição da lesão 50,5 %, 33,1 % e 2,2%. Tais resultados demonstram que doses elevadas do isotiocianato de benzila apresentam efeitos nocivos a mucosa gástrica.

O isotiocianato de benzila foi quantificado no extrato conforme a Tabela 12, apresentando 6,45 µg/g, o que sugere que este pode ser um dos compostos bioativos que apresenta efeito gastroprotetor, no entanto, tais dados demonstram a necessidade de realização de novos estudos para verificar a ação e os possíveis mecanismos do isotiocianato de benzila e/ou outros compostos da semente do mamão, assim como avaliar sua toxicidade.

Tabela 12. Análise quantitativa do isotiocianato de benzila do extrato metanólico da semente do mamão *C. papaya*.

Amostras	Tempo de retenção	Limites de Detecção	Limites de Quantificação	Quantidade de Benzil Isotiocianato de benzila/g do EMCP
EMCP	12,45 min	0,030µg/mL	0,1µg/mL	6,45 µg/g

Conclusão

Os resultados confirmaram que o extrato metanólico da semente do mamão formosa *Carica papaya* Linn apresenta atividade gastroprotetora, tanto nos modelos de prevenção como no modelo de cura da úlcera gástrica. O efeito gastroprotetor não se relacionou com a ação do óxido nítrico endógeno, mas foi dependente dos compostos sulfidrílicos, assim como aumentou a produção de muco e diminuiu a acidez gástrica. Nenhum sinal de toxicidade foi evidenciado nos animais. A dose de 500 mg/kg apresentou maior efetividade gastroprotetora. Estes dados apontam o potencial para o desenvolvimento de uma nova droga antiulcerogênica a partir do extrato da semente do mamão formosa *Carica papaya* Linn. No entanto, novos estudos são necessários para elucidar os possíveis mecanismos de ação do isotiocianato de benzila e/ou outros compostos presentes no EMCP frente a ação antiulcerogênica, assim como a realização de estudos clínicos para suportar o uso pela população.

Referências

1. Orsi PR, Bonamin F, Severi JA, Santos RC, Vilegas W, Hiruma-Lima CA, Di Stasi LC (2012) *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti-ulcer and antidiarrheal effects in experimental rodent models. *Journal of Ethnopharmacology* 143: 81-90.
2. Glavin GB, Szabo S (1992) Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. *The FASEB Journal* 3: 825-831.
3. Yuan Y, Padol IT, Hunt RH (2006) Peptic ulcer disease today. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology* 3: 80-89.
4. Boltin D, Halpern M, Levi Z, Vilkin A, Morgenstern S, Ho SB, Niv Y (2012) Gastric mucin expression in *Helicobacter pylori*-related, nonsteroidal anti-inflammatory drug-related and idiopathic ulcers. *World Journal of Gastroenterology* 18: 4597-4603.
5. Falcão HS, Leite JA, Filho JMB, Athayde-Filho PF, Chaves MCO, Moura MD, Ferreira AL, Almeida ABA, Souza-Brito ARM, Diniz MFFM, Batista LM (2012) Gastric and duodenal antiulcer activity of Alkaloids: A review. *Molecules* 13: 3198-3223.
6. Repetto MG, Llesuy SF (2002) Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 5: 523-534.

7. Zapata-Colindres JC, Zepeda-Gómez S, Montaña-Loza A, Vázquez-Ballesteros E, Villalobos JJ, 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.
8. O'Malley P (2003) Gastric ulcers and gerd: the new "plagues" of the 21st century update for the clinical nurse specialist. *Clinical Nurse Specialist* 17: 286-289.
9. Zelickson MS, Bronder CM, Johnson BL, Camunas JA, Smith De, Rawlinson D, Von S, Stone HH, Taylor SM (2011) *Helicobacter pylori* is not the predominant etiology for peptic ulcers requiring operation. *The American Surgeon* 77: 1054-1060.
10. Thorsen K, Soreide JA, Kvaløy JT, Glomsaker T, Soreide K (2013) Epidemiology of perforated peptic ulcer: Age- and gender-adjusted analysis of incidence and mortality. *World Journal Gastroenterology* 19: 347-354.
11. Polo CM, Moraes TM, Pellizzon CH, Marques MO, Rocha LRM, Hiruma-Lima CA (2012) Gastric ulcers in middle-aged rats: The healing effect of essential oil from *Citrus aurantium* L. (Rutaceae). *Evidence-based complementary and alternative medicine* 1: 1-8.
12. Malfertheiner P, Chan FK, Mccoll KE (2009) Peptic ulcer disease. *The Lancet* 374: 1449-1461.
13. Chan FK, Leung WK (2002) Peptic-ulcer disease. *The Lancet* 360: 933-941.
14. Santin JR, Lemos M, Klein LCJ, Niero R, Andrade SF (2010) Antiulcer effects of *Achyrocline satureoides* (Lam.) DC (Asteraceae) (Marcela), a folk medicine plant, in different experimental models. *Journal of Ethnopharmacology* 130: 334-339.
15. Adhikary B, Yadav SK, Bandyopadhyay SK, Chattopadhyay S (2011) Epigallocatechin gallate accelerates healing of indomethacin-induced stomach ulcers in mice. *Pharmacological Reports* 63: 527-536.
16. Fenner R, Betti AH, Mentz LA, Rates SMK (2006) Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 42: 369-394.
17. Silva GG, Diniz RG, Silva ME (2007) Avaliação química do mamão papaia (*Carica papaya* Linn) Em diferentes estádios de maturação. *Revista Capixaba de Ciência e Tecnologia* 3: 1-7.
18. Carlos IZ, Lopes FCM, Benzatti FP, Carli CBA, Marques MF, Jordão Junior CM, Rinaldo D, Calvo TR, Santos LC, Vilegas W (2005) Ação do extrato metanólico e etanólico de *Davilla elliptica* St. Hill.(Malpighiaceae) na resposta imune. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 15: 44-50.
19. Da Silva NLA, Miranda FAA, Da Conceição GM (2010) Triagem fitoquímica de plantas de cerrado, da área de proteção ambiental municipal do Inhamum. *Scientia Plena* 6: 1-7.
20. Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N (2006) Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97: 654-660.

21. Lin JY, T-Ang CY (2007) Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chemistry* 101: 140-147.
22. Broadhurst RB, Jones WT (1978) Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 29: 788-794.
23. Agostini-Costa TS, Garruti DS, Lima L, Freire S, Abreu FAP, Feitosa T (1999) Avaliação de metodologias para determinação de taninos no suco de caju. *Boletim CEPPA* 17: 167-176.
24. OECD (2001) Guideline for testing of chemicals: acute oral toxicity-acute toxic class method 423: 1-14.
25. Lucio EMRA, Rosalen PL, Sharapin N, Souza Brito ARM (2000) Avaliação toxicológica aguda e screening hipocrático da epissopilosina, alcalóide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Stapf. *Revista Brasileira Farmacognosia* 1: 23-35.
26. Souza Brito AR (1994) Manual de ensaios toxicológicos "In Vivo". Unicamp, Campinas/SP - Brasil 1: 1-122.
27. 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.
28. Mello VJ, Gomes MTR, Lemos FO, Delfino JL, Andrade SP, Lopes MTP, Salas CE (2008) The gastric ulcer protective and healing role of cysteine proteinases from *Carica candamarcensis*. *Phytomedicine* 15: 237-244.
29. Andrade SF, Antonioli D, Comunello E, Cardoso LGV, Carvalho JCT, Bastos JK (2006) Antiulcerogenic activity of crude extract, fractions and populnoic acid isolated from *Austroplenckia populnea* (Celastraceae). *Zeitschrift fur Naturforschung C. Journal of biosciences* 61: 329-333.
30. Hayden LJ, Thomas G, West GB (1978) Inhibitors of gastric lesions in the rat. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 30: 244-246.
31. 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.
32. Vasconcelos PCP, Andreo MA, Vilegas W, Hiruma-Lima CA, Pellizzon CH (2010) Effect of *Mouriri pusa* tannins and flavonoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology* 131: 146-153.
33. Shay H, Komarov SA, Fels SS, Marenze D, Grunstein M, Siplet H (1945) A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology* 5: 43-61.
34. Sun SB, 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.
35. 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.

36. Liu J, Mok E, Wong T (2005) Perceptions of supportive communication in Chinese patients with cancer: experiences and expectations. *Journal Advanced Nursing* 52: 262-270.

37. Cechinel FV, Yunes RA (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.

38. Adeneyea AA, Olagunjub JA (2009) Preliminary hypoglycemic and hypolipidemic activities of the aqueous seed extract of *Carica papaya* Linn. in Wistar rats. *Biology and Medicine* 1: 1-10.

39. Hamman WO, Musa SA, Ikyembe DT, Umana UE, Adelaiye AB, Nok AJ, Ojo SA (2011) Chronic Oral Administration of Ethanol Extract of *Carica papaya* Seeds Does not Affect the Histology of the Cauda Epididymis of Adult Male Wistar Rats. *Asian Journal of Medical Sciences* 5: 192-194.

40. Lohiya NK, Mishra PK, Pathak N, Manivannan B, Bhande SS, Panneerdoss S, Sriram S (2005) Efficacy trial on the purified compounds of the seeds of *Carica papaya* for male contraception in albino rat. *Reproductive Toxicology* 20: 135-148.

41. Rahgozar M, Toroudi HRP, Bakhtiarian A, Djahanguiri B (2002) Diazoxide, a K_{ATP} channel opener, prevented ethanol-induced gastric ulceration in rats. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics* 1: 5-7.

42. Abdulla MA, Ahmed KAA, Al-Bayaty FH, Masood Y (2010) Gastroprotective effect of *Phyllanthus niruri* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 4: 226–230.

43. Omar NAM, Abdullah N, Kuppusamy UR, Abdulla MA, Sabaratnam V (2011) “Nutritional composition, antioxidant activities, and antiulcer potential of *Lentinus squarrosulus* (mont.) Mycelia extract”. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 1: 1-8.

44. Lima GRM, Montenegro CA, Falcão HS, Jesus NZT, Cabral AGS, Gomes IF, Agra MF, Tavares JF, Batista LM (2012) Gastroprotective activity of the ethanolic extract and hexane phase of *Combretum duarceanum* Cambess. (Combretaceae). *Journal of Natural Medicines* 1: 1-11.

45. Okewumi TA, Oyeyemi AW (2012) Gastro-protective activity of aqueous *Carica papaya* seed extract on ethanol induced gastric ulcer in male rats. *African Journal of Biotechnology* 34: 8612-8615.

46. Toma W, Trigo JR, Paula ABC, Souza Brito ARM (2004) Preventive activity of pyrrolizidine alkaloids from *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) on gastric and duodenal induced ulcer on mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology* 95: 345–351.

47. O'Brien P, Carrasco-Pozo C, Speisky H (2006) Boldine and its antioxidant or health-promoting properties. *Chemical Biology Interactions* 159: 1-17.

48. Mota KSL, Dias GEN, Pinto MEF, Ferreira AL, Souza-Brito ARM, Hiruma-Lima CA, Barbosa-Filho JM, Batista LM (2009) Flavonoids with gastroprotective activity. *Molecules* 14: 979-1012.

49. Borrelli F, Izzo AA (2000) The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research* 8: 581-591.
50. Lemos M, Santin JR, Júnior LC, Niero R, Andrade SF (2011) Gastroprotective activity of hydroalcoholic extract obtained from the leaves of *Brassica oleracea* var. *Acephala* DC in different animal models. *Journal of Ethnopharmacology* 138: 503-507.
51. Barreiro EJ (2002) Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: A descoberta de novos agente cardioativo. *Química Nova* 25: 1172-1180.
52. Mello JCP, Santos SC (2004) Taninos. *In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento UFRGS/UFSC* 5: 615-656.
53. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, De Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (1999). *Farmacognosia: da planta ao medicamento. UFRGS/UFSC.*
54. Blackler R, Syer S, Bolla M, Ongini E, Wallace JL (2012) Gastrointestinal-sparing effects of novel NSAIDs in rats with compromised mucosal defence. *PLoS ONE* 7: 1-4.
55. Oliveira AP, Santin JR, Lemos M, Júnior LCK, Couto AG, Bittencourt CMS, Cechinel Filho V, Andrade SF (2011) Gastroprotective activity of methanol extract and marrubiin obtained from leaves of *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae). *Pharmacy and Pharmacology* 63: 1230-1237.
56. Yadava SK, Adhikarya B, Bandyopadhyaya SK, Chattopadhyay S (2013) Inhibition of TNF- α , and NF- κ B and JNK pathways accounts for the prophylactic action of the natural phenolic, allylpyrocatechol against indomethacin gastropathy. *Acta Biochimica et Biophysica* 1830: 3776–3786.
57. 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.
58. Tarnawski A (2000) Molecular mechanisms of ulcer healing. *Drug News & Perspectives* 13: 158-168.
59. Nguyen TT, Shaw PN, Parat MO, Hewavitharana AK (2012) Anticancer activity of *Carica papaya*: a review. *Molecular Nutrition & Food Research* 57: 153–164.
60. Tamma NV, Ashraf TN, Nagakrishna L, Sudhakar L, Challa S (2011) Evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory effect of aqueous seed extract of *Carica Papaya* Linn in albino Rats. *International Journal of Medical and Health Sciences* 2: 305-310.
61. Anaga AO, Onehi EV (2010) Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the methanol seed extract of *Carica papaya* in mice and rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 4: 140-144.
62. 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.
63. Klein-Júnior LC, Santana JR, Lemos M, Silveira ACO, Rocha JAR, Beber AP, Wagner TM, Bresolina TMB, Bella-Cruza A, Cechinel-Filho V, Andrade SF (2013) Role of gastric mucus secretion, oxinitergic system and sulfhydryl groups on the gastroprotection elicited by *Polygala cyparissias* (Polygalaceae) in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 65: 797-776.

64. Sidahmed HM, Azizan AH, Mohan S, Abdulla MA, Abdelwahab SI, Taha MM, Hadi AH, Ketuly KA, Hashim NM, Loke MF, Vadivelu J (2013) Gastroprotective effect of desmosdumotin C isolated from *Mitrella kentii* against ethanol-induced gastric mucosal hemorrhage in rats: possible involvement of glutathione, heat-shock protein-70, sulfhydryl compounds, nitric oxide, and anti-Helicobacter pylori activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13: 1-183.
65. Cordeiro KW, Pinto LA, Formagio ASN, Andrade SF, Kassuya CAL, Freitas KC (2012) Antiulcerogenic effect of *Croton urucurana* baillon Bark. Journal of Ethnopharmacology 143: 331-337.
66. Hernández-Muñoz R, Montiel-Ruíz C, Vázquez-Martínez O (2000) Gastric mucosal cell proliferation in ethanol-induced chronic mucosal injury is related to oxidative stress and lipid peroxidation in rats. *Laboratory Investigation* 80: 1161-1169.
67. Bayir Y, Odabasoglu F, Cakir A, Aslan A, Suleyman H, Halici M (2006). The inhibition of gastric mucosal lesion, oxidative stress and neutrophil infiltration in rats by the lichen constituent diffractaic acid. *Phytomedicine* 13: 584-590.
68. Arruda ANCBN, Coelho RG, Honda NK, Ferrazoli C, Pott A, Hiruma-Lima (2009) Gastroprotective effect of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae): Involvement of Sensory Neurons, Endogenous Nonprotein Sulfhydryls, and Nitric Oxide. *Journal of Medicinal Food* 12: 1411-1415.
69. Jainu M, Devi CSS (2006) Antiulcerogenic and ulcer healing effects of *Solanum nigrum* (L.) on experimental ulcer models: possible mechanism for the inhibition of acid formation. *Journal of Ethnopharmacology* 104: 156–163.
70. Sumbul S, Ahmad MA, Mohd A, Mohd A (2011) Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An Overview. *Journal of Pharmacy & BioAllied Sciences* 3: 361-367.
71. Dekanski D, Janićijević-Hudomal S, Tadić V, Marković G, Arsić I, Mitrović DM (2009) Phytochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract. *Journal of the Serbian Chemical Society* 4: 367-377.
72. Khennouf S, Amira S, Arrar L, Baghiani A (2010) Effect of some phenolic compounds and quercus tannins on lipid peroxidation. *World Applied Sciences Journal* 9: 1144-1149.
73. Zhou K, Wang H, Mei W, Li X, Luo Y, Dai H (2011) Antioxidant activity of papaya seed extract. *Molecules* 16: 6179-6192.
74. Afalobi IS, Marcus GD, Olanrewaju TO, Chizea V (2011) Biochemical effect of some food processing methods on the health promoting properties of under – utilized *Carica papaya* seed. *Journal of Natural Products* 4: 17-24.
75. Vasconcelos PCP, Andreo MA, Vilegas W, Hiruma-Lima CA, Pellizzon CH (2010) Effect of *Mouriri pusa* tannins and flavonoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology* 131: 146-153.
76. Venturini T, Benchimol LR, Bertuol DA, Rosa MB, Meili L (2012) Estudo da secagem e extração de sementes de mamão (*Carica papaya* L.). *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental* 5: 950-959.
77. Dinkova-Kostova AT, Kostov RV (2012) Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease. *Trends in Molecular Medicine* 18: 1-11.

78. Khosla P, Karan RS, Bhargava VK (2004) Effect of garlic oil on ethanol induced gastric ulcers in rats. *Phytotherapy Research* 18: 87-91.
79. Yanaka A, Fahey JW, Fukumoto A, Nakayama M, Inoue S, Zhang S, Tauchi M, Suzuki H, Hyodo I, Yamamoto M (2009) Dietary Sulforaphane-Rich Broccoli Sprouts Reduce Colonization and Attenuate Gastritis in *Helicobacter pylori*-Infected Mice and Humans. *Cancer Prevention Research* 4: 353. 10.1158/1940-6207.CAPR-08-0192
80. Carvalho CA, Fernandes KM, Matta SL, Silva MB, Oliveira LL, Fonseca CC (2011) Evaluation of antiulcerogenic activity of aqueous extract of *Brassica oleracea* var. capitata (cabbage) on Wistar rat gastric ulceration. *Arquivos de Gastroenterologia* 48: 276-282.
81. Kumar V, Bhat ZA, Kumar D, Khan NA, Chashoo IA, Ara I (2012) Gastroprotective effect of leaf extracts of *Basella alba* var. alba against experimental gastric ulcers in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 22: 657-662.
82. Matsuda H, Ochi M, Nagatomo A, Yoshikawa M (2007) Effects of allyl isothiocyanate from horseradish on several experimental gastric lesions in rats. *European Journal of Pharmacology* 561: 172–181.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA


Dourados, 4 de novembro de 2011

Senhora Pesquisadora:

Karine de Cássia Freitas

O Projeto de sua responsabilidade – Protocolo nº. **008/2011 – CEUA/UGD** - intitulado “**Estudo da eficácia do extrato da semente do mamão (*Carica papaya* Linn) na prevenção e no tratamento da úlcera gástrica induzida em animais**”, foi integralmente **APROVADO** e poderá ser conduzido.

Ressaltamos que é de responsabilidade do (a) pesquisador (a) envio de notificação à CEUA sobre o término do projeto.



Prof. Dr. Fernando Miranda de Vargas Junior
Coordenador – CEUA/UGD