

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

**EFICÁCIA DO EXTRATO DA FOLHA DO BÁLSAMO *Sedum*
dendroideum NA PREVENÇÃO E NO TRATAMENTO DA ÚLCERA
GÁSTRICA INDUZIDA EM ANIMAIS**

VIVIANE CARRASCO

Dourados-MS

2014

VIVIANE CARRASCO

**EFICÁCIA DO EXTRATO DA FOLHA DO BÁLSAMO *Sedum dendroideum*
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.

Dourados - MS

2014

Agradecimentos

Ao meu Pai Celestial, Deus Todo Poderoso, por me guiar em tudo que faço e pelo seu amor incondicional.

Este trabalho não teria sido elaborado sem o auxílio de diversas pessoas às quais quero expressar meus sinceros agradecimentos.

A minha família, meu bem maior, meus queridos pais, minha irmã e minhas avós. Muito obrigada pelo incentivo e orações!

A professora Dr^a Karine de Cássia Freitas, por ter sido generosa em orientar uma aluna agitada e com muitas incertezas com relação à pesquisa experimental. Agradeço a você pela sua paciência, sua experiência, seu conhecimento, que me incentivou a progredir cada vez mais nos estudos. Pessoa com um valor inestimável, uma orientadora muito especial, querida, amável, humilde, atenciosa e acima de tudo, um ser humano notável de sabedoria. Admiro muito seu empenho enquanto docente e como pesquisadora. É um privilégio ser sua aluna, aprendi muito com seu caráter e suas dicas, suas orientações, disciplina, correções, palavras de conforto e ânimo! Isso foi fundamental para meu crescimento e por tudo isso, como expressar minha alegria? Muito obrigada, professora Karine! Sou grata a Deus pela nossa convivência. Obrigada por tudo de coração!

A professora Dr^a Claudia Andréa Lima Cardoso, não imaginava que poderia ter a oportunidade de conhecer você por intermédio da minha querida orientadora Karine. Você é uma professora animada, uma química fantástica! Quantos incentivos, fórmulas, soluções, ajuda para escrever, dicas e até as comemorações! Aprendi sobre o estudo fitoquímico, como preparar um extrato, enfim, aprendi muito com tudo. Admiro sua competência, sua dinâmica, seu conhecimento, sua prática e principalmente suas palavras de incentivo.

A minha amiga querida, Ana Maria Magalhães Araújo, minha gratidão por tudo, desde os experimentos, as risadas, as crises de choro quando tudo parecia errado e aos seus incentivos. Você me ensinou muito, inclusive os temíveis cálculos de dosagens, o cuidado no biotério com os ratinhos, as madrugadas em experimento ou estudando, os feriados no laboratório, a sua paciência, dedicação e organização, muito obrigada por sua preciosa amizade! Minha amiga mineirinha, fala mansa, o que seria das minhas pesquisas sem você? Valeu demais!

As colegas do grupo de pesquisa: Lorraine Aparecida Pinto, Luciana Carvalho, Kátia Wolff Cordeiro e a acadêmica de nutrição Francielli Brondani, pelos ensinamentos, pela ajuda e apoio durante os experimentos. Muito obrigada por tudo que conseguimos construir juntas. Minha pesquisa é a expressão da disponibilidade de vocês em me ajudar. De coração, obrigada!

As companheiras de mestrado Giseli Traesel e Juliane Coelho, pelos dias, finais de semana e feriados dedicados a colaborar comigo nos experimentos, valeu demais meninas, vocês são extremamente importantes nesta minha conquista!

Aos funcionários e técnicos da UFGD, Letícia, Célia, Alessandra, Débora, Anahy, Felipe, Antônio e demais, muito obrigada pelo apoio.

A técnica Anália, sem você não teria a planta medicinal para o estudo. Não tenho como agradecer sua ajuda em cultivar, colher e armazenar o bálsamo. Nossa! Quanta coisa você me ensinou e a lição de vida que aprendi com você: ter humildade e companheirismo. Valeu muito!!!

A Direção da FCS, a coordenação e a todos os professores do Mestrado em Ciências da Saúde, meus mestres do saber, muito obrigada!

Ao Franksteffen Silva Maia, meu querido colega químico, que me ensinou a manipular o tal rotoevaporador, a preparar o extrato e os cálculos. Obrigada pelas dicas e sua ajuda.

A todos os colegas da turma de mestrado 2012, por compartilharmos conhecimentos, experiência e apoio no decorrer das aulas, muito obrigada pessoal!

A estagiária do biotério Aline, muito obrigada pela dedicação em cuidar dos ratinhos. Você, com certeza, colaborou para o bom desenvolvimento da pesquisa.

Ao professor Tiago Lima de Almeida, da Faculdade Anhanguera, pela doação de material para o desenvolvimento da pesquisa.

A bioquímica Dr^a Andressa Leite Ferraz, do Hospital Universitário, pela sua parceria no estudo e disponibilidade em realizar os exames laboratoriais.

A prof^a Dr^a Zefa e ao técnico Emerson, do herbário da UFGD, por identificar a espécie do estudo e dar ainda mais credibilidade a tudo o que foi pesquisado, obrigada!

A Direção de Pró-Reitoria de Pesquisa da Unigran, Dr^a Adriana Mestriner e a prof^a Clelia, do laboratório de farmácia, pela disposição em finalizar as etapas de preparo do extrato com o equipamento liofilizador. Muito obrigada!

A coordenadora de Enfermagem da Unigran Tatiana Valezzi, pela liberação e cedência das minhas atividades profissionais para os estudos do mestrado. Muito obrigada pelo apoio e compreensão.

Aos meus alunos, que me fazem acreditar sempre no ensino, na pesquisa, na transformação e na esperança.

A todos que contribuíram para a minha pesquisa, direta ou indiretamente, com certeza muitas pessoas ajudaram nesta conquista. Obrigada!!!

Dedicatória

Aos meus pais, Valdinei Carrasco Ramos e Ivanete Leonarda Carrasco, por sempre me apoiarem em tudo que faço, por serem meus doutores em ensinar sobre a vida, principalmente valores e princípios, pelo amor insubstituível, pelo cuidado, pela dedicação, a força, orações, os auxílios diversos e por suportar minha ausência neste período de estudos. Amo vocês e dedico essa vitória a minha família, meu amor maior, minha segurança em todo o tempo.

Resumo

A úlcera gástrica representa uma das doenças com maior prevalência em todo mundo e seu tratamento demanda medicamentos que apresentam efeitos colaterais e são de alto custo. A planta medicinal *Sedum dendroideum*, conhecida como bálsamo é usada popularmente para tratamento de úlcera gástrica. Os objetivos deste estudo foram avaliar a atividade antiulcerogênica do *Sedum dendroideum* em modelos de úlcera gástrica induzida em ratos wistar, seus prováveis mecanismos de ação e os aspectos toxicológicos. Para a avaliação da atividade gastroprotetora, foram utilizados os modelos de lesão gástrica aguda (etanol e indometacina) e crônica (ácido acético). A atividade do extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum* (ESD) sobre a secreção gástrica foi avaliada pelos modelos de ligadura de piloro, determinação do volume do conteúdo estomacal, pH e concentração de íons de hidrogênio. O mecanismo de ação foi verificado por meio do óxido nítrico e dos compostos sulfidrílicos. Foi observada resposta positiva em relação à atividade gastroprotetora deste extrato. No modelo de etanol absoluto onde os animais foram distribuídos em 5 grupos (n=7), pré-tratados por via oral (VO) com salina (5mg/Kg), lansoprazol (30mg/Kg) e com o ESD (25, 50 e 100mg/kg), houve redução da lesão de, respectivamente, 84,5%, 66,03%, 71,11% e 70,82%. Na indução por indometacina, com 5 grupos de animais (n=7) pré-tratados por (VO), com solução de salina (5 mg/Kg), cimetidina (200 mg/Kg) ou ESD (25, 50 e 100mg/kg) houve redução da lesão de, respectivamente, 89,41%, 89,88%, 94,36% e 90,64%. No tratamento de úlcera crônica induzida por ácido acético, os animais foram submetidos à lesão gástrica crônica, com três grupos de estudo (n=7), sendo tratados (VO) com solução de salina (5 mg/Kg), cimetidina (200 mg/Kg) e o ESD (50 mg/Kg), com índice de cura de 77,16% e 92,99%, respectivamente. O screening fitoquímico identificou flavonoides, fenois e taninos. O ensaio de atividade antioxidante com o radical livre DPPH foi realizado no ESD nas concentrações (25, 50 e 100 mg), com percentual de inibição de 79,7%, 82,4% e 82,3%, respectivamente. O ESD não apresentou parâmetros de toxicidade nos animais testados. O mesmo mostrou-se dependente dos compostos sulfidrílicos, aumentou o muco, o pH e reduziu íons H⁺ e o volume gástrico, apresentando ação antioxidante.

Palavras-chaves: *Sedum*, úlcera gástrica, toxicidade, plantas medicinais.

Abstract

Gastric ulcer is one of the most prevalent diseases worldwide and its treatment demand drugs have side effects and are expensive. The medicinal plant *Sedum dendroideum*, known as balsam is popularly used for the treatment of gastric ulcer. The objectives of this study were to evaluate the antiulcer activity of *Sedum dendroideum* in models of induced gastric ulcer in Wistar rats, their probable mechanisms of action and toxicological aspects. For the evaluation of gastroprotective activity, models of acute and chronic (acetic acid) gastric injury (ethanol and indomethacin) and were used. The activity of hydroethanolic extract of *Sedum dendroideum* (ESD) on gastric secretion was evaluated by pylorus ligation models, determining the content of the stomach, pH content and concentration of hydrogen ions. The mechanism of action was verified by means of nitric oxide and sulfhydryl compounds. Positive response was observed regarding the gastroprotective activity of the extract. In absolute ethanol model where the animals were divided into 5 groups (n = 7), pre - treated orally (po) with saline (5mg/kg), lansoprazole (30mg/Kg) and ESD (25 , 50 and 100mg/kg) decreased the lesion, respectively, 84,5%, 66,03%, 71,11% and 70,82%. In the indomethacin induced with 5 groups of animals (n = 7) pre- treated by (po) with saline solution (5 mg/kg), cimetidine (200 mg/kg) or ESD (25, 50 and 100mg/kg) decreased the lesion, respectively, 89,41%, 89,88%, 94,36% and 90,64%. In the treatment of chronic ulcers induced by acetic acid, the animals were subjected to chronic gastric lesions with three study groups (n = 7), treated (po) with saline solution (5 mg/kg) , cimetidine (200 mg/ kg) and ESD (50 mg/kg), with a cure rate of 77,16% and 92,99%, respectively. Phytochemical screening identified flavonoids, phenols and tannins. The assay of antioxidant activity with the DPPH free radical was performed in ESD concentrations (25, 50 and 100 mg), with percentage inhibition of 79,7%, 82,4% and 82,3%, respectively. The ESD parameters showed no toxicity in test animals. The same was found to be dependent on sulfhydryl compounds, increased mucus, pH and H + ions and reduced gastric content, presenting antioxidant action.

Keywords : *Sedum*, gastric ulcer, toxicity, medicinal plants.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1. O Sistema Digestório.....	11
2.2. Anatomia Funcional do Estômago.....	11
2.3. Organização Histológica do Estômago.....	12
2.4. Mecanismos Celulares na Secreção Gástrica.....	13
2.5. Regulação da Secreção Gástrica.....	14
2.5.1 O Sistema Nervoso Entérico.....	14
2.5.2. A Secreção Gástrica.....	15
2.5.2.1. Estimulantes da Secreção Gástrica.....	16
2.5.2.2. Inibidores da Secreção Gástrica.....	18
2.6. Fatores Protetores da Mucosa Gástrica.....	18
2.7. Úlcera Gástrica - Epidemiologia e Patogênese.....	23
2.8. Tratamento Farmacológico da Úlcera Gástrica.....	25
2.9. Modelos de Indução da Úlcera Gástrica em Animais.....	27
2.9.1. Modelo de Indução por Etanol.....	29
2.9.2. Modelo Induzido pela Indometacina – AINEs.....	30
2.9.3. Modelo de Indução por Ácido Acético.....	31
2.10. Plantas Medicinais para Prevenção, Tratamento e Cura de Úlcera Gástrica.....	31
2.11. <i>Sedum dendroideum Moc et Sessé ex DC, Crassulaceae</i>	33
2.11.1. Constituintes químicos e atividades biológicas da espécie <i>Sedum dendroideum Moc et Sessé ex DC</i>	35
3. OBJETIVOS.....	38
3.1. Objetivo Geral.....	38
3.2. Objetivos Específicos.....	38
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
5. ANEXOS.....	55
5.1. Artigo Científico.....	55
5.2. Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal 017/2012.....	81

1. INTRODUÇÃO

Na prática clínica, a úlcera gástrica é considerada um dos transtornos mais comuns do trato gastrointestinal, que afeta aproximadamente 5-10% das pessoas durante a vida (Takayama et al., 2011; Sakat et al., 2012). Destaca-se como uma doença crônica e recorrente (Groenen et al., 2009), sendo um problema de saúde pública de relevância econômica mundial, pela sua extensa representação territorial, com alta incidência e dispendioso tratamento medicamentoso (Bucciarelli et al., 2010; Sánchez-Mendoza et al., 2011).

A etiologia da úlcera gástrica não é totalmente conhecida, porém sabe-se que ocorre devido a um desequilíbrio entre os fatores agressores e os citoprotetores da mucosa (Borrelli e Izzo, 2000; Donatini et al., 2009). Dentre os fatores citoprotetores destaca-se a secreção de bicarbonato, a secreção de muco, a barreira epitelial, os fatores de renovação celular e a produção de prostaglandinas (Dias et al., 2009; Orsi et al., 2012). E, entre os fatores agressivos destacam-se os hábitos alimentares inadequados, a ingestão excessiva de drogas antiinflamatórias não-esteroidais, o consumo de bebidas alcoólicas, o tabagismo, o estresse, a predisposição genética, a elevada secreção do ácido clorídrico, a pepsina, os sais biliares, o estresse oxidativo e a infecção pela bactéria *Helicobacter pylori* (Birdane et al., 2007).

O tratamento desta patologia é diversificado, sendo utilizados vários tipos de medicamentos como, por exemplo, as drogas anti-colinérgicas, os antagonistas de receptores H₂ da histamina, os antiácidos, os inibidores da bomba de prótons, entre outros (Vismaya et al., 2011). No entanto, existem inúmeros efeitos adversos e limitações causadas por estes medicamentos, como a utilização prolongada de antagonistas H₂ e inibidores da bomba de prótons que podem aumentar o risco de desenvolvimento de câncer (La Vecchia e Tavani, 2002; Raghunath et al., 2005; Arakawa et al., 2012), entre outros efeitos indesejáveis, como arritmia cardíaca, impotência sexual masculina, ginecomastia, alterações hematopoiéticas, náuseas, dores abdominais, prisão de ventre, flatulência, diarreia e cefaleia (Hoogerwerf e Pasricha, 2005).

Outro fator importante no que se refere ao uso de medicamentos antiulcerosos é o custo elevado, tornando-os menos acessível à população mais carente (Hiruma-Lima et al., 2006; Schroeter et al., 2008). Desta forma, percebe-se a necessidade de agentes antiulcerosos mais eficazes e seguros, com menos efeitos colaterais e baixo custo (Kumar et al., 2008; Sakat et al., 2012).

Neste contexto, plantas medicinais, assim como os medicamentos sintéticos, possuem grupos de compostos farmacologicamente ativos, sendo que o emprego terapêutico exige o conhecimento prévio destes compostos e de suas potencialidades terapêuticas (Karam et al., 2013). No caso dos distúrbios do trato gastrointestinal, os extratos vegetais estão entre os mais promissores no tratamento de úlceras gástricas (Bonacorsi et al., 2009; Donatini et al., 2009; Klein-Jr et al., 2010; Diniz et al., 2013; Viana et al., 2013; Caldas et al., 2014).

Distintas são as justificativas para a utilização da medicina natural no combate à úlcera gástrica, desde fatores culturais, até a facilidade em encontrá-las pela grande biodiversidade de espécies ou o baixo custo das mesmas (Twardowschy et al., 2007; Mota et al., 2008).

Com relação a esses aspectos, o sumo das folhas do bálsamo (*Sedum dendroideum* Moc et Sessé ex DC, *Crassulaceae*) é conhecido popularmente por possuir ação cicatrizante, além de ser uma planta ornamental (Lorenzi e Souza, 1995). Além disso, em diferentes culturas, como na medicina tradicional mexicana, o bálsamo é utilizado no tratamento de diabetes (Andrade-Cetto e Heinrich, 2005) e de doenças oculares e como contraceptivo (Silva-Torres et al., 2003). No Brasil, o sumo das folhas frescas é muito utilizado para tratar inflamações de pele, contusões e no tratamento de úlceras gastrintestinais (Carlini et al., 1970; Lorenzi e Souza, 1995; Duarte e Zaneti, 2002; Coelho de Souza et al., 2004), devido suas ações emoliente e cicatrizante, razão do seu nome popular.

Desta forma, este estudo teve como objetivo investigar os prováveis efeitos antiulcerogênicos do extrato hidroetanólico da folha da espécie *Sedum dendroideum* utilizando modelos de úlcera gástrica induzida em ratos *wistar*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O Sistema Digestório

O sistema digestório compreende a cavidade bucal, faringe, esôfago, estômago, intestino delgado e grosso, assim como suas glândulas secretoras e órgãos anexos. Dentre as funções do sistema digestório, pode-se mencionar a função de receber, digerir e absorver os nutrientes e eliminar os resíduos gerados durante o metabolismo, sendo que todos esses processos ocorrem mediante o controle dos sistemas nervoso e endócrino (Guyton e Hall, 2006; Merchant, 2007).

2.2. Anatomia Funcional do Estômago

O estômago é o principal órgão estudado nesta pesquisa, desta forma, será descrito suas características e aspectos anatômicos, funcionais, neurais e hormonais envolvidos na patologia de úlcera gástrica.

Anatomicamente o estômago (Figura 1) localiza-se na parte superior do abdome, à esquerda da linha média, exatamente abaixo do diafragma esquerdo (Spence, 1991; Fox, 2007). Definido como uma bolsa distensível, com um volume de 1.200 a 1.500 mL, mas com a capacidade para mais de 3.000 mL, pode ser dividido em cinco regiões anatômicas: a cárdia, o fundo, o corpo, o antro e o piloro (Constanzo, 2007; Kumar et al., 2008).

A entrada do estômago é chamada de junção gastroesofágica, a qual é circundada por um anel de músculo liso denominado esfíncter esofágico inferior, que sob contração, isola o estômago do esôfago. A cárdia equivale a uma região estreita em forma de cone, imediatamente distal à junção gastroesofágica. O fundo está situado na região superior e liga-se à junção esofagogástrica, enquanto o corpo corresponde à maior parte do órgão. O antro está situado na região proximal ao canal pilórico, onde a musculatura lisa circular da parede do piloro forma o esfíncter pilórico e controla a abertura entre o estômago e o intestino delgado (Dangelo e Fattini, 2007; Ganong, 2012).

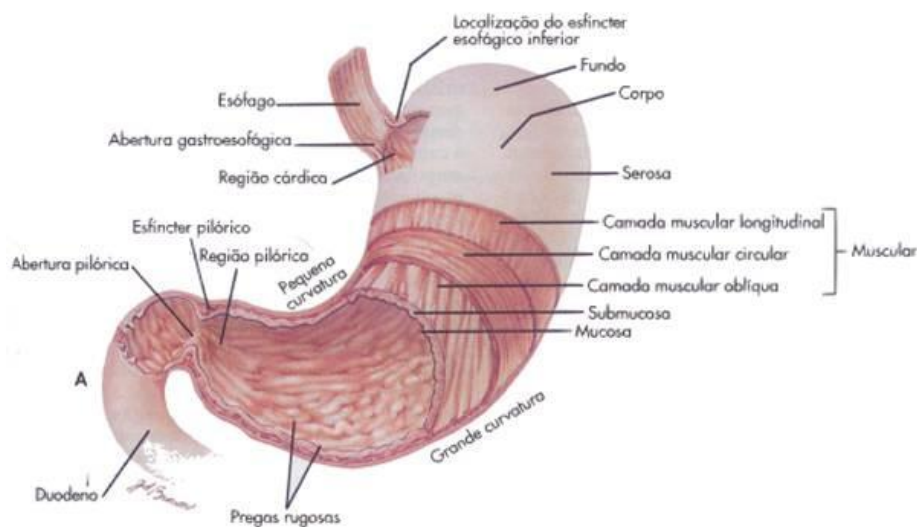


Figura 1: Anatomia funcional do estômago. Fonte: Enciclopédia britânica online. Disponível em <<http://www.britannica.com.br>> acesso em: 14 de jun de 2013.

2.3. Organização Histológica do Estômago

A organização histológica da parede do estômago é similar à do restante do tubo digestório, consistindo de três camadas designadas do interior para a periferia: mucosa gástrica, submucosa e muscular (Figura 1), esta última envolvida perifericamente pelo peritônio que constitui a camada serosa, contendo tecido conjuntivo frouxo, além de um mesotélio revestindo esse tecido (Kunze e Furness, 1999; Kierszenbaum, 2008).

Relativamente à camada muscular externa, a parede do estômago apresenta três camadas de fibras musculares lisas, sendo a mais profunda ou interna, designada camada oblíqua, constituída por fibras musculares colocadas obliquamente na parede do estômago; a camada intermédia, designada camada circular, constituída por fibras musculares colocadas circunferencialmente e a camada mais periférica correspondente à camada longitudinal, constituída por fibras musculares colocadas longitudinalmente. Neste aspecto, a parede do estômago difere do restante tubo digestório pela adição da camada oblíqua internamente às outras duas (Williams e Warwick, 1995; Junqueira e Carneiro, 2013).

A submucosa do estômago, tal como no restante do tubo digestório, consiste de uma camada de tecido conjuntivo contendo vasos sanguíneos e estruturas nervosas organizadas de forma a constituir o plexo nervoso muscular e o submucoso (Kessel, 2001; Kierszenbaum, 2008).

A constituição da mucosa gástrica, embora com características particulares, apresenta uma organização comum à mucosa do restante do tubo digestivo, por conseguinte, é constituída por um epitélio que reveste o lúmen do estômago suportado por uma camada de tecido conjuntivo frouxo, a lâmina própria, onde se encontram aglomerados de tecido linfóide. A separar a mucosa da submucosa está um fino estrato de fibras musculares lisas constituindo a camada muscular da mucosa (Young et al., 2007; Junqueira e Carneiro, 2013).

2.4. Mecanismos Celulares na Secreção Gástrica

A secreção ácida gástrica é produzida pelas células oxínticas, tipo de célula presente nas glândulas gástricas (Yao e Forte, 2003). A influência de alterações na função dessa célula na secreção gástrica tem sido considerada no desenvolvimento de drogas antiulcerogênicas (Pohle e Domschke, 2003; Levy et al., 2006).

As células parietais são as responsáveis pela secreção de ácido clorídrico (HCl) e de fator intrínseco (substância importante na absorção da vitamina B₁₂), enquanto que as células principais secretam pepsinogênio. Esse último, quando secretado no lúmen da mucosa gástrica, em condições de pH ácido (entre 1,8 a 3,5), converte-se em pepsina ativa, uma enzima importante na digestão de proteínas. As células mucosas superficiais secretam muco e bicarbonato (HCO³⁻), que juntos, formam uma película protetora sobre a mucosa (Guyton e Hall, 2006).

Funcionalmente, identificam-se três regiões distintas de mucosa: a região cárdica, situada logo abaixo da transição esôfago-gástrica; a região oxíntica (75 a 85% da superfície do estômago); e a região antropilórica (15 a 25%) (Dani, 2006; Junqueira e Carneiro, 2013). Na mucosa cárdica são encontradas, principalmente, células que produzem muco (Figura 2).

Desta forma, a mucosa gástrica é composta de diversas células epiteliais que compõem o empacotamento denso das glândulas tubulares, sendo dividida em duas regiões glandulares, denominadas de mucosa oxíntica e mucosa antral. As glândulas da mucosa antral apresentam os mesmos tipos celulares que as glândulas oxínticas, exceto pela ausência de células parietais e presença de células G produtoras de gastrina (Lloyd e Debas, 1994).

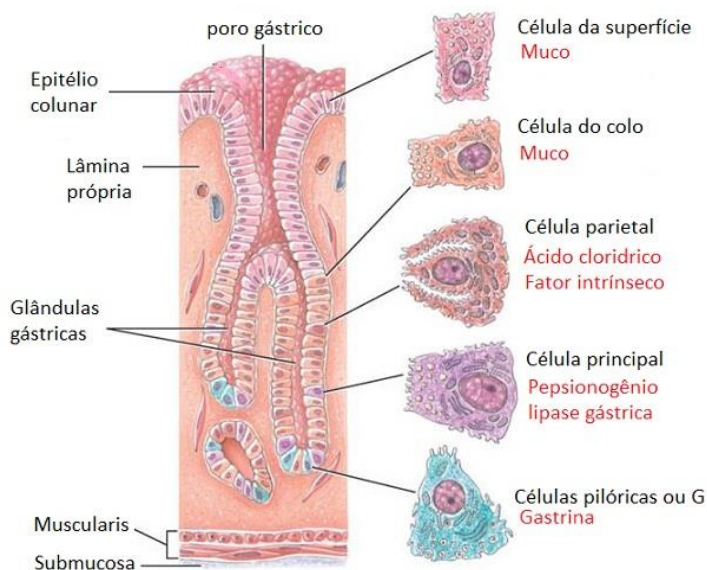


Figura 2: Células relacionadas à função gástrica. Fonte: Gastroenterologia, Semiologia Médica. Disponível em < <http://www.medicinageriatrica.com.br/> acesso em 23 jun de 2013.

Entretanto, a mucosa oxíntica, apresenta-se mais extensa, ocupando o corpo e o fundo, sendo o sítio da secreção de ácido clorídrico (HCl). É formada por glândulas oxínticas, cujo principal tipo celular é a célula parietal ou oxíntica (Aires, 2008).

A superfície luminal no colo glandular é também recoberta por uma camada de células produtoras de muco e bicarbonato que exercem função protetora da superfície quanto à exposição direta do ácido. As glândulas da mucosa pilórica se caracterizam pela presença de células G, produtoras de gastrina, além de apresentarem os mesmos tipos celulares das glândulas oxínticas, porém sem a presença de células parietais e principais (Dani e Castro, 1993; Jain et al., 2007; Junqueira e Carneiro, 2013).

2.5. Regulação da Secreção Gástrica

Um número significativo de estruturas celulares dentro do estômago regula a função secretora das células parietais estimulando ou inibindo a secreção gástrica por meio de mecanismo regulatório direto ou indireto (Douglas, 2006).

2.5.1 O Sistema Nervoso Entérico

A inervação do estômago pode ser extrínseca ou intrínseca. A inervação extrínseca é mediada por fibras parassimpáticas do nervo vago que terminam no plexo mioentérico da

parede do estômago; e a inervação intrínseca compreende o Sistema Nervoso Entérico (SNE) (Lacerda et al., 2004; Christensen et al., 2005; Guyton e Hall, 2006). Embora o SNE não dependa de inervação extrínseca, a estimulação dos sistemas parassimpático e simpático pode ativar ou inibir as funções gastrointestinais (Koeppen e Stanton, 2009; Tortora e Derrickson, 2010).

O SNE está presente em toda a extensão da parede do sistema digestório, e é formado por aproximadamente 100 milhões de neurônios, o equivalente ao total de neurônios presentes na medula espinhal. Está envolvido no controle da motilidade e secreção do sistema digestório (Ganong, 2012).

Os neurônios no interior dos plexos muscular e submucoso (que constituem o sistema nervoso entérico) secretam acetilcolina, noradrenalina, serotonina, purinas e óxido nítrico. O plexo entérico possui neurônios sensoriais que respondem a estímulos mecânicos e químicos (Levy et al., 2006).

Vários neurotransmissores estão envolvidos nas múltiplas ações do SNE, sendo que a acetilcolina e a noradrenalina são os mais conhecidos. O primeiro atua por meio de estímulos excitatórios no SNE e o segundo geralmente é inibitório (Guyton e Hall, 2006; Merchant, 2007).

2.5.2. A Secreção Gástrica

Uma das mais importantes funções do estômago é a produção de ácido. A secreção gástrica pode ter um pH tão baixo quanto 1. O ácido gástrico facilita a digestão de proteínas e a absorção de ferro, cálcio e vitamina B₁₂. Ele também impede a entrada de bactérias no organismo (Silbernagl e Despopoulos, 2003; Schubert e Peura, 2008).

O suco ácido gástrico é uma mistura das secreções das células epiteliais e glândulas gástricas e compreende o ácido clorídrico (HCl), pepsina, fator intrínseco, muco, bicarbonato, água e sais (Berne et al., 2004).

O estômago secreta aproximadamente 200 mL de suco gástrico diariamente, e tem a função de armazenar e misturar os alimentos com tais secreções. A regulação da secreção de ácido pelas células parietais é importante na úlcera péptica e constitui, portanto, um alvo específico para a ação de fármacos (Rang et al., 2004; Douglas, 2006).

2.5.2.1. Estimulantes da Secreção Gástrica

A secreção de ácido gástrico é um processo contínuo e complexo controlado por mecanismos neurais (acetilcolina), hormonais ou endócrinos (gastrina) e parácrinos (histamina).

A acetilcolina (ACh), a gastrina e a histamina, são as três substâncias químicas endógenas responsáveis por estimular a célula parietal a secretar ácido clorídrico, que atuam respectivamente sobre os receptores muscarínicos (M_3), colescitocinina-pancreozimina (CCKB) e histamina (H_2), localizados na membrana basolateral da célula parietal. Existem duas vias principais de sinalização na célula parietal: via dependente da adenosina monofosfato cíclico (AMPC) e a via dependente do Ca^{+2} (Douglas, 2006).

A acetilcolina, liberada de neurônios pós-ganglionares do nervo vago interage com receptores muscarínicos M_3 das células parietais, estimulando diretamente a secreção do ácido. Em adição, a acetilcolina também interage com receptores muscarínicos M_1 das células parácrinas, mastócitos e células enterocromafins (ECL) promovendo a liberação de histamina, que por sua vez estimula diretamente a célula parietal, por meio da interação com receptores H_2 (Levy et al., 2006). Por outro lado, a histamina pode inibir indiretamente a secreção ácida ao interagir com receptores H_3 presentes nas células D secretoras de somatostatina, o principal inibidor da secreção ácida gástrica (Pommier et al., 2003; Schubert e Peura, 2008).

Enquanto a histamina utiliza a primeira via, a gastrina e a ACh exercem seus efeitos por meio da via dependente do Ca^{+2} . A via dependente de AMPC resulta na fosforilação das proteínas efetoras da célula parietal e a via dependente do Ca^{+2} leva à um aumento de Ca^{+2} citosólico. Ambas as vias ativam a bomba protônica de hidrogênio e potássio (H^+ , K^+ ATPase) localizadas em túbulos ou vesículas citoplasmáticas (Hoogerwerf e Pasricha, 2005).

A bomba de prótons (enzima $H^+ / K^+ / ATPase$) é a responsável pela secreção ácida gástrica. O íon H^+ é secretado para a luz gástrica em troca de K^+ através da $H^+ / K^+ ATPase$. Os prótons para a formação do ácido são gerados nos canalículos intracelulares pela ação da anidrase carbônica. O Cl^- é transportado ativamente para dentro dos canalículos que se comunicam com a luz das glândulas gástricas e conseqüentemente com a luz do estômago. O K^+ acompanha o Cl^- , sendo trocado pelo H^+ intracelular, com gasto energético fornecido pela catalisação do ATP (Figura 3). O bicarbonato formado a partir de CO_2 e H_2O pela anidrase carbônica dissocia-se para formar H^+ e HCO_3^- , o qual é trocado por Cl^- na membrana apical.

Nas células parietais em repouso, a bomba de H^+/K^+ /ATPase é contida em tubulovesículas citoplasmáticas (Schubert e Peura, 2008).

Quando os receptores das células parietais são estimulados por seus agonistas, são gerados segundos mensageiros, que por meio de cascatas de fosforilação farão com que as tubulovesículas contendo as enzimas se fundam com a membrana apical, permitindo que a enzima transmembrânica se torne ativa (Tortora e Derrickson, 2010).

Em consequência dessa ação neuronal, o hormônio gastrina, sintetizado e estocado nas células G, tem sua secreção para a corrente sanguínea estimulada pelos aminoácidos provenientes dos alimentos. A gastrina interage com receptores da colecistocinina (CCK_2) nas células parietais e estimula diretamente a produção de ácido. Além disso, pode atuar indiretamente por interagir com receptores da CCK_2 presentes nas células do tipo enterocromafim (ECL), resultando na liberação de histamina (Koeppen e Stanton, 2009; Ganong, 2012).

Foram identificados mais de 15 tipos de células secretoras de hormônios na mucosa do estômago, intestino delgado e cólon (Ganong, 2012).

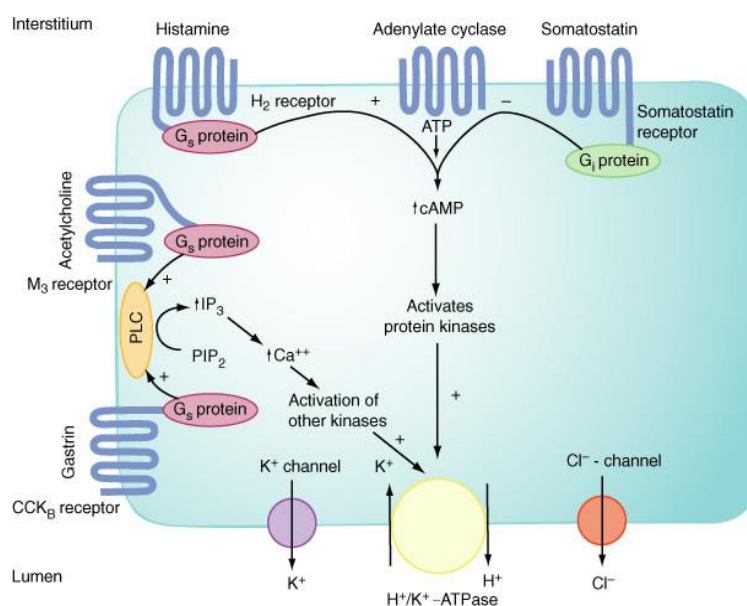


Figura 3. São apresentados os eventos de sinalização intracelular dentro da célula parietal no estômago (Ganong, 2012).

Dentre os outros hormônios atuantes no sistema gastrointestinal, onde muitos destes não têm suas funções totalmente definidas, embora seus efeitos fisiológicos pareçam ser relativamente distintos, cita-se a colecistocinina (CCK), substância P, polipeptídeo intestinal

vasoativo (VIP), secretina, grelina, motilina, guanilina, neurotensina e bombesina (Guyton e Hall, 2006; Ganong, 2012).

2.5.2.2. Inibidores da Secreção Gástrica

Além dos fatores agonistas, existe um mediador químico com função parácrina, que inibe a secreção ácida do estômago. Este mediador é a somatostatina produzida por células entero-endócrinas designadas células D existentes nas glândulas fúndicas do fundo e do antro pilórico do estômago (Sachs et al., 1997; Sawada e Dickinson, 1997; Samuelson e Hinkle, 2003).

A somatostatina liga-se a receptores S_2 existentes na membrana plasmática das células G inibindo a liberação de gastrina, nas células ECL inibindo a liberação de histamina e age nas próprias células parietais. O resultado de forma direta ou indireta é a diminuição da secreção ácida pelas células parietais (Sachs et al., 1997).

A liberação de somatostatina é inibida pela acetilcolina, provavelmente pela ligação desta substância a receptores muscarínicos M_2 ou M_4 na membrana plasmática das células D (Sachs et al., 1997).

Outros inibidores são as prostaglandinas. Todas as células gástricas são produtoras de prostaglandinas, sendo as mais atuantes PGE_2 , $PGF_{2\alpha}$ e PGI_2 . Nas células parietais existem receptores para PGE_2 ligados a proteínas G inibidora e a fixação dessas prostaglandinas a esse receptor resulta num efeito oposto aquele que acontece via receptor H_2 , diminuindo a secreção gástrica (Douglas, 2006).

2.6. Fatores Protetores da Mucosa Gástrica

O estômago é protegido por uma camada da mucosa que previne a agressão do epitélio gástrico e das camadas mais profundas da parede do estômago por secreções gástricas e outros agentes destrutivos (Porth e Kunert, 2004). A falha nesta barreira de proteção é uma das causas da ulceração péptica (Tortora e Derrickson, 2010).

Dentre os principais fatores protetores da mucosa gástrica destaca-se:

2.6.1. O muco

A mucosa gástrica produz fatores de digestão como ácido gástrico e enzimas proteolíticas. Para manter a integridade da mucosa, um sistema de defesa efetivo é necessário. A primeira linha de defesa contra o ácido é a barreira do muco que vem sendo investigada por vários grupos de estudo (Phillipson et al., 2002).

O muco contém grandes quantidades de mucoproteínas resistente a praticamente todas as secreções digestivas (Guyton e Hall, 2002), é anfotérico, formado de uma camada de gel de muco, bicarbonato e fosfolípides surfactantes (Laine et al., 2008). É composto de aproximadamente 95% de água e 5% de glicoproteínas, denominadas mucinas (Repetto e Liesuy, 2002). Devido à sua aderência e estabilidade, é capaz de reter o bicarbonato secretado pelas células epiteliais superficiais do estômago e duodeno, mantendo um microambiente neutro (pH ~ 7,0), que previne a penetração de pepsina e a digestão proteolítica. Estimulam a produção do muco, os hormônios gastrintestinais gastrina e secretina, a prostaglandina E₂ (PGE₂) e agentes colinérgicos (Laine et al., 2008). Outro elemento importante é o fator trefoil de baixa massa molecular da família de peptídeos (TFF), que é cosecretado com o gel de muco. Essa substância integra as vesículas secretoras de muco e participa da assimilação intracelular e/ou empacotamento das mucinas, sendo uma barreira de defesa entre o conteúdo luminal e as células da mucosa intestinal (Newton et al., 2000; Jiang et al., 2011).

O muco também tem importante papel na prevenção da agressão mecânica ao epitélio, e fornece um microambiente sobre a área lesionada, que é rapidamente restituída (Wallace, 2001), atuando principalmente como barreira física.

2.6.2. O epitélio

Depois da camada de muco, a próxima linha de defesa da mucosa é constituída pela camada contínua de células epiteliais, funcionando como barreira ao ácido gástrico e a outros agressores. A grande capacidade de proliferação do epitélio lhe confere habilidade de reparação ao dano epitelial e contribui para a resistência da mucosa gástrica às lesões (Wallace, 2001). Essas células epiteliais são de natureza hidrofóbica devido à presença de fosfolípides. Além disso, são intimamente interligadas por junções, o que permite a formação

de uma barreira de defesa. As células epiteliais secretam muco, bicarbonato, prostaglandinas (PGs), fatores trefoil (TFFs) e heat shock proteins. As últimas são geradas em resposta ao estresse, como aumento de temperatura, estresse oxidativo e agentes citotóxicos, prevenindo a desnaturação proteica e o dano celular. Os fatores trefoil (TFFs) regulam a reepitelização e exercem efeito protetor na mucosa gástrica (Laine et al., 2008; Jiang et al., 2011).

Outra característica que contribui para a manutenção da integridade da mucosagástrica é o fato das células progenitoras estarem em contínua renovação. A proliferação dessas células é controlada por fatores de crescimento. O principal receptor de fator de crescimento expresso pelas células progenitoras gástricas é o receptor de fator de crescimento epidermal (EGF) (Laine et al., 2008).

2.6.3. O fluxo sanguíneo

Contribui para a proteção gástrica por fornecer à mucosa: oxigênio, bicarbonato, substâncias nutritivas e por remover o dióxido de carbono e íons hidrogênio limitando agentes tóxicos do lúmen gástrico (Sorbye e Svanes, 1994).

Os microvasos das células epiteliais fornecem potentes vasodilatadores como o óxido nítrico (NO) e prostaciclina (PGI₂), que protegem a mucosa de lesões e se opõem ao dano causado por vasoconstritores como leucotrieno C₄, tromboxano A₂ e endotelina. A PGI₂ e o NO mantêm a viabilidade das células endoteliais e previnem a aderência de plaquetas e leucócitos que poderiam comprometer a microcirculação gástrica. O sulfeto de hidrogênio (H₂S) é outro composto endógeno que exerce efeito protetor da mucosa similar ao NO, o qual reduz a expressão de fator de necrose tumoral (TNF), diminui a aderência de leucócitos e inibe lesões induzidas por anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (Laine et al., 2008).

2.6.4. As prostaglandinas

Apresentam efeito na motilidade, secreção e citoproteção do trato gastrointestinal. A secreção do muco e bicarbonato, a vasodilatação e a rápida regeneração epitelial são alguns dos componentes de defesa da mucosa que são regulados pelas prostaglandinas (Wallace e Granger, 1996).

As prostaglandinas (PGs) mantêm a integridade da mucosa gástrica pela inibição da secreção ácida, estimulação da secreção de muco e bicarbonato, inibição da ativação de mastócitos, diminuição da aderência leucocitária ao endotélio vascular, inibição da apoptose, aumento ou manutenção do fluxo sanguíneo da mucosa, prevenindo a isquemia (Atay et al., 2000; Laine et al., 2008; Wallace, 2008).

A enzima ciclooxigenase (COX) converte o ácido araquidônico em prostaglandina G_2 pela inserção de duas moléculas de oxigênio e então reduzindo este intermediário a prostaglandina H_2 (PGH_2). A PGH_2 é um metabólito instável que é convertido em outras espécies de prostaglandinas, incluindo prostaglandina E_2 , prostaciclina e tromboxanos (Atay et al., 2000). Está bem estabelecido que exista pelo menos duas isoformas distintas da COX, denominadas COX-1 e COX-2. A COX-1 é expressa constitutivamente na maioria dos tecidos (Peskar, 2005) e esta isoforma provavelmente promove a produção de PG protetora da mucosa gástrica e possui um papel importante na manutenção da homeostase (Rodríguez-Téllez et al., 2001). Ao contrário, a expressão da COX-2 geralmente é baixa sob condições basais. O aumento da expressão da COX-2 ocorre em certas condições patofisiológicas como a inflamação, dano tecidual e transformação maligna (Peskar, 2005).

Muitas prostaglandinas (PG) incluindo PGE_2 e PGI_2 previnem a formação da úlcera frente a agentes ulcerogênicos e necrotizantes por um mecanismo adicional à inibição da secreção gástrica, chamado de citoproteção gástrica (Takeuchi et al., 2001).

2.6.5. O óxido nítrico – NO

O óxido nítrico (NO) apresenta grande importância na perfusão e regulação vascular por promover a vasodilatação pela sinalização da célula muscular lisa via cGMP (Shah et al., 2004) e, destaca-se como um mediador fundamental nos mecanismos de defesa gástrica, devido a sua habilidade de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica e a produção de muco e de inibir a aderência de neutrófilos às células endoteliais (Coruzzi et al., 2000). A produção constitutiva de NO é importante para manter a barreira protetora da mucosa gastrintestinal, devido à sua capacidade de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa e estabilizar a influência dos mastócitos (Alican e Tubes, 1996), os quais são células capazes de liberar uma grande quantidade de mediadores inflamatórios e citocinas (Hagaboam et al., 1993).

O óxido nítrico (NO), produzido principalmente pelas células endoteliais do tecido lesionado, possui potente ação vasodilatadora o que leva a um aumento da permeabilidade vascular. Além disso, atua como regulador do recrutamento de leucócitos e exerce ação citotóxica contra microorganismos. É sintetizado pela NO sintase (NOS), enzima presente em três isoformas, sendo a forma indutível (iNOS), a envolvida nas reações inflamatórias (Cotran et al., 2000^a).

2.6.6. Compostos Sulfidrílicos

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

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

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

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

2.7. Úlcera Gástrica - Epidemiologia e Patogênese

Lesões na mucosa gástrica podem ocorrer quando fatores nocivos prevalecem aos mecanismos de defesa que mantêm a mucosa gástrica intacta ou quando esses mecanismos estão debilitados (Sivri, 2004; Malfertheiner et al., 2009).

A mucosa gástrica pode sofrer agressões de agentes ulcerosos e necrotizantes como o ácido acetilsalicílico, indometacina, álcool e isquêmicos, que ampliam características histopatológicas, alterações estruturais e funcionais que resultam em lesões no estômago (Scheiman e Fendrick, 2007; Popovic et al., 2010).

Entre os fatores agressores, pesquisas recentes apontam a infecção pela bactéria *Helicobacter pylori*, estresse emocional, o fumo, álcool, deficiências nutricionais, fatores genéticos e, principalmente, uso contínuo ou indiscriminado de AINEs, como os principais responsáveis para o desenvolvimento da úlcera péptica (Jain et al., 2007; Alqasoumi et al., 2009; Musumba et al., 2009; Kang et al., 2012).

Milani e Calabro (2001) descrevem a doença como uma lesão da mucosa gástrica profunda, uma erosão de área circunscrita de membrana da parede da mucosa do estômago, com a destruição dos componentes dos tecidos epiteliais e conjuntivos, incluindo miofibroblastos subepiteliais, células musculares lisas, vasos e nervos (Figura 4).

As úlceras gástricas são caracterizadas pela presença de lesão da mucosa gástrica que se estende através da mucosa, submucosa, camadas musculares (longitudinal, circular e oblíqua) e serosa, podendo alcançar o peritônio visceral (Al Batran et al., 2013).

Mesmo com a redução da incidência de úlcera gástrica verificada nas últimas décadas (Sonnenberg, 2007), a mesma ainda permanece como uma das doenças com maior prevalência em todo mundo, sendo um problema de saúde pública na sociedade moderna e algumas de suas complicações, como sangramento e perfuração, ainda são causa importante de morbimortalidade (Sung et al., 2009).

A incidência mundial da doença úlcera gástrica é estimada em 1.500 a 3.000 indivíduos e 7 a 10 casos de perfuração gástrica por 100.000 habitantes por ano (Sonnenberg, 2007; Marques et al., 2011), com prevalência em adultos em torno de 5% a 10% da população mundial, com chance de cura superior a 95%, e reincidência de 60% a 80% em até um ano após a cura e quase 100% até dois anos. Estima-se que 30 a 60% dos doentes com úlcera gástrica estão infectados com a bactéria *Helicobacter pylori* (Fan et al., 2005; Kasper et al., 2008; Ramesh et al., 2012).

A faixa etária predominante da doença úlcera gástrica é em paciente com mais de 50 anos (Komen et al, 2008; Casali et al., 2012).

Aproximadamente 25 milhões de americanos são afetados pela doença de úlcera gástrica, com a prevalência de 12% em homens e 10% nas mulheres. Os custos anuais diretos e indiretos associados com essa patologia nos Estados Unidos são estimados em mais de US\$ 9 bilhões (Ramesh et al., 2012).

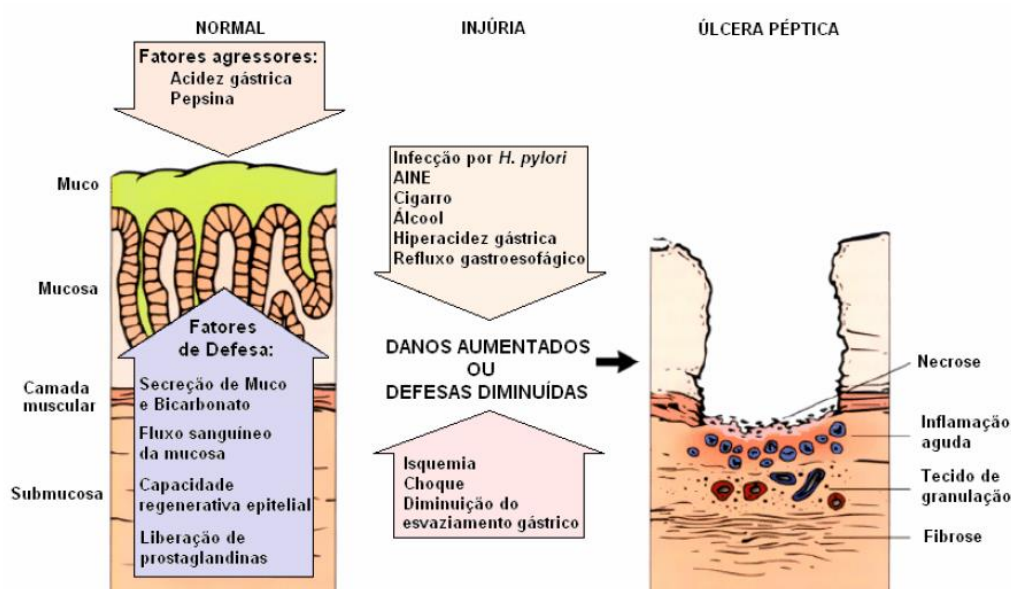


Figura 4: Diagrama das causas da úlcera gástrica e dos mecanismos de defesa contra ela, mostrando as camadas de necrose, inflamação, tecido de granulação e cicatrização, seguindo da superfície luminal, no topo, até a camada muscular, embaixo. Fonte: Cotran et al., 2006^b.

Segundo a Federação Brasileira de Gastroenterologia (2012), no Brasil, apesar de ser uma doença extremamente frequente, a incidência de úlcera gástrica tem sido pouco estudada e está correlacionada a alta prevalência de infecção por *H. pylori*.

No Brasil, 33,4% dos pacientes com úlcera gástrica apresentam complicações de perfuração gástrica em 2% a 5% dos casos diagnosticados (Marques et al., 2011). A prevalência da doença é de 6,6% em homens e 9,9% em mulheres, com elevada incidência em idosos. Os custos anuais diretos e indiretos relacionados com a úlcera gástrica são previstos em mais de 686 mil reais e uma taxa de mortalidade de 7,89% dos casos diagnosticados (DataSus, 2013).

O tratamento de úlcera gástrica e o acontecimento das recidivas ainda é um sério problema de saúde pública (Komen et al, 2008). Destaca-se entre os distúrbios gastrointestinais como a patologia mais comum na prática clínica (Bafna e Balaraman, 2004).

Além disso, no Brasil, o tratamento de úlceras gástricas é caro, não sendo acessível à grande parte da população (Hiruma-Lima et al., 2006).

Contudo, o que mais preocupa os estudiosos não é apenas o número de casos, mas a gravidade da doença que apresenta índices elevados de mortalidade e morbidade, com reincidências frequentes (Lindell et al., 1994; Hernández et al., 2000; Saul et al., 2008; Groenen et al., 2009).

Desta forma, as úlceras gástricas tendem a resultar de mecanismos patogênicos diferentes, podendo ser únicas ou múltiplas, formando-se quando ocorre um desequilíbrio entre os fatores agressivos da membrana mucosa e os fatores protetores da mucosa gástrica (Glavin e Szabo, 1992; Wallace e Granger, 1996; Klein-Jr et al., 2010).

2.8. Tratamento Farmacológico da Úlcera Gástrica

Os tratamentos da úlcera gástrica podem estar direcionados tanto à redução dos agentes agressores, como ao fortalecimento dos mecanismos de defesa da mucosa gastrintestinal (Jain et al., 2007).

Vários agentes seletivos para a ciclo-oxigenase-2 (COX2), têm sido desenvolvidos com o fim de minimizar os efeitos adversos no sistema digestório, mas estas drogas estão relacionadas com a diminuição da concentração de prostaglandinas, que são vitais para o processo de manutenção da integridade da túnica mucosa e cicatrização da úlcera gástrica (Berenguer et al., 2002; Brunton et al., 2006).

Muitas doenças gastrintestinais ainda são pouco responsivas às terapias e, mesmo nos casos em que existe grande variedade de fármacos efetivos, ainda há espaço para aprimoramento e pesquisa (Wallace e Ferraz, 2010). As estratégias e agentes terapêuticos atualmente utilizados incluem:

2.8.1. Antagonistas de receptores H_2

Entre os antagonistas de receptores H_2 cita-se: cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina, que agem competindo com a histamina pela ligação com o receptor H_2 , contribuindo para a diminuição da secreção ácida. Recentemente, essa classe de fármacos vem sendo substituída pelos inibidores da bomba de prótons, contudo devido ao seu custo mais acessível, ainda é utilizada. Embora relativamente seguros, os efeitos adversos mais comumente relatados são dermatites, fotossensibilidade e alteração de funções hepáticas, como o aumento das concentrações de alanina aminotransferase (Närhi et al., 2005).

2.8.2. Inibidores da bomba de prótons (H^+/K^+ APTase) - IBPs

Os fármacos incluem omeprazol, lansoprazol, rabeprazol, esomeprazol e pantoprazol. Atualmente estes são os fármacos de primeira escolha. Após a sua absorção se difundem até as células parietais onde se acumulam nos canalículos secretores de ácido (Brunton et al., 2006). Devido ao seu mecanismo de ação, diminuem a secreção de HCl pela mucosa gástrica. Em casos de secreção ácida aumentada, a mesma retorna ao nível normal com a administração desses inibidores irreversíveis da bomba de prótons (Schubert e Peura 2008), que podem ser associados ou não a antimicrobianos (depende da presença de *H. pylori*).

Embora sejam considerados relativamente seguros (Tolia e Boyer, 2008; Thomson et al., 2010), os fármacos antissecretores podem apresentar como inconveniente a supressão ácida extrema. A baixa concentração de ácido pode desencadear infecções entéricas como febre tifoide, cólera e disenteria (Jain et al., 2007).

Alguns estudos ainda sugerem que a hipoacidez, associada ao uso prolongado de IBPs, pode aumentar o risco de fraturas ósseas em pacientes idosos com baixo consumo de cálcio (Yu et al., 2008), bem como reduzir a absorção de ferro em aproximadamente 50%, além de retardar a resposta clínica ao suplemento de ferro (Ramos, 2009). Este efeito ocorre porque o ácido gástrico facilita a dissociação dos sais de ferro dos alimentos e também deixa o ferro mais solúvel, o que permite a formação de complexos com ascorbato, açúcares e aminas, que posteriormente facilitam sua absorção no duodeno (Reis, 2004; Katzung, 2005).

Também são descritos como efeitos adversos do uso prolongado, a hipergastrinemia, aumento da hiperplasia de pólipos gástricos e adenocarcinoma em pacientes susceptíveis, o

efeito “rebote” na secreção ácida quando o tratamento é interrompido (Mccarthy, 2010), a osteoporose, a pneumonia, a nefrite intersticial aguda e a redução da absorção da vitamina B12 (Oh, 2011).

2.8.3. Antiácidos

São fármacos utilizados de forma a aumentar as defesas da mucosa, para aliviar a pirose e o desconforto abdominal. Neutralizam o ácido secretado, e são rapidamente absorvidos devido a alta solubilidade em água (Toneto et al., 2011).

Podem ser utilizados de forma isolada (hidróxido de alumínio, hidróxido de magnésio, magaldrato - hidróxido de alumínio e magnésio), em forma de misturas de antiácidos ou associados a outros fármacos. Apesar de serem efetivos e de baixo custo, podem reduzir a biodisponibilidade oral de um grande número de fármacos e de minerais presentes em suplementos alimentares (Srinivas, 2009; Taylor, 2010).

Os efeitos adversos comuns incluem náusea, distensão abdominal, flatulência, diarreia e constipação (Jain et al., 2007).

2.8.4. Análogos de Prostaglandinas

Tem-se como exemplo o misoprostol, análogo sintético da PGE₁. Atua protegendo a mucosa gástrica por meio de efeitos que incluem estimulação de secreção de muco e bicarbonato e aumento do fluxo sanguíneo no estômago (Brunton et al., 2006). O misoprostol aumenta a produção de muco no estômago, contudo provoca também um aumento acentuado na contração de músculos lisos, principalmente no útero, o que culminou com vários abortos provocados pela sua utilização, e por isso a sua retirada de mercado e restrição de uso. Além disso, esse fármaco apresenta efeitos adversos como diarreia e cólicas abdominais (Jain et al., 2007).

2.9. Modelos de Indução da Úlcera Gástrica em Animais

Mesmo com o progresso de métodos alternativos (estudos in vitro, cultura de células, softwares etc.), os modelos experimentais em animais ainda se apresentam como

opção mais vantajosa por possibilitarem o fornecimento de informações sobre o organismo como um todo, o que não é conseguido com outros métodos (Heywood, 1987; Ribeiro et al., 1995; Salén, 1995; Snitkoff, 2004; Ferreira, 2013).

Para avaliar a atividade antiulcerogênica dos extratos de plantas medicinais e direcionar futuros estudos com os constituintes químicos, foram escolhidos modelos experimentais de indução de úlceras gástricas, com base em fatores etiológicos da doença no homem, como estresse, drogas anti-inflamatórias não esteroidais e o álcool (Ferrazoli, 2008).

Cada modelo experimental apresenta os seus respectivos grupos: controle positivo (cimetidina, lansoprazol ou carbenoxolona) e negativo (salina), dependendo da especificidade de cada modelo, além dos grupos de estudo que normalmente envolvem o teste de diferentes doses de extrato, com o objetivo de encontrar a mais efetiva. Como forma de reduzir o número de grupos de estudo, a partir da definição da dose mais efetiva nos modelos agudos, opta-se pelo uso de apenas um grupo de estudo (dose mais efetiva) no modelo de úlcera crônica (Ferrazoli, 2008; Ferreira 2013).

A formação de lesões ulcerativas em modelos experimentais, assim como as ocorrentes em humanos, envolve a explicação clássica de que elas são provocadas por um desequilíbrio entre os fatores protetores e lesivos da mucosa gástrica (Maity et al., 2008).

Entre os estudos com modelos experimentais de úlcera gástrica, nosso grupo de pesquisa realizou investigações com as espécies: 1) *Croton urucurana Baillon bark* (Sangra d' água), apresentando efeito gastroprotetor agudo e crônico, sem sinais de toxicidade e envolvendo os compostos sulfidrílicos, aumentando o muco e reduzindo a acidez gástrica (Wolff Cordeiro et al., 2012); 2) Semente de *Carica papaya Linn* (mamão), com atividade gastroprotetora em relação ao controle negativo (solução salina), em todos os modelos de estudo, sem sinais de toxicidade e dependente de compostos sulfidrílicos (Pinto et al., 2013).

Com relação à atividade gastroprotetora, muitas plantas medicinais têm sido estudadas no mundo inteiro (Abdulla et al., 2011; Wasman, 2011). No Brasil, diversos estudos têm demonstrado efeito antiulcerogênico e cicatrizante gástrico de plantas medicinais em experimentos pré-clínicos (Brasil, 2006).

Ainda, é importante citar que os artigos científicos e dissertações defendidas em Programas de Pós-Graduação do Brasil, tratam de modelos de úlcera gástrica em animais, demonstrando efeito gastroprotetor em grande número de espécies vegetais utilizadas no

tratamento de diferentes afecções, especialmente transtornos gastrintestinais, como gastrite e úlceras gástricas (Caldas et al., 2011; Diniz et al., 2013; Viana et al., 2013).

Inclusive, o uso de algumas dessas plantas para tratamento de úlcera gástrica foram regulamentadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) através da RDC n.º. 10 (MS - D.O.U., 2010). Dentre elas estão: a) *Arctium lappa*, que apresentou atividade gastroproterá e acelerou a cicatrização de úlcera através da inibição da secreção ácida gástrica e do estresse oxidativo (Santos et al., 2008; Silva et al., 2013); b) *Baccharis trimera*, que protegeu a mucosa gástrica contra lesões gástricas e inibiu a secreção ácida gástrica (Dias et al., 2009; Biondo et al., 2011); e c) *Maytenus ilicifolia*, que apresentou efeito antiulcerogênico e também inibiu a secreção ácida gástrica (Jorge et al., 2004^b; Baggio et al., 2007). Esta última também foi incluída na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais – Rename/2012 e é disponibilizada no SUS por meio do Componente Básico da Assistência Farmacêutica através da Portaria MS/GM nº 533 de 2012 (MS – D.O.U., 2012).

Recentemente, a Anvisa aprovou o primeiro fitomedicamento brasileiro (Kios da Hebron®) à base de uma planta brasileira (*Schinus terebinthifolius*), indicado para o tratamento da gastrite. A planta demonstrou evidências científicas em relação à cicatrização da mucosa gastrointestinal, além de atividade anti-inflamatória e antimicrobiana. Além disso, um grande número de medicamentos feitos de produtos naturais tem sido aprovado nos últimos anos pelo FDA (Food and Drug Administration) (Kinghorn et al., 2011).

Para obter-se resultados que garantam a reprodução desses métodos e o uso em propostas avançadas de estudos com ensaios terapêuticos e clínicos, é que se propõe neste estudo mais de um modelo experimental de úlcera gástrica e a investigação de alguns de seus mecanismos de ação.

Com isso os estudos que mantêm esta linha de pesquisa, seguem os modelos de úlcera descritos neste trabalho, muitas vezes acrescentados de outras análises proporcionando maior segurança aos resultados encontrados.

2.9.1. Modelo de Indução por Etanol

O etanol e o etanol acidificado estão entre os agentes mais amplamente utilizados em modelos experimentais para a avaliação da atividade antiulcerativa em ratos (Robert et al., 1979; Mizui e Douteuchi, 1983).

Sua ação causa necrose das células superficiais da mucosa gástrica por precipitação dos componentes citoplasmáticos, interrompendo a função das membranas das células mucosas, com a participação e ativação de mediadores vasoativos, tais como os leucotrienos C₄ (LTC₄) e histamina (Jamal et al., 2006). Estes mediadores causam nas membranas submucosas a contração com uma subsequente interrupção do fluxo de sangue da microcirculação na membrana mucosa, com a formação de edema, que pode contribuir para o aumento de lesões neste modelo experimental. (Konturek et al., 1992; Wallace, 2001).

O etanol induz a solubilização dos constituintes da mucosa do estômago, aumenta o fluxo de sódio e potássio no lúmen, aumenta a produção de pepsina, deixando a membrana mucosa desprotegida e levando a uma lesão tecidual (Robert et al., 1979).

A administração de etanol tem sido relatada como causadora de distúrbios na secreção gástrica, lesão da mucosa, alterações na permeabilidade, depleção de muco gástrico e produção de radicais livres (Salim, 1990). Durante o metabolismo do etanol ocorre a liberação de superóxido e radicais livres, hidroperóxidos envolvidos no mecanismo de ulceração aguda e crônica na mucosa gástrica (Pihan et al., 1987).

2.9.2. Modelo Induzido pela Indometacina – AINEs

Anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), tais como a indometacina e a aspirina, são amplamente prescritos na prática clínica porque eles apresentam excelente eficácia no tratamento da dor, febre e inflamação através da supressão da síntese de prostaglandinas (PGs) a partir do ácido araquidônico, resultante da inibição da ciclooxigenase (COX) (Simmons e Botting, 2004).

No entanto, o uso de AINEs está associado a riscos significativos de efeitos adversos no trato gastrointestinal, tais como a erosão da mucosa gástrica, ulceração, sangramento e perfurações (Wolfe e Soll, 1988; Singh et al., 1996). Lesões agudas gastrointestinais estão entre os efeitos colaterais mais frequentes e graves associados com AINES convencionais. O risco de perfuração e ulceração gástrica apresenta incidência 3 a 4 vezes maior em usuários destes compostos (Buttgereit et al., 2001).

São efeitos secundários ao uso de AINEs, a diminuição da produção de PGs intrínsecas na mucosa gástrica, a produção aumentada de citocinas pró-inflamatórias, o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, da peroxidação de lipídios e da infiltração de

neutrófilos na mucosa, induzindo a lesão gástrica. Tais efeitos secundários limitam consideravelmente o uso de AINEs pelos seres humanos (Wallace, 1990; Yoshikawa et al., 1993).

A indometacina tem mostrado produzir maior dano gástrico em ratos, quando comparado com outros AINEs (Takeuchi et al., 2005). Por esta razão, torna-se a droga de escolha para induzir úlceras em modelos animais.

Neste contexto, a indometacina tem ação agressiva ao estômago, na sua maior parte envolvendo a mucosa glandular (Bhargava et al., 1973; Evbuonwa e Bolarinwa, 1990; Nwafor et al., 1996), pela inibição da enzima prostaglandina sintetase, por meio da via da ciclooxigenase (Rainsford, 1987; Whittle, 2003).

2.9.3. Modelo de Indução por Ácido Acético

Todos os modelos até aqui empregados na avaliação da atividade antiúlcera causam erosões na mucosa, porém estas erosões são diferentes quando comparadas histologicamente com a úlcera gástrica crônica humana (Bonamin et al., 2011). O modelo ideal e que reproduz com confiabilidade e realidade a úlcera gástrica é o ensaio produzido por Takagi et al. (1969), o qual corresponde a aplicação de uma injeção contendo ácido acético na camada subserosa da parede externa do estômago, provocando desta forma uma lesão profunda e necrótica, similar a úlcera crônica humana (Okabe e Amagase, 2005).

A lesão por ácido acético ocorre por modificações de múltiplos fatores incluindo alterações nos níveis de prostaglandinas, de fatores de crescimento, óxido nítrico e citocinas, além de mudanças no padrão de aderência do muco e alterações na microcirculação (Brzozowski et al., 2005). A cicatrização da úlcera também é um processo complexo, que envolve migração e proliferação celular, replicação de células epiteliais junto à margem da úlcera para restabelecer a arquitetura glandular e angiogênese no tecido de granulação na base da úlcera (Tarnawski, 2012).

2.10. Plantas Medicinais para Prevenção, Tratamento e Cura de Úlcera Gástrica

A utilização de plantas medicinais na prática médica data de 2500 anos atrás. Na natureza existem milhares de plantas com ação farmacológica. O Brasil, nesse aspecto,

caracteriza-se por possuir grande riqueza de plantas, apesar da maioria delas serem utilizadas sem embasamento científico (Oliveira et al., 2010). Assim, inúmeras espécies de plantas medicinais vêm sendo utilizadas por décadas pelas populações com base no conhecimento tradicional. No entanto, as informações obtidas por farmacovigilância e toxicovigilância ainda são restritas (Brasil, 2010).

As plantas produzem uma série de substâncias químicas durante o seu metabolismo. Algumas destas substâncias são conhecidas como princípios ativos e são capazes de provocar algum tipo de resposta biológica quando introduzidos por qualquer via no organismo animal, inclusive no homem. Tais princípios abrangem uma ampla variedade de substâncias químicas e muitas delas encontram aplicação nas indústrias de alimentos, cosméticos e de diversos outros tipos de produtos técnicos (Sousa et al., 1991; Boscolo e Senna, 2008).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da população mundial faz uso de plantas medicinais, sendo a maioria de países em desenvolvimento (WHO, 2004; Gurib-fakim, 2006). Dentre os fatores que definem o emprego popular das plantas nos cuidados com a saúde está o alto preço dos medicamentos industrializados (Rates, 2001).

Atualmente, as condições patológicas do sistema digestório, dentre elas a úlcera gástrica, têm provocado grande impacto nas questões envolvendo saúde pública. Isto se deve principalmente às mudanças do modo de vida das populações como condições de estresse emocional, dieta inadequada, além do aumento do consumo de antiinflamatórios não esteróides (AINEs) e outros medicamentos, cujos efeitos adversos incluem sinais e sintomas gastrintestinais, tais como dispepsia, dor abdominal, náusea, sangramentos gastrintestinais, ulcerações, vômitos e diarreia (Laine et al., 2008; Wallace e Ferraz, 2010).

Desta forma, para a utilização dos produtos naturais na forma terapêutica e preventiva nas úlceras gástricas, é importante destacar que eles devem possuir propriedades necessárias para sua efetividade, e conter em sua composição substâncias vegetais com alta potencialidade, entre elas os flavonoides, fibras, taninos e terpenoides, que possuem atividades antiulcerogênicas bastante significativas e dados comprovados de sua eficácia como fontes alternativas para a prevenção e tratamento de úlceras gástricas (Borrelli e Izzo, 2000; Rodriguez et al., 2004; Marques et al., 2006; Mota et al., 2008; Silvério et al., 2008).

Geralmente, os compostos obtidos a partir de plantas antiulcerogênicas exercem os seus efeitos por meio da estimulação dos fatores protetores da mucosa gástrica, por aumento da síntese de prostaglandinas, por estimular a secreção de muco e bicarbonato,

bem como, por meio da inibição da secreção de ácido, por interação com receptores diferentes, ou enzimas ou hormônios envolvidos no processo secretório (Borrelli e Izzo, 2000).

2.11. *Sedum dendroideum* Moc et Sessé ex DC, Crassulaceae

A família Crassulaceae, além de ser reconhecida como ornamental o que muito contribuiu para dispersão de suas espécies pelo mundo, possui uma série de gêneros que se sobressaem devido às suas propriedades medicinais (Lorenzi e Souza, 1995).

Espécies pertencentes a esta família consistem, primariamente, em ervas suculentas as quais ocorrem, predominantemente, em regiões áridas, temperadas e subtropicais do hemisfério norte e no sul da África. Na medicina popular essas plantas são muito utilizadas contra queimaduras, inflamações, abscessos e contusões (Lorenzi e Souza, 1995).

As espécies de Crassulaceae mostram-se ricas em flavonoides, esteroides, intermediários da via do chiquimato, alcaloides, glicosídeos cianogênicos, triterpenoides, cumarinas e taninos.

Dentre essa família, destacam-se principalmente os gêneros *Kalanchoe*, *Rhodiola* e *Sedum* (Castilho e Kaplan, 1997).

O gênero *Sedum* compreende cerca de 350-500 espécies, sendo o maior da família Crassulaceae. Um grande número de suas espécies é usado como tratamento farmacológico (Niemann et al., 1976). Muitas das drogas derivam das partes aéreas dessas plantas cujas folhas frescas e sumo serve para aplicações tópicas e uso interno (Mulinacci et al., 1995).

A planta medicinal *Sedum dendroideum* Moc. et Sessé ex DC, segundo Lorenzi e Souza (1995), ocupa a seguinte posição taxonômica: Divisão: Magnoliophyta; Classe: Magnoliopsida; Subclasse: Rosidae; Ordem: Rosales; Família: Crassulaceae; Gênero: *Sedum*; Espécie: *Sedum dendroideum* subsp. *praealtum* (DC.). Trata-se de uma espécie perene, suculenta, sublenhosa e xerófita, originária da África do Sul, de clima tropical seco (Lorenzi e Souza, 1995; Epagri, 1998). É uma planta suculenta e subarborescente, que tem em média 1 m de altura e produz flores amarelas.



Figura 5: Mudanças de *Sedum dendroideum*. Fonte: Nikita Botanical. Gardens, Yalta, Crimeia. Disponível em <<http://www.encyclopediaofukraine.com/>> acesso em: 19 de jul de 2013.

No Brasil está amplamente adaptada, crescendo subespontaneamente e é denominada popularmente de bálsamo (Milaneze e Gonçalves, 2001). Suas folhas, com aproximadamente 1 a 5 cm de comprimento e 1 a 2 cm de largura são alternas, simples, sésseis, glabras, brilhantes e discolores, apresentando a face abaxial com tonalidade verde mais clara, com sabor levemente ácido (Figura 5 e 6). Possuem formato obovado, levemente assimétrico, com ápice obtuso, base decurrente e margem lisa, sendo apenas a nervura central aparente (Duarte e Zanetti, 2002).



Figura 6: Mudanças de *Sedum dendroideum* em floração. Fonte: San Marcos Growers. Disponível em <<http://www.smgrowers.com/products/plants.>> Acesso em 26 de jul de 2013.

Na medicina popular, utilizam-se topicamente as folhas frescas do bálsamo para tratamento de inflamações cutâneas e contusões, e internamente para distúrbios gástricos, em razão das atividades emoliente e cicatrizante (Epagri, 1998; Milaneze e Gonçalves, 2001).

Apesar da importância terapêutica de *Sedum dendroideum* (bálsamo), poucos estudos validando seu uso medicinal foram realizados. Estudos com esta espécie evidenciaram as atividades antiinflamatória e espermicida para extratos das partes aéreas (Camargo et al., 2002; Silva-Torres et al., 2003).

2.11.1. Constituintes químicos e atividades biológicas da espécie *Sedum dendroideum* Moc et Sessé ex DC

A presença de flavonoides no gênero *Sedum* (Crassulaceae) é bastante conhecida (Niemann et al., 1976; Wolbiś, 1989; Stevens et al., 1996).

Na espécie *Sedum dendroideum* Moc et Sessé ex DC, vários compostos químicos específicos têm sido evidenciados (Melo, 2006), tais como polissacarídeos com ação antiinflamatória (Sendl et al., 1993), taninos (Stevens et al., 1995; Barroso et al., 2001), triterpenoides com atividade hepatoprotetora (Abdul-Ghani, 1998), alcaloides piperidínicos (Halin et al., 1985) e pirrolidínicos (Hart et al., 1996).

Mais de 4000 flavonoides têm sido descritos e classificados em categorias como flavonois, flavonas, catequinas, flavononas, antocianidinas e isoflavonas, com grande variedade de efeitos biológicos, como anti-neoplásico, antiinflamatório, hepatoprotetor, antihipertensivo e anti-plaquetário, tanto *in vitro*, quanto *in vivo* (Formica e Regelson, 1995; Hollman e Katan, 1999). O quadro a seguir apresenta os principais constituintes químicos do gênero *Sedum*.

Quadro 1. Metabólitos secundários presentes no gênero *Sedum*

Constituintes químicos isolados do gênero <i>Sedum</i>	Referências
Taninos	Stevens et al., 1995; Korul'kin, 2001.
Compostos cianogênicos	Nahrstedt et al., 1982.
Alcaloides	Kooy, 1976; Kim et al., 1996.
Flavonoides: flavonois, flavonas, isoflavonas, antocianidinas, flavanonas, chalconas e diidroflavonóis.	Wolbiś, 1989; Niemann et al., 1976; Stevens et al., 1996; Bonina et al., 2000.

Além desses, o efeito antioxidante tem sido observado também em alguns estudos (Oshima et al., 1998; Magnani et al., 2000). Mora et al., (1990) e Cotelle et al., (1992), verificaram ainda que os flavonoides atuam sobre radicais hidroxilas, devido sua capacidade de doar hidrogênio.

Os flavonoides têm sido implicados como agentes antiulcerosos, sendo a ação mediada pela formação de muco protetor da mucosa gástrica (Lewis e Hanson, 1991).

O fracionamento químico do sumo das folhas de *S. dendroideum* apresentou atividade antinociceptiva, o que levou a uma fração ativa rica em substâncias fenólicas, onde os flavonoides são as substâncias majoritárias (De Melo et al., 2005).

A partir do sumo das folhas frescas e do extrato aquoso dos caules de *Sedum dendroideum* foram isolados no total dez flavonoides: oito com esqueleto do kaempferol e dois derivados de quercetina (De Melo et al., 2009).

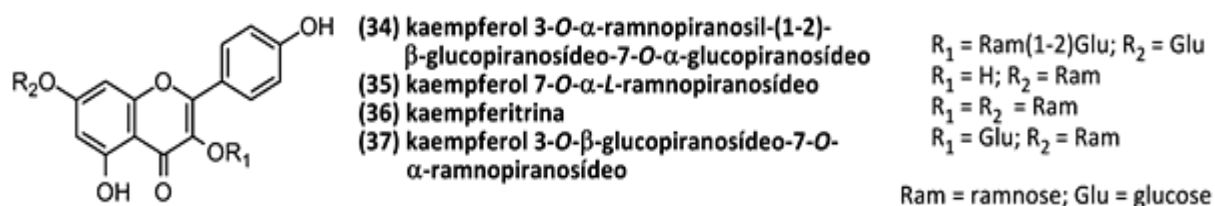


Figura 7. Flavonoides obtidos de *Sedum dendroideum*. Fonte: Coutinho et al., 2009.

O flavonoide kaempferitrina é um dos flavonoides mais comuns da espécie *Sedum dendroideum*, tendo sido isolado também de outras espécies do gênero *Sedum* como *S. pallescens* (Niemann et al., 1976), *S. telephium ssp. maximum* (Mulinacci et al., 1995) e *S. hybridum* (Korul'kin, 2001). Este flavonol possui uma grande variedade de atividades biológicas. Toker et al. (2004) observaram que a kaempferitrina apresentou atividades antinociceptiva e antiinflamatória sem provocar toxicidade aguda aparente ou danos gástricos em camundongos. Além disso, este flavonoide apresenta atividade antioxidante (De Souza et al., 2004) e é uma das substâncias responsáveis pelo efeito hipoglicemiante de *Bauhinia forficata*, uma planta utilizada no Brasil como antidiabética (De Souza et al., 2004; Jorge et al., 2004^a).

De acordo com o levantamento bibliográfico realizado e com os flavonoides isolados em estudos de frações e constituintes, a subclasse de flavonoides predominante no gênero é a dos flavonoides. Dos 236 flavonoides isolados no gênero *Sedum*, 193 estão presentes na espécie *Sedum dendroideum*, substâncias estas que apresentam uma variedade de atividades

biológicas (De Melo et al., 2009). Dentre os flavonoides encontrados, estes estão distribuídos entre os seguintes: agliconas, quercetina, miricetina, kaempferol, isoramnetina, limocitrina, gossipetina, corniculatusina, sexangularetina e herbacetina.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a eficácia do extrato da folha do bálsamo (*Sedum dendroideum*) na prevenção e no tratamento de úlcera gástrica induzida em ratos *wistar* machos.

3.2. Objetivos Específicos

Avaliar a toxicidade aguda e subaguda do extrato da folha do bálsamo (*Sedum dendroideum*), em ratos e ratas *wistar*.

Determinar a dose mais efetiva do extrato da folha do bálsamo (*Sedum dendroideum*) na prevenção e no tratamento da úlcera gástrica.

Verificar o efeito do extrato da folha do bálsamo (*Sedum dendroideum*) na secreção gástrica ácida e a produção de muco.

Investigar os possíveis mecanismos de ação do extrato da folha do bálsamo (*Sedum dendroideum*) relacionados ao óxido nítrico e aos compostos sulfidrílicos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul-Ghani A. S., Amin R., 1988. The vascular action of aqueous extracts of *Foeniculum vulgare* leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 24, 213-218.
- Abdulla M.A., Ahmed K.A.A., Al-Bayaty F.H., 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.
- Aires, M. M., 2008. *Fisiologia*. 3ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 532-539.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Ministério da Saúde. Resolução – Resolução RDC nº 10, de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em acesso 06 de março de 2014: <http://saude.gov.br/bvs/saudelegis/www.anvisa.gov.br>
- Arakawa T., Watanabe T., Tanigawa T., Tominaga K., Fujiwara Y., Morimoto K., 2012 . Quality of ulcer healing in gastrointestinal tract: Its pathophysiology and clinical relevance. *World Journal Gastroenterology* 35, 4811–4822.
- Alqasoumi, S., Al-Sohaibani, M., Al-Howiriny, T., Al-Yahya, M., Rafatullah, S., 2009. Rocket *Eruca sativa*: A salad herb with potential gastric anti-ulcer activity. *World Journal of Gastroenterology* 15, 1958–1965.
- Al Batran R., Al-Bayaty F., Jamil Al-Obaidi M.M., Abdulkader A.M., Hadi H.A., Ali H.M., Abdulla M.A., 2013. In vivo antioxidant and antiulcer activity of *Parkia speciosa* ethanolic leaf extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Plos One* 8, e64751.
- Alican, I., Kubes, P., 1996. A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction. *The American Journal of Physiology* 270, 225- 237.
- Andrade-Cetto, A., Heinrich, M., 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99, 325-348.
- Atay, S., Tarnawski, A. S., Dubois, A., 2000. Eicosanoids and the stomach. *Prostaglandins & other Lipids Mediators* 61, 105-124.
- Bafna, P.A., Balaraman, R., 2004. Anti-ulcer and antioxidant activity of DHC-1, a herbal formulation. *Journal of Ethnopharmacology* 90, 123–127.
- Baggio, C. H., Freitas, C.S., Otofujii, G.M., Cipriani, T.R., Souza, L.M., Sasaki, G.L., Iacomini, M., Marques, M.C.A., Mesia-Vela, S., 2007. Flavonoid-rich fraction of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reiss protects the gastric mucosa of rodents through inhibition of both H⁺, K⁺, ATPase activity and formation of nitric oxide. *Journal of Ethnopharmacology* 113, 433-440.
- Barroso, F. G., Martínez, T. F., Paz, T., Parra, A., Alarcón, F. J., 2001. Tannin content of grazing plants of southern Spanish arid lands. *The Journal of Arid Environments* 49, 301-14.

- Brasil, 2006. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política Nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília, Ministério da Saúde.
- Brasil, 2010. Consolidado de normas da Coordenação de Fitoterápicos, Dinamizados e Notificados (COFID), Versão III. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/medicamento/s/Publicação+Medicamentos/Medicamentos+fitoterápicos>, acesso em: 19 nov. 2012.
- Berne, R.M., Levy, M.N., Koeppen, B.M., Stanton, B.A., 2004. Fisiologia. 5ª edição. Rio de Janeiro. Elsevier, 743-751.
- Berenguer B., Alarcón, C. de la L., Moreno F.J., Martín M.J., 2002. Chronic gastric ulcer healing in rats subjected to selective and non-selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *European Journal of Pharmacology* 442, 125-35.
- Bhargava K.P, Gupta M.B, Tangri K.K., 1973. Mechanism of ulcerogenic activity of indomethacin and oxyphenbutazone. *European Journal of Pharmacology* 22, 191-195.
- Birdane, F.M., Cemek, M., Birdane, Y.O., Gülçin, I.B.M.E., 2007. Beneficial effects of *foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. *World Journal of Gastroenterology* 13, 607-611.
- Biondo, T. M., Tanae, M.M., Coletta, E.D., Lima-Landman, M.T., Lapa, A.J., Souccar, C., 2011. Antisecretory actions of *Baccharis trimera* (Less.) DC aqueous extract and isolated compounds: analysis of underlying mechanisms. *Journal of Ethnopharmacology* 136, 368-373.
- Bonacorsi C., Raddi M.S., Carlos I.Z., Sannomiya M., Vilegas W., 2009. Anti-*Helicobacter pylori* activity and immunostimulatory effect of extracts from *Byrsonima crassa* Nied. (Malpighiaceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine* 9, 2-8.
- Bonamin F., Moraes T.M., Kushima H., Silva M.A., Rozza A.L., Pellizzon C.H., Bauab T.M., Rocha L.R., Vilegas W., Hiruma-Lima C.A., 2011. Can a *Strychnos* species be used as antiulcer agent? Ulcer healing action from alkaloid fraction of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Loganiaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 138, 47-52.
- Bonina, F., Puglia, C., Tomaino, A., Saija, A.; Mulinacci, N., Romani, A., Incieri, F. F., 2000. *In-vitro* antioxidant and *in-vivo* photoprotective effect of three lyophilized extracts of *Sedum telephium* L. leaves. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 52, 1279-85.
- Borelli, F., Izzo, A.A., 2000. Review Article: The plant Kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research* 14, 581-591.
- Boscolo, Odara Horta, L. Senna-Valle, 2008. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. *Iheringia, sér. Bot* 63, 263-277.

- Brunton, L.L., Lazo, J.S., Parker, K.L., 2006. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 11ª edição. United States of America, Mc Graw-Hill Companies, Inc.
- Brzozowski, T., Konturek P. C., Konturek, S. J., Brzozowska I., Pawlik, T., 2005. Role of prostaglandins in gastroprotection and gastric adaptation. *Journal of Physiology and Pharmacology* 56, 33-55.
- Bucciarelli, A., Minetti, A., Milczakowskyg, C., Skliar, M., 2010. Evaluation of gastroprotective activity and acute toxicity of *Solidago chilensis Meyen (Asteraceae)*. *Pharmaceutical Biology* 48, 1025-1030.
- Buttgereit F., Burmester G.R., Simon L.S., 2001. Gastrointestinal toxic side effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs and cyclooxygenase-2 specific inhibitors. *The American Journal of Medicine* 110, 13-19.
- Caldas, G. F. R., da Silva Oliveira, A. R., Araújo, A. V., Quixabeira, D. C. A., da Costa Silva-Neto, J., Costa-Silva, J. H., Wanderley, A. G. I., 2014. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil of *Hyptis martiusii Benth. (Lamiaceae)*. *Plos One* 9, e84400.
- Camargo, M.E.M., Romero, M.B., Zamora, D.R., Carrillo, P.C., Maldonado, M.E.V., 2002. Study of the anti-inflammatory effect of *Sedum praealtum* (siempre viva) in the rat: dose-dependent response. *Proceedings Western Pharmacology Society* 45, 129- 130.
- Carlini, E.A., Neto, J.P., De Almeida, E.T., Marigo, C., 1970. Úlcera por contenção em ratos: ação protetora de extrato aquoso de bálsamo. Estudo preliminar. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 42, 267-270.
- Casali J. J., Franzon O., Kruehl N. F., Neves B. D., 2012. Análise epidemiológica e emprego do teste rápido da urease em pacientes com úlcera péptica perforada. *Revista Colégio Brasileiro Cirurgia* 39, 93-98.
- Castilho, R.O., Kaplan, M.A.C., 1997. *Crassulaceae*: uma abordagem química, farmacológica e etnofarmacológica. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 78, 93-95.
- Christensen, J., Coelho, J. C. U., Gonçalves, C. G.; Groth, A. K., 2005. Distúrbios da Motilidade do Intestino Grosso e Síndrome do Intestino Irritável. In: *Aparelho Digestivo Clínica e Cirúrgica* 886-901.
- Coelho de Souza, G., Haas, A.P.S., Poser, G.L.V., Schapoval, E.E.S., Elisabetsky, E., 2004. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 90, 135-143.
- Constanzo L.S., 2007. *Fisiologia do Sistema Endócrino*. Fisiologia. 3ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier, 131- 136.
- Coruzzi, G., Adami M., Morini G., Pozzoli C., Cena C., Bertinaria M., Gasco A., 2000. Antisecretory and gastroprotective activities of compounds endowed with H₂ antagonistic and nitric oxide (NO) donor properties. *Journal of Physiology* 94, 5-10.

- Cotelle N., Bernier J.L., Henichart J.P., Catteau J.P., Gaydou F., Wallet J.C., 1992. Scavenger and antioxidant properties of ten synthetic flavones. *Journal of the Society for Free Radical Biology and Medicine* 12, 211-219.
- Cotran R. S., Kumar V., Collins T., 2000^a. Robbins Patologia Estrutural e Funcional. 6ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 708-713.
- Cotran R.S., Kumar V, Collins T., 2006^b. Robbins Bases Patológicas das Doenças 7ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier, 1013-1027.
- Coutinho, M. A. S., Muzitano, M.F., Costa, S.S., 2009. Flavonóides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. *Revista Virtual de Química* 1, 241-256.
- Dangelo, J. G.; Fattini, C. A., 2007. Anatomia humana sistêmica e segmentar. 3ª edição. Rio de Janeiro, Atheneu, 137-141.
- Dani R., Castro, L.P., 1993. Gastroenterologia clínica. 3ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 86-89.
- Dani R., 2006. Gastroenterologia essencial. 3ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 161-194.
- DataSus. Ministério da Saúde. Informações de Saúde. Assistência a Saúde, 2013. Disponível em <http://www.datasus.gov.br/datasus>, Acesso em 05 mar. 2014.
- De Melo, G.O., Malvar, D.C., Vanderlinde, F.A., Pires, P.A., Cortes, W.S., Germano Filho, P., Muzitano, M.F., Kaiser, C.R., Costa, S.S., 2005. Phytochemical and pharmacological study of *Sedum dendroideum* leaf juice. *Journal of Ethnopharmacology* 102, 217–220.
- De Melo, G.O., Malvar, D. C., Vanderlinde, F. A., Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, E. A., De Matos, L. G., Kaiser, C. R., Costa, S. S. J., 2009. Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. *Journal of Ethnopharmacology* 124, 228-32.
- De Souza, E., Zanatta, L., Seifriz, I., Creczynski-Pasa, T.B., Pizzolatti, M.G., Szpoganicz, B., Silva, F.R.M.B., 2004. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-(α)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. *Journal of Natural Products* 67, 829-832.
- Dias, L. F. de T., Melo E. S. de, Hernandez L. S., Bacchi E. M., 2009. Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae). *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 19, 309-314.
- Diniz L.R.L., Vieira C.F.X., Santos E.C., Lima G.C., Aragão K.K.V., 2013. Gastroprotective effects of the essential oil of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. on gastric ulcer models. *Journal of Ethnopharmacol* 149, 694–700.

- Donatini, R.S., Ishikawa, T., Barros, S.B.M., Bacchi, E.M., 2009. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (*myrtaceae*). Revista Brasileira de Farmacognosia 19, 89-94.
- Douglas, C.R., 2006. Tratado de Fisiologia aplicada às Ciências Médicas 6ª edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 976-987.
- Duarte, M.R., Zaneti, C.C., 2002. Morfoanatomia de folhas de bálsamo: *Sedum dendroideum* Moc. et Sessé ex DC, *Crassulaceae*. Revista Lecta 20, 153-160.
- Enciclopédia britânica online., 2013. Anatomia funcional do estômago. Disponível em <<http://www.britannica.com.br>> acesso em: 14 de jun de 2013.
- Epagri – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S. A, 1998. CD Plantas Medicinais, versão 1.0, 12-15.
- Evbuonwa M.T., Bolarinwa A. F., 1990. Effect of diet on indomethacin-induced peptic ulceration in pregnant rats. Nigerian Journal of Physiological Sciences 6, 189–191.
- Fan, T.Y., Feng, Q.Q., Jia, C.R., Fan, Q., Li, C.A., Bai, X.L., 2005. Protective effect of weikang decoction and partial ingredients on model rat with gastric mucosa ulcer. World Journal Gastroenterology 11, 1204-1209.
- Federação Brasileira de Gastroenterologia, 2012. Úlceras gástricas. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina, Brasil, Astm Codent Gaedow 31, 28-479.
- Ferrazoli, C., 2008. Avaliação da atividade gastroprotetora do extrato metanólico e frações dos capítulos de *Eriocaulon ligulatum* Vell. (*Eriocaulaceae*). Dissertação (Mestrado - Área de Concentração Farmacologia) Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP Campus Botucatu.
- Ferreira, D.M., 2013. Avaliação da atividade gastroprotetora e cicatrizante gástrica da ramnogalacturonana isolada da *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen em ratas. Dissertação (Mestrado- Área de Farmacologia). UFPR - Universidade Federal do Paraná.
- Formica, J.V., Regelson, W., 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. Food and Chemical Toxicology 33, 1061-1080.
- Fox, S.I., 2007. Sistema digestório, in: Fisiologia Humana. São Paulo, Manole, 260-269.
- Glavin G.B., Szabo S., 1992. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. FASEBJ, 6, 825- 831.
- Ganong, W. F., 2012. Fisiologia médica. 22ª edição, Porto Alegre, McGraw-Hill, 778-786.
- Gastroenterologia, Semiologia Médica., 2013. Disponível em <http://www.medicinageriatrica.com.br/>> acesso em 23 jun de 2013.

- Groenen, M.J., Kuipers, E.J., Hansen, B.E., Ouwendijk, R.J., 2009. Incidence of duodenal ulcers and gastric ulcers in a Western population: back to where it started. *Can. Journal Gastroenterology* 9, 604-608.
- Gurib-Fakim A., 2006. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Journal of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology* 27, 1-93.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 2002. Fisiologia dos distúrbios gastrointestinais. in: *Tratado de fisiologia médica*, 8ª edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 135-138.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., 2006. Fisiologia dos distúrbios gastrointestinais. in: *Tratado de fisiologia médica*, 11ª edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 413-422.
- Hagaboam, C.M., Bissonnette, E.V., Chin, B.C., Befus, A.D., Wallace, J.L., 1993. Prostaglandins inhibit inflammatory mediator release from rat mast cells. *Journal Gastroenterology* 104, 122-129.
- Halin, F., Slosse, P., Hootelé, C., 1985. *Sedum alkaloides* – VII – Structure and synthesis of (+)-4-hydroxysedamine and (+)-4-hydroxyallosedamine. *Tetrahedron*, Elsevier 41, 2891-7.
- Hart, H. T., Stevens, J. F., Jeong, H. K., 1996. Alkaloids of some Asian *Sedum species*. *Journal Phytochemistry* 41, 1319-24.
- Hernández, H. R., Karam, J.S.J., Romero, F.G., 2000. Factores de riesgo para la recurrencia de úlcera péptica. *Gaceta Médica de México* 137, 4.
- Heywood, R., 1987. The use of animals in testing. *Alternatives to Laboratory Animals* 14, 329-333.
- Hiruma-Lima, C.A., Calvo, T.R., Rodrigues, C.M., Andrade, F.D.P., Vilegas, W., Souza, B.A.R.M., 2006. Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneaefolia*: effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. *Journal of Ethnopharmacology* 104, 215-224.
- Hollman, P.C.H., Katan, M.B, 1999. Health effects and bioavailability of dietary flavonols. *Free Radic. Res* 31, 75-80.
- Hoogerwerf, W. A., Pasricha, P. J., 2005. Agents used for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcer and gastroesophageal reflux disease. In: Hardman, J. G., Limbird, L. E. Goodman & Gilman's: *The pharmacological basis of therapeutics*. 11th edition, McGraw-Hill, International edition 1005-1020.
- Jain, K.S., Shah, A.K., Bariwal, J., Shelke, S.M., Kale, A.P.; Jagtap, J.R.; Bhosale, A.V., 2007. Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 15, 1181-1205.
- Jamal A., Siddiqui A., Tajuddin Jafri M.A., 2006. A review on gastric ulcer remedies used in Unani System of Medicine. *A Bimonthly Journal on Natural Products* 5, 153 - 159.

- Jiang H. et al., 2011. Soy protein diet, but not *Lactobacillus rhamnosus* GG, decreases Mucin-1, Trefoil Factor-3, and Tumor Necrosis Factor- α in colon of dextran sodium sulfate-treated C57BL/6 mice. *Journal of Nutrition* 141, 1239–1246.
- Jorge, A.P., Horst, H., De Souza, E., Pizzolatti, M.G., Silva, F.R.M.B., 2004^a. Insulinomimetic effects of kaempferitrin on glycaemia and on 14C-glucose uptake in rat soleus muscle. *Chemico-Biological Interactions* 149, 89-96.
- Jorge, R. M., Leite, J.P., Oliveira, A.B., Tagliati, C.A. 2004^b. Evaluation of antinociceptive, anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of *Maytenus ilicifolia*. *Journal of Ethnopharmacology* 94, 93–100.
- Junqueira, L. C.; Carneiro, J., 2013. *Histologia básica: texto & atlas*. 12^a edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 234-242.
- Kang J.M., Seo P.J., Kim N., Lee B.H., Kwon J., Lee D.H., Jung H.C., 2012. Analysis of direct medical care costs of peptic ulcer disease in a Korean tertiary medical Center. *Scand Journal Gastroenterology* 47, 36–42.
- Katzung, Bertram G., 2005. *Farmacologia Básica & Clínica*. 9^a edição Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 107-109.
- Kato, S., Ohkawa, Y., Ito, K., Amagase, K., Takeuchi, K., 2009. Role of endothelial nitric oxide synthase in aggravation of indomethacin-induced gastric damage in adjuvant arthritic rats. *Journal of Physiology and Pharmacology* 60, 147-155.
- Karam, T.K., Dalposso, L.M., Casa, D.M., De Freitas, G.B.L., 2013. Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. *Revista Brasileira de plantas medicinais* 15, 280-286.
- Kasper D., Braunwald E., Fauci A., Fauci, A.S., Hauser, S.L., Longo, D.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J., 2008. *Harrison Principles of Internal Medicine*, 17 edição.
- Kessel, R.G., 2001. *Histologia Médica Básica: A Biologia das Células, Tecidos e Órgãos*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 219-224.
- Kierszenbaum, A. L., 2008. *Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia*. 2^a edição. Rio de Janeiro, Elsevier, 677-680.
- Kim, J.H., Hart, H., Stevens, J.F., 1996. Alkaloids of some Asian *Sedum* species. *Phytochemistry* 41, 1319-1324.
- Kinghorn, A. D., Pan, L., Fletcher, J. N., Chai, H., 2011. The relevance of higher plants in lead compound discovery programs. *Journal of natural products* 74, 539-55.
- Klein-Jr, L.C.J., Gandolfi, R.B., Santin, J.R., Lemos, M., Cechinel Filho, V.A.S.F., 2010. Antiulcerogenic activity of extract, fractions, and some compounds obtained from *Polygala cyparissias* St. Hillaire, Moquin (*Polygalaceae*). *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacology* 381, 121-126.

- Koeppen, B.M., Stanton, B.A., 2009. BERNE & LEVY Fisiologia. 6ª edição. São Paulo, Elsevier, 144- 148.
- Komen N.A., Bertleff M.J., Van Doorn LJ, Lange J.F., de Graaf P.W., 2008. *Helicobacter* genotyping and detection in peroperative lavage fluid in patients with perforated peptic ulcer. *Journal Gastrintest Surg* 12, 555-60.
- Konturek, S. J., Brzozowski T., Majka J., Czarnobilski K., 1992. Role of nitric-oxide and prostaglandins in sucralfate-induced gastroprotection. *European Journal of Pharmacology* S.I. 211, 277-279.
- Kooy, J.H., 1976. Alkaloids of *Sedum acre*. *Planta Medica*, 30, 295-296.
- Korul'kin D.Y., 2001. Chemical composition of certain *Sedum* species of Kazakhstan. *Chemistry of Natural Compounds* 37, 219-223.
- Kumar, V., Fausto, N., Abbas, A. K., Abul, K., 2008. Robbins Patologia Básica. 8ª edição, São Paulo, Elsevier, 621-628.
- Kunze W.A.A., Furness J.B., 1999. The Enteric Nervous System and Regulation of Intestinal Motility. *Annual Review of Physiology* 61, 117-142.
- Lacerda, A. F., Lima, M. J. R., Miranda, M. E., 2004. Anatomia, fisiologia e anomalias congênitas do intestino grosso. In: Castro, L. de P. *Gastroenterologia*, 2ª edição, Rio de Janeiro, Medsi, 48-53.
- Laine L., Takeuchi K., Tarnawski A., 2008. Reviews in basic and clinical gastroenterology. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Journal Gastroenterology* 135, 135-41.
- Levy, M.N., Berne, R.M., Koeppen, B.M., Stanton, B.A., 2006. Berne & Levy Fundamentos de fisiologia. 4ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier, 252-255.
- Lewis, D.A., Hanson, P.J., 1991. Antiulcer drugs of plant origin. In: Ellis, G.P. *Progress in Medicinal Chemistry*. New York, Elsevier Science Publishers 201- 231.
- Lindell, G., Celebioglu, F., Von Holstein, C.S., Graffner, H.S.C., 1994. On the natural history of peptic ulcer. *Journal Gastroenterology* 11, 979-982.
- Lloyd K.C., H.T. Debas., 1994. Peripheral regulation of gastric acid secretion. *Physiology of the gastrointestinal tract 3rd edition* (L. R. Johnson, ed.), Raven Press Ltd., 1185-1226.
- Lorenzi, H., Souza, H.M., 1995. Plantas ornamentais no Brasil. Arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Nova Odessa, São Paulo, Plantarum, 124-125.
- Magnani L., Gaydou E.M., Hubaud J.C., 2000. Spectrophotometric measurement of antioxidant properties of flavones and flavonols against superoxide anion. *Analytica Chimica Acta* 411, 209-216.

- Maity, B., Chattopadhyay, S., 2008. Natural Antiulcerogenic Agents: An Overview. *Current Bioactive Compounds* 4, 225-244.
- Malferttheiner, P., Chan, F.K., Mccoll, K.E., 2009. Peptic ulcer disease. *Lancet* 374, 1449-1461.
- Marques D.A., Foglio M.A., Morgante P.G., Sluys M.A.V, Shepherd S.L.K., 2006. Biotechnology approaches for production of antiulcerogenic dihydro-epideoxyarteannuin B isolated from *Artemisia annual*. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16, 291-299.
- Marques S.B., Mattar R., Artifon E.L.A., Sakai P., Carrilho F.J., 2011. High prevalence of duodenal ulcer in a tertiary care hospital in the city of São Paulo, SP, Brazil. *Archives of Gastroenterology* 48, 171-4.
- Mccarthy, D. M., 2010. Adverse effects of proton pump inhibitor drugs: Clues and conclusions. *Current Opinion in Gastroenterology S.I.* 26, 624-631.
- Merchant, J.L., 2007. Tales from the crypts: regulatory peptides and cytokines in gastrointestinal homeostasis and disease. *The Journal of Clinical Investigation* 117, 6-12.
- Milaneze, M. A., Gonçalves, E., 2001. Caracterização morfo-anatômica das folhas de *Sedum dendroideum DC, Crassulaceae* In: Simpósio Brasileiro de Farmacognosia, Curitiba. Anais. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Departamento de Farmácia, Laboratório de Farmacognosia.
- Milani, S., Calabro, A., 2001. Role of growth factors and their receptors in gastric healing. *Microscopy Research and Techniqye* 53, 3060-71.
- Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Portaria MS/GM nº 533, de 28 de março de 2012, que estabelece o elenco de medicamentos e insumos da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais – Renome.
- Mizui, T., Douteuchi, M., 1983. Effect of polyamines on acidified ethanol gastric-lesions in rats. *Journal Pharmacology* 33, 939-945.
- Mota, K.S.L., Pita, J.C.L.R., Estevam, E.C., Medeiros, V.M., Tavares, J.F., Agra, M.F., Diniz, M.F.F.M., Silva, M.S., Batista, L.M., 2008. Evaluation of the toxicity and antiulcerogenic activity of the ethanol extract of *Maytenus obtusifolia Mart. Leaves*. *Brazilian Journal of Pharmaceutical* 18, 441-446.
- Mora A., Payá M., Rios J.L., Alcaraz M.J. 1990. Structure-activity relationships of polymethoxyflavones and other flavonoids as inhibitors of non enzymic lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology* 40, 793-797.
- Mulinacci, N., Vincieri, F.F., Baldi, A., Bambagiotti-Alberti, M., Sendl, A., Wagner, H., 1995. Flavonol glycosides from *Sedum telephium subspecies maximum leaves*. *Phytochemistry* 38, 531-533.

- Musumba, C., D. M. Pritchard., M. Pirmohamed, M., 2009. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID induced peptic ulcer. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 30, 517-531.
- Nährstedt, A., Walther, A.; W. Ray, V., 1982. Sarmentosin epoxide, a new cyanogenic compound from *Sedum cepaea*. *Phytochemistry* 21, 107-110.
- Närhi, U. et al., 2005. Switching of H2-receptor antagonists to over-the-counter status in Finland: Implications for consumption and adverse effects. *Clinical Drug Investigation* 25, 243-248.
- Newton J.L., Allen A., Westley B.R., May F.E.B., 2000. The human trefoil peptide, TFF1, is present in different molecular forms that are intimately associated with mucus in normal stomach. *Gut Journal Gastroenterology and Hepatology* 46, 312–320.
- Niemann, G.J., Visser-Simons, J.M.J., Hart, H., 1976. Flavonoids of some species of *Sedum*. *Planta Medica* 30, 384-387.
- Nikita Botanical., 2013. Gardens, Yalta, Crimea. Disponível em <<http://www.encyclopediaofukraine.com/>> acesso em: 19 de jul de 2013.
- Nwafor P.A., Effraim K.D., Jacks T. W., 1996. Gastroprotective effects of aqueous extracts of *Khaya senegalensis* bark on indomethacin - induced ulceration in rats. *West African journal of pharmacology and drug research* 12, 46–50.
- Oh, S., 2011. Proton pump inhibitors Uncommon adverse effects. *Austral Family Physician* 40, 705-08.
- Okabe, S., Miyake, H., Awane, Y., 1986. Cytoprotective effects of NC-1300 and omeprazole on HCl ethanol-induced gastric lesions in rats. *Japanese Journal of Pharmacology* 42, 123-133.
- Okabe, S., Amagase, K., 2005. An overview of acetic acid ulcer models--the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 28, 1321-41.
- Oliveira. J.A., Costa. A.M.D.D., Terra. F.S., Boriollo. G.M.F.O., Soares. E.A., 2010. Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol. *Revista Brasileira de Clínica Medica* 8, 129-34.
- Orsi, P.R., Bonamin F., Severia, J. A., Santos, R.C., Vilegas, W., Hiruma-Lima, C.A., Di Stasia. L.C., 2012. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti-ulcerand antidiarrheal effect sin experimental rodent models, *Journal of Ethnopharmacology* 143, 81–90.
- Oshima H., Yoshie Y., Auriol S., Gilbert I., 1998. Antioxidant and pro-oxidant actions of flavonoids: effects on DNA damage induced by nitric oxide, peroxy nitrile and nitroxyl anion. *Free Radical BioMed* 25, 1057-1065.

- Peskar, B.M., 2005. Role of cyclooxygenase isoforms in gastric mucosal defense and ulcer healing. *Journal Inflammopharmacology* 13, 15–26.
- Pihan G., Regillo C., Szabo S., 1987. Free radicals and lipid peroxidation in ethanol or aspirin - induced gastric mucosa injury. *Digestive Diseases and Sciences* 32, 1395–1401.
- Pinto L.A., Wolff Cordeiro, K., Carrasco, V., Argadoña, E.J.S., Freitas, K. de C., 2012. The effectiveness study of the seed extract papaya (*Carica papaya* Linn) in gastroprotection of gastric ulcer induced in animals. Associação Organizadora do Simpósio Internacional de Pós-Graduação e Pesquisa (Org.). Anais do SINPOSPq. Ribeirão Preto, 300.
- Phillipson, M. Atuma, C. Henriksnas, J. Olm, L., 2002. The importance of mucus layers and bicarbonate transport in preservation of gastric juxtamucosal pH. *AM, Journal Physiology Gastrointest Liver Physiology* 282, 211-219.
- Pohle, T., Domschke, W., 2003. Gastric function measurements in drug development. *British Journal of Clinical Pharmacology* 56, 156–164.
- Pommier, B., Marie Claire, C., Da Nascimento, S., 2003. Further evidence that the CCK2 receptor is coupled to two transduction pathways using site directed mutagenesis. *Journal of Neurochemistry* 85, 454-461.
- Popović N., Nikolić V., Karamarković A., Blagojević Z., Sijacki A., 2010. Prospective evaluation of the prevalence of *Helicobacter pylori* in abdominal surgery patients. *Hepatogastroenterology* 57, 167-171.
- Porth, C.M; Kunert, M.P., 2004. *Fisiopatologia*. 6ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 305-317.
- Raghunath A.S., O'Morain C., McLoughlin R.C., 2005. Review article: the long-term use of proton-pump inhibitors. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 22, 55-63.
- Rainsford K.D.D., 1987. The effects of 5-lipoxygenase inhibitors and leukotriene antagonists on the development of gastric lesions induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs in mice. *Agents and Action* 21, 316–319.
- Ramos, A. R., 2009. Riesgos de la administración de los Inhibidores de la Bomba de Protones por tiempo prolongado. *Diagnóstico Fundación Instituto Hipolito Unanue Lima* 48, 88-90.
- Rang H.P, Dale M.M., Ritter J.M, Moore P.K., 2004. *Farmacologia*. 5ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier, 161-165.
- Rates, S.M.K., 2001. Plants as source of drugs. *Journal Toxicon, Elsevier* 39, 603-613.
- Ramesh P., Talha J., Piyush G., Preksha D., 2012. Herbal remedies for gastroprotective action: a review. *International Journal of Phytopharmacy* 2, 30-38.
- Reis, N. T., 2004. *Nutrição Clínica Interações*. 1ª edição Rio de Janeiro, Rubio, 77-79.

- Repetto, M.G., Llesuy, S.F., 2002. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 35, 523–534.
- Ribeiro, S.M.L., Campos, P., Tirapegui, J., 1995. O rato como animal de laboratório: histórico, dados biológicos e análise crítica de seu uso. *Revista de Farmácia Bioquímica Universidade de São Paulo*, 31, 21-28.
- Robert A., 1979. Cytoprotection by prostaglandins. *Journal Gastroenterology* 77, 761-767.
- Rodríguez-Hernández, H., Jacobo-Karam, J.S., Guerrero-Romero, F., 2001. Factores de riesgo para la recurrencia de úlcera péptica. *Gaceta Médica de México* 137, 303-310.
- Rodriguez J.Á., Hiruma-Lima C.A, Souza Brito A.R. 2004. Antiulcer activity and subacute toxicity of trans-dehydrocrotonin from *Croton cajucara*. *Hum Exp Toxicol* 23, 455-461.
- Sachs G., Zeng N., Prinz C., 1997. Physiology of Isolated Gastric Endocrine Cells. *Annual Review of Physiology* 59, 243-256.
- Sakat, S.S., Tupe P., Juvekar A., 2012. Gastroprotective Effect of *Oxalis corniculata* (Whole Plant) on Experimentally Induced Gastric Ulceration in Wistar Rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 74, 48-53.
- Salén, J.C.W., 1995. *Animal models: principles and problems*. 3ª edição. Boston, CRC Press, 150-156.
- Salim, A.S., 1992. Sulphydryl-containing agents: a new approach to the problem of refractory peptic ulceration. *Pharmacology* 45, 301-306.
- Samuelson L.C., Hinkle, K.L., 2003. Insights into the regulation of gastric acid secretion through analysis of genetically engineered mice. *Annual Review of Physiology* 65, 383-400.
- San Marcos Growers., 2013. Disponível em <<http://www.smgrowers.com/products/plants>. > Acesso em 26 de jul de 2013.
- Sánchez-Mendoza, M.E., 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 Sulphydryls. *Molecules* 16, 665-674.
- Santos, A. C., Baggio, C.H., Freitas, C. S., Lepieszynski, J., Mayer, B., Twardowschy, A., Missau, F. C., dos Santos, E. P., Pizzolatti, M. G., Marques, M. C. A., 2008. Gastroprotective activity of the chloroform extract of the roots from *Arctium lappa* L. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 60, 795-801.
- Saul, C., Teixeira, C.R., Pereira, J.C.L., 2008. Redução da prevalência de úlcera duodenal: um estudo brasileiro (análise retrospectiva na última década. *Arquivo Gastroenterologia* 44, 320-324.

- Sawada M., C.J Dickinson., 1997. The G cell. *Annu Review Physiology* 59, 273-298.
- Sendl, A., Mulinacci, N., Vincieri, F.F., Wagner, H., 1993. Anti-inflammatory and immunologically active polysaccharides of *Sedum telephium*. *Phytochemistry* 34, 1357-1362.
- Scheiman, J.M., Fendrick, A.M. 2007. Summing the risk of NSAID therapy. *Lancet* 369, 1580–1581.
- Schroeter, G., Chaves, L. L., Engroff, P., Faggiani, F.T., Carli, G.A., Morrone, F.B., 2008. Estudo de utilização de antiulcerosos na população idosa de Porto Alegre, RS, Brasil. *Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul HCPA* 28, 89-95.
- Schubert, M.L., Peura, D.A., 2008. Control of gastric acid secretion in health and disease. *Gastroenterology* 134, 1842-1860.
- Shah, V., Lyford, G., Gores, G., Farrugia, G., 2004. Nitric Oxide in Gastrointestinal Health and Disease. *Gastroenterology* 126, 903-913.
- Silbernag S., Despopoulos, A., 2003. *Fisiologia: texto e atlas*. 5ª edição, Porto Alegre, Artmed, 436.
- Silva-Torres, R., Montellano-Rosales, H., Ramos-Zamora, D., Castro-Mussot, M.E.,Cerdá-García-Rojas, C.M., 2003. Spermicidal activity of the crude ethanol extract of *Sedum praealtum* in mice. *Journal of Ethnopharmacology* 85, 15-17.
- Silva, L. M., Allemand, A., Mendes, D. A. G. B., Santos, A. C., André, E., Souza, L.M., Cipriani, T. R., Dartora, N., Marques, M. C. A., Baggio, C. H., Werner, M. F., 2013. Ethanolic extract of roots from *Arctium lappa* L. accelerates the healing of acetic acid-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the antioxidant system. *Food and Chemical Toxicology* 51, 179-187.
- Silvério M.S., Sousa O.V., Del-Vechio-Vieira G, Miranda M.A., Matheus F.C., Kaplan M.A.C. 2008. Propriedades farmacológicas do extrato etanólico de *Eremanthus erythropappus* (DC.) *McLeisch* (*Asteraceae*). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18, 430-435.
- Simmons D.L., R.M. Botting, Hla T., 2004. Ciclooxigenase isoenzimas: biologia da síntese de prostaglandinas e inibição. *Pharmacological Reviews* 56, 387-437.
- Singh G., Ramey D.R., Morfeld D., Shi H., Hatoum H.T., Fries J.F., 1996. Complicações do trato gastrointestinal de tratamento de drogas não esteróides anti-inflamatório na artrite reumatóide. Um estudo de coorte observacional prospectivo. *Archives of Internal Medicine* 156, 1530-1536.
- Sivri, B., 2004. Trends in peptic ulcer pharmacotherapy. *Fundamental & Clinical Pharmacology* S.I. 18, 23-31.
- Sonnenberg A., 2007. Time trends of ulcer mortality in Europe. *Gastroenterology* 132, 2320-7.

- Sorbye, H., Svanes, K., 1994. The role of blood flow in gastric mucosal defence, damage and healing. *Digestive diseases* 5, 305-317.
- Sousa, M.P., Matos, M.E.O., Matos, F.J.A., Machado, M.I.L., Craveiro, A.A., 1991. Constituintes Químicos Ativos de Plantas Medicinais Brasileiras. UFC/Laboratório de Produtos Naturais 416.
- Snitkoff, G.G., 2004. Testes biológicos. In: Gennaro, A.R. Remington: a ciência e a prática da farmácia. 20ª edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 556-568.
- Spence, A.P., 1991. Sistema Digestivo. *In: Anatomia Humana Básica*. 2ª edição, São Paulo, Manole Ltda, 537-572.
- Srinivas, N. R., 2009. Antacid use and reduced bioavailability of oral drugs case studies, overview and perspectives. *Arzneimittel-Forschung/Drug Research S.I.* 59, 327-334.
- Stevens, J.F., Hart, H., Van Ham, R.C.H.J., Elema, E.T., Van Den Ent, M.M.V.X., Wildeboer, M., Zwaving, J.H., 1995. Distribution of alkaloids and tannins in the *Crassulaceae*. *Biochemical Systematics and Ecology* 23, 157-165.
- Stevens, J.F., Hart, H., Elema, E.T., Bolck, A., 1996. Flavonoid variation in Eurasian *Sedum* and *Sempervivum*. *Phytochemistry* 41, 503-512.
- Sung J.J., Kuipers E.J., El-Serag H.B., 2009. Systematic review: The global incidence and prevalence of peptic ulcer disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 29, 938-46.
- Takeuchi, K., Kato, S., Ogawa, Y., Kanatsu, K., Umeda, M., 2005. Role of endogenous prostacyclin in gastric ulcerogenic and healing responses – a study using IP-receptor knockout mice. *Journal of Physiology* 95, 75-80.
- Takagi, K., Okabe, S., Saziki, R., 1969. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. *The Japanese Journal of Pharmacology* 19, 418-426.
- Takase, H., Inoue, O., Saito, Y., Yumioka, E., Suzuki, A., 1991. Roles of sulfhydryl compounds in the gastric mucosal. Protection of the herb drugs composing *oren-gedoku-to* (a traditional herbal medicine). *Japanese Journal of Pharmacology* 56, 436-439.
- Takayama, C., Faria, F., M., de, Almeida, A., C., A., de, Arantes, D., de de e Valim-Araújo, O., Rehen, C. S., Dunder, R., J., Socca, E. A. R., Manzo, L.P., Rozza, A. L., Salvador, M.J., Pellizzon, C.H., Hiruma-Lima, C.A., Luiz-Ferreira, A., Souza-Brito, A.R.M., 2011. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil from *Hyptis spicigera* Lam. (*Lamiaceae*). *Journal of Ethnopharmacology* 135, 147-155.
- Taylor, D., 2010. Use of antacid medication in patients receiving clozapine: A comparison with other second-generation antipsychotics. *Journal of Clinical Psychopharmacology S.I.* 30, 460-461.

- Tarnawski, A. S., Ahluwalia, A., 2012. Molecular mechanisms of epithelial regeneration and neovascularization during healing of gastric and esophageal ulcers. *Current Medicinal Chemistry* 19, 16-27.
- Toker, G., Küpeli, E., Memisoglu, M., Yesilada, E., 2004. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of *Tilia argentea* (silver linden). *Journal of Ethnopharmacology* 95, 393-397.
- Tolia, V., Boyer, K., 2008. Long-Term Proton Pump Inhibitor Use in Children: A Retrospective Review of Safety. *Digestive Diseases and Sciences* 53, 385-393.
- Toneto, M. G., Oliveira, F., J., M., Lopes, M., H., I., 2011. History of peptic ulcer: from etiology to treatment. *Scientia Medica* 21, 23-30.
- Tortora, G. J., Derrickson, B., 2010. *Corpo humano: fundamentos de anatomia e fisiologia*. 12ª edição. Porto Alegre, Artmed, 319-323.
- Thomson, A.B.R., Sauve, M.D., Kassam, N., Kamitakahara, H., 2010. Safety of the long-term use of proton pump. *World Journal Gastroenterology* 16, 2323-2330.
- Twardowschy, A., 2007. Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das cascas de *Tabebuia avellanedae* Lorentz ex Griseb (*Bignoniaceae*). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, 1-76.
- Ueshima, K. Takeuchi, Okabe, K.S., 1992. Effects of sulfhydryl-related compounds on indomethacin induced gastric lesions in rats: role of endogenous sulfhydryls in the pathogenesis). *Japanese Journal of Pharmacology* 58, 157-165.
- Viana, A. F. S. C., Fernandes, H. B., Silva, F. V., Oliveira, I. S., Freitas, F. F. B. P., Machado, F. D. F., Oliveira, R. C. M., 2013. Gastroprotective activity of *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire leaves on experimental ulcer models. *Journal of Ethnopharmacology* 150, 316-323.
- Vismaya, S. M. Belagihally, S. R., Vinay B.J., Shylaja M. D., and Sindhu K. C. Thirumakudalu, 2011. Gastroprotective Properties of Karanjin from Karanja (*Pongamia pinnata*) Seeds; Role as Antioxidant and H⁺, K⁺ATPase Inhibitor. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 747246, 10.
- Yoshikawa T., Naito Y., Kishi A., Tomii T., T. Kaneko, Inuma S., Ichikawa H., M. Yasuda, Takahashi S., Kondo M., 1993. Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. *Gut BM Frontline Gastroenterology and Hepatology* 34, 732-7.
- Wallace J.L, Keenan C.M., Granger D.N., 1990. Gastric ulceration induced by nonsteroidal anti-inflammatory drugs is a neutrophil-dependent process. *American Journal of Physiology* 259, 462-467.

- Wallace, J. L., Granger D.N., 1996. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *The FASEB Journal* 10, 731-740.
- Wallace, J. L., 2001. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 15, 691-703.
- Wallace, J.L., 2008. Prostaglandins, NSAID, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest it self?. *Physiological Reviews* 88, 1547–1565.
- Wallace, J. L., Ferraz, J. G. P., 2010. New Pharmacologic Therapies in Gastrointestinal Disease. *Gastroenterology Clinics of North America S.I.* 39, 709-720.
- Wasman S., Mahmood A., Suan Chua L., Alshawsh M.A., Hamdan S., 2011. Antioxidant and gastroprotective activities of *Andrographis paniculata* (*Hempedu Bumi*) in Sprague Dawley rats. *Indian Journal of Experimental Biology* 49, 767.
- Whittle, B.J., 2003. Gastrointestinal effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 17, 301-313.
- Who (World Health Organization), 2004. Who issues guidelines for herbal medicines. *Bulletin of the World Health Organization* 82, 238-238.
- Williams P.L, Warwick R., 1995. *Gray's Anatomy*. 38th Edition, Edinburgh, Churchill Livingstone, 1683-1815.
- Wolbiś, M., 1989. Flavonol glycosides from *Sedum album*. *Phytochemistry* 28, 2187-2189.
- Wolfe, M.M., Soll, A.H., 1988. The physiology of gastric acid secretion. *New England Journal of Medicine* 319, 1707-1715.
- Yao, X., Forte, J.G., 2003. Cell biology of acid secretion by the parietal cell. *Annual Review of Physiology* 65, 103-131.
- Yoshikawa T., Naito Y., Kishi A., Tomii T., Kaneko T., Iinuma S., Ichikawa H., 1993. Role of active oxygen, lipid peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats. *Gut BM Frontline Gastroenterology and Hepatology* 34, 32–737.
- Young, B., Lowe, J. S., Stevens, A, Heath, J. W., 2007. *Wheater - Histologia Funcional - Texto e Atlas em Cores*. 1ª edição (Tradução da 5ª edição). Rio de Janeiro, Elsevier, 123-125.
- Yu E.W., Blackwell T., Ensrud K.E., Hillier T.A., Lane N.E., Orwoll E., Bauer D.C., 2008. Acid-Suppressive Medications and Risk of Bone Loss and Fracture in Older Adults. *Calcified Tissue International*. S.I. 83, 251-259.

5.ANEXOS**5.1. Artigo Científico**

O artigo científico descrito neste item será submetido à revista *Journal of Ethnopharmacology*, e as normas para a submissão neste periódico encontram-se disponíveis no site:

<http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/506035/authorinstructions>. Acesso em: 04 de fevereiro de 2014.

Título: Atividade antiulcerogênica do extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum* Moc et Sessé ex DC, (bálsamo)

Viviane Carrasco¹, Lorraine Aparecida Pinto¹, Kátia Wolff Cordeiro², Claudia Andréa Lima Cardoso³, Karine de Cássia Freitas^{4a†}

¹Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências da Saúde, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

²Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Faculdade de Medicina, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

³Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Curso de Química, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

⁴Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

^{4a†} 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. Fone: + 55 (67) 3345-7404. E-mail: kcfreitas@gmail.com

Resumo

Relevância etnofarmacológica: A folha de *Sedum dendroideum*, conhecido popularmente como bálsamo, é utilizada no tratamento de úlceras gastrintestinais. A úlcera gástrica atinge grande porcentagem da população mundial e apresenta alta taxa de reincidência. *Objetivo do estudo:* Avaliar o efeito antiulcerogênico de *S. dendroideum* em modelos de úlcera gástrica induzida em ratos *wistar* e aspectos toxicológicos. *Materiais e métodos:* O extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum* (ESD), foi analisado pelos modelos de indução aguda (etanol e indometacina) e crônica (ácido acético). A toxicidade foi avaliada por meio dos testes de toxicidade aguda e subaguda. A secreção gástrica, foi mensurada pelo experimento de ligadura de piloro e pela determinação do volume estomacal, pH e concentração de íons de hidrogênio. O mecanismo de ação gastroprotetora do ESD foi avaliado através do envolvimento do óxido nítrico e dos compostos sulfidrílicos. O screening fitoquímico e o ensaio antioxidante com o radical livre DPPH foram realizados. *Resultados:* Nenhum sinal de toxicidade foi observado. No modelo de etanol, as doses do ESD (25, 50 e 100 mg/kg) reduziram significativamente a lesão gástrica com 66,03%, 71,11% e 70,82% respectivamente, e o lansoprazol (controle positivo) na dose de 30 mg/kg apresentou 84,5% de inibição. No modelo de indometacina, as doses do ESD (25, 50 e 100 mg/kg) e cimetidina (controle positivo) 200 mg/kg, reduziram significativamente a lesão gástrica, com 89,88%, 94,36%, 90,64 % e 89,41%, respectivamente. O tratamento com ESD (50 mg/kg) e cimetidina (200 mg/kg) apresentaram redução significativa nos parâmetros ulcerativos induzidos pelo ácido acético, com 92,99% e 77,16% de cura, respectivamente. No ensaio antioxidante do ESD nas concentrações (25, 50 e 100 mg), o percentual de inibição foi respectivamente de 79,7%, 82,4% e 82,3%. Os mecanismos de ação antiulcerogênica do ESD parecem envolver os compostos sulfidrílicos, pois houve inibição de sua ação nos animais que receberam o bloqueador de compostos sulfidrílicos. Além disso, o ESD aumentou o muco, reduziu a acidez e volume gástrico. *Conclusões:* O extrato da folha de *S. dendroideum* apresentou atividade gastroprotetora, o que parece envolver compostos sulfidrílicos e atividade antioxidante, sendo necessários outros estudos com os constituintes químicos para comprovação da ação antiulcerogênica.

Palavras-chaves: úlcera gástrica, *Sedum*, toxicidade, plantas medicinais.

1. Introdução

A úlcera gástrica é uma das principais doenças gastrointestinais afetando aproximadamente 8-10% da população mundial (Zakaria et al., 2014). A etiologia é multifatorial, mas ocorre devido ao desequilíbrio entre os fatores agressivos (secreção de ácido, pepsina, espécies reativas de oxigênio) e os agentes citoprotetores como secreção de bicarbonato, barreira muco-bicarbonato, prostaglandinas (PGs), fluxo sanguíneo da mucosa, células de renovação e de migração, antioxidantes e alguns fatores de crescimento (Mota et al., 2009; Klein-Jr et al., 2010).

Outros fatores como o consumo de álcool, um estilo de vida estressante, hábitos alimentares inadequados, a utilização de fármacos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), infecção por *Helicobacter pylori* e o tabagismo, contribui para a patogênese das úlceras gástricas (Kang et al., 2012).

O tratamento de úlcera gástrica incluem antiácidos, antagonistas muscarínicos, antagonistas de receptores histamina H₂ e inibidores da bomba de prótons. No entanto, tem-se observado em longo prazo, que esses medicamentos podem causar efeitos secundários a saúde humana tais como induzir a hiperplasia de células enterocromafins, o que pode levar a uma reincidência da doença úlcera gástrica e indução de câncer (Babu et al., 2010; Arakawa et al., 2012), hipersensibilidade, arritmia, distúrbios hematopoiéticos, impotência e ginecomastia (Lakshimi et al., 2009; Wolff Cordeiro et al., 2012). Portanto, existe a procura por agentes antiulcerosos mais eficazes, mais seguros e com menos efeitos secundários.

No caso dos distúrbios gastrointestinais, os extratos vegetais estão entre os mais utilizados no tratamento de úlceras gástricas (Bonacorsi et al., 2009; Donatini et al., 2009; Klein-Jr et al., 2010; Diniz et al., 2013; Viana et al., 2013; Caldas et al., 2014) por apresentarem baixo custo e fácil acesso da população mais carente (Maciel et al., 2002; Veiga et al., 2005; Hiruma-Lima et al., 2006).

A espécie *Sedum dendroideum* Moc et Sessé ex DC (*Crassulaceae*), conhecida como bálsamo, é usada popularmente para o tratamento de úlceras gástricas, distúrbios de inflamação e feridas (Carlini et al., 1970; Lorenzi e Souza, 2001; Malvar et al., 2004; Coelho de Souza et al., 2004; De Melo et al., 2009). Desta forma, este estudo tem como finalidade investigar os prováveis efeitos antiulcerogênicos do extrato bruto hidroetanólico da folha do bálsamo (*Sedum dendroideum*) utilizando modelos de úlcera gástrica induzidas em ratos.

2. Materiais e métodos

A pesquisa realizada corresponde a um estudo experimental, aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD – com o protocolo de nº 017/2012, conforme a Legislação 11.794 de 8 de outubro de 2008 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (Brasil, 2013; Conceia, 2013) e Guia Brasileiro de Boas Práticas para Eutanásia de animais do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), Resolução nº 1.000/2012. A pesquisa foi desenvolvida nos laboratórios e biotério da UFGD.

2.1. Coleta, identificação e extração do material vegetal

A espécie *Sedum dendroideum* Moc et Sessé ex DC, *Crassulaceae*, foi coletada no horto da UFGD, localizado no município de Dourados, MS, Brasil. A planta foi identificada pela professora Dr^a Zefa Valdivina Pereira da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) e a excisata depositada no Herbário desta mesma universidade – DDMS, sob o número 4892.

As folhas passaram por processo de secagem em estufa ventilada Tecnal TE-394/5 a 40°C com duração de 8 dias, seguido da trituração das folhas e posterior realização de extrações sucessivas de 7 dias com solvente orgânico etanol 70% em temperatura ambiente, agitação manual diária e duração de 3 semanas. Em seguida, a mistura foi filtrada e concentrada em conjunto de rotoevaporação com o rotoevaporador Quimis Q.344 B2, banho termostaticado Tecnal TE-2005 e lavador de gás com vácuo Marconi MA 053, sob pressão reduzida, em temperatura inferior a 40°C. Após o extrato hidroetanólico foi congelado e a finalização do preparo com o liofilizador AISI 304. O extrato bruto hidroetanólico teve um rendimento de 9,21 % em relação à massa seca de 500g, com massa-volume de 34,54g.

2.2. Animais

Foram utilizados ratos *wistar* machos e fêmeas, pesando entre 180-250g, obtidos do biotério da UFGD, os quais foram alimentados com ração Purina Labina[®] para roedores e água *ad libitum*, mantidos em temperatura controlada (22°C ± 2), com ciclo claro-escuro de

12 horas. Antes de iniciar os experimentos, os animais foram mantidos em período de adaptação por 5 dias ao ambiente de ensaio.

A anestesia dos animais foi realizada com xilazina (10-15 mg/Kg) e quetamina (80-90 mg/Kg) via intraperitoneal.

2.3. Avaliação da toxicidade aguda

A toxicidade aguda do extrato da folha do bálsamo foi avaliada conforme a metodologia adaptada do *Guideline for Testing of Chemicals – Acute oral toxicity - Up-and-down-procedure (UDP)*. Para tanto, foram utilizadas ratas *wistar*, de 8 a 12 semanas, nulíparas e não-prenhas, as quais permaneceram por período de adaptação de no mínimo 5 dias, sob as condições ambientais já descritas anteriormente. Os animais foram divididos em 2 grupos (n=5) sendo que um recebeu via oral, pelo método de gavagem, 5mL/kg de salina e o outro 2000 mg/kg de extrato hidroetanólico da folha do bálsamo (OECD, 2008).

Após o tratamento, os animais foram observados nos primeiros 30 minutos, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 12h, 24h, 48h e 72h e periodicamente durante 14 dias e pesados uma vez ao dia. (Souza - Brito, 1994; OECD, 2008).

Neste período, as alterações comportamentais sistemáticas foram avaliadas conforme o *screening* hipocrático, o qual fornece uma estimativa geral de natureza farmacológica e toxicológica de uma substância desconhecida sobre o estado consciente e disposição, atividade e coordenação do sistema motor, reflexos, atividades sobre o sistema nervoso central e autônomo (Lucio et al., 2000).

Ao final dos 14 dias os animais foram submetidos à eutanásia, seus órgãos vitais (coração, pulmão, fígado, baço e rins) retirados, pesados e analisados macroscopicamente para averiguar uma possível alteração (Souza - Brito, 1994).

2.4. Avaliação da atividade gastroprotetora aguda

2.4.1 Úlcera gástrica induzida por etanol

De acordo com a metodologia adaptada de Morimoto et al. (1991), os animais foram divididos em 5 grupos (n=7). Estes foram submetidos ao jejum de 12 horas, com livre acesso a

água, e após este período, foram pré-tratados por via oral (gavagem) com 5mL/kg de solução salina (controle negativo), 30mg/kg de lansoprazol (controle positivo), e com o extrato hidroetanólico da folha do bálsamo *Sedum dendroideum* (ESD) nas diferentes dosagens: 25, 50, 100 mg/kg, diluídos em solução salina acrescida de tween 2%. Uma hora após o tratamento, todos os ratos receberam 0,5 mL/100 g de peso corporal de etanol 70% para induzir a úlcera gástrica (Mello et al., 2008). Decorrido 1 hora, os animais foram submetidos à eutanásia por meio do excesso de anestésico via intraperitoneal, seus estômagos foram retirados e abertos ao longo da maior curvatura, lavados com água corrente, colocados entre placas de vidro e digitalizados para aferir área total de lesão (mm²) e área relativa lesada (%) com auxílio do *software* EARP conforme a metodologia adaptada de Klein et al. (2010). As úlceras foram classificadas como: Nível I, área da úlcera <1 mm²; nível II, área da úlcera 1-3 mm²; e nível III, área da úlcera > 3 mm². Os seguintes parâmetros foram determinados: (a) índice de lesões ulcerativas (ILU) como: 1 × (número de úlceras de nível I) + 2 × (número de úlceras nível II) + 3 × (número de úlceras nível III), (b) porcentagem de cura, o qual foi determinado da seguinte forma: % C = 100 - (ILU tratados × 100/ILU controle negativo); (c) área total da lesão; (d) porcentagem de área de lesão em relação à área do total do estômago (Andrade et al., 2006).

2.4.2. Úlcera gástrica induzida por indometacina

Este modelo foi realizado de acordo com Hayden et al., 1978, com modificações. Os ratos foram divididos em 5 grupos (n=7). Após jejum de 12 horas, com livre acesso a água, cada grupo recebeu, por via oral, o tratamento correspondente. Um dos grupos foi tratado com 5 ml/kg de solução salina (controle negativo), outro com cimetidina na dose de 200 mg/kg (controle positivo), e outros três grupos receberam o extrato hidroetanólico da folha do *Sedum dendroideum* (ESD) nas diferentes dosagens: 25, 50 e 100 mg/kg, respectivamente, diluído em solução salina acrescida de tween 2%. Após 1 hora dos tratamentos, cada animal recebeu via gavagem, indometacina na dose de 100 mg/kg diluída em 0,5% de bicarbonato de sódio. Decorrido 12 horas, os animais foram submetidos a eutanásia por meio do excesso de anestésico via intraperitoneal, sendo os estômagos retirados, abertos ao longo da maior curvatura e lavados, para realização da contagem e avaliação das lesões produzidas conforme descrito anteriormente.

2.5. Avaliação da atividade gastroprotetora crônica

2.5.1. Úlcera gástrica induzida por ácido acético

Os animais foram divididos em três grupos e submetidos a procedimento cirúrgico após jejum de 12 horas, com livre acesso a água. Os animais foram anestesiados, feito uma incisão epigástrica na linha média, com o intuito de exteriorizar o estômago. Foi aplicado em todos os animais, com auxílio de uma microseringa, 0,03mL de ácido acético a 30% na submucosa estomacal, sendo que no momento seguinte a injeção, o polegar foi colocado sobre o local onde a agulha estava inserida, por 45 segundos, de modo a evitar o retorno da solução aplicada e em seguida realizado a sutura da incisão e os animais foram alimentados *ad libitum* (Okabe e Amagase, 2005).

Após 24 horas da cirurgia, cada grupo recebeu, por via oral pelo método de gavagem, o tratamento correspondente. Um dos grupos foi tratado com 5 mL/kg de solução salina (controle negativo), o outro grupo com cimetidina na dose de 200 mg/kg (controle positivo), e o terceiro recebeu ESD na dose de maior efetividade (50 mg/Kg), diluído em solução salina com tween 2%, diariamente em dose única, durante 14 dias.

Após as duas semanas de tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia por meio de excesso de anestésicos via intraperitoneal, os estômagos foram retirados, abertos ao longo da maior curvatura e lavados, sendo a área da lesão aferida conforme descrito anteriormente.

2.4.4. Avaliação da toxicidade subaguda

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

Assim, durante o período de 14 dias, os possíveis efeitos do ESD na dose de 50 mg/Kg, relacionados às alterações do peso corporal, pele, olhos, mucosa, pêlos, sistema nervoso central, respiratório, circulatório, atividade somatomotora e com relação ao padrão comportamental, foram diariamente observadas nos ratos tratados. No momento anterior a

eutanásia, sob anestesia os animais tiveram 2mL do seu sangue retirado por punção cardíaca. Após centrifugação (4000 rpm x 10 min), o soro foi encaminhado para análise bioquímica, na qual, foi quantificado aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina para avaliar lesões hepáticas, ureia e creatinina para avaliar lesões renais. Tais análises foram realizadas por um sistema de análises bioquímicas semi-automático com o Roche Cobas Mira Plus CC 28293 (Vasconcelos et al., 2010).

2.5. Análise e Screening fitoquímico qualitativo e quantitativo do extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum*

O extrato de *Sedum dendroideum* foi submetido a um screening fitoquímico para verificar as principais classes de metabólitos secundários presentes (Da Silva et al., 2010) e posteriormente o isolamento das substâncias.

2.5.1. Teste de flavonoides

A cada 500 μ L do extrato do bálsamo solubilizado em metanol (100 μ g mL⁻¹) foi adicionado 1,5 mL de álcool etílico 95%, 0,1 mL de cloreto de alumínio 10% (AlCl₃.6H₂O), 0,1 mL de acetato de sódio (NaC₂H₃O₂.3H₂O) (1 mol L⁻¹) e 2,8 mL de água destilada. Deixou-se reagir à temperatura ambiente por 40 minutos. Fez-se a leitura no espectrofotômetro Bel 2000UV num comprimento de onda de 415 nm. O mesmo procedimento foi realizado para o branco, sendo substituídos 500 μ L de amostra por 500 μ L do solvente utilizado no preparo das soluções (Lin e Ang T., 2007). 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 μ g) 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 $r = 0,9995$), a qual teve seus dados empregados no cálculo das amostras reais ($y = \text{absorbância}$, $a = \text{coeficiente linear}$, $b = \text{coeficiente angular}$, $x = \text{massa } (\mu\text{g})$ e $r = \text{coeficiente de correlação}$). O resultado foi expresso em mg de quercetina por g de extrato. Todos os testes foram realizados em triplicata.

2.5.2. Teste de fenois

O teste de fenois foi realizado com a mesma amostra do teste de flavonoides. A cada 100 μ L das amostras adicionou-se 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio 2%, 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (1:10 v/v) e 1 mL de água destilada. Reagiu-se por 30 minutos. Fez-se a leitura no espectrofotômetro num comprimento de onda de 760 nm. O mesmo procedimento foi realizado para o branco, sendo substituído 100 μ L de amostra por 100 μ L do solvente utilizado no preparo das soluções (Djeridane et al., 2006). Para calcular a concentração de fenois foi preparada uma curva analítica (1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 30,0; 40,0 μ g) 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 em mg de ácido gálico por g de extrato. Todos os testes foram realizados em triplicata.

2.5.3. Determinação de taninos condensados

Foram determinados pela reação da vanilina, conforme método de Broadhurst e Jones (1978), adaptado por Agostini-Costa et al. (1999). Visando manter a estabilidade da reação, os tubos de ensaio de 25 mL (com tampa de rosca e teflon) foram cobertos com papel-alumínio. Adicionaram-se 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 absorbância foi realizada a 510 nm, dentro de um prazo máximo de 1 hora. O mesmo procedimento foi para o branco e para os padrões. A quantificação foi realizada por meio de curva de calibração externa, empregando-se a catequina como padrão. Os resultados foram expressos em mg de catequina equivalente (CAE) por 100 g de extrato. Todos os testes foram realizados em triplicata.

2.5.4. Isolamento das substâncias do extrato ESD

O extrato foi fracionado por XAD-2 (Supelco, Bellefonte , PA , EUA) em cromatografia em coluna (30 cm x 3 cm). O extrato (5,27 g) foi eluído com 0,7 L de água, seguido por 0,8 L de metanol e, finalmente, com 0,3 L de acetona. Uma alíquota de 1,97 g da fração metanólica foi dissolvida em 10 mL de metanol e fracionado por cromatografia em Sephadex LH-20 (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia) em cromatografia de coluna (70 cm x 3 cm) eluindo com metanol a uma taxa de $0,3 \text{ mL min}^{-1}$ e foram coletadas 56 frações de 7 mL. As frações foram combinadas de acordo com o seu comportamento por meio de cromatografia em camada fina (placas de sílica gel) empregando como eluente acetato de etila: n- propanol: água 123:7:70 em volume, fase superior. A fração 10-15 foi purificada utilizando polivinilpolipirrolidona (Sigma, St. Louis, MO, EUA) em cromatografia em coluna (10 x 2 cm) eluindo com metanol, resultando no isolamento da rutina (9 mg). Uma alíquota de 0,97 g da fração cetônica, foi dissolvida em 5 mL de metanol e fracionado por cromatografia em Sephadex LH - 20 (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia) em cromatografia de coluna (80 cm x 2 cm), eluída com metanol, a uma taxa de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$ e foram coletadas 37 frações de 8 mL. As frações foram combinadas de acordo com o seu comportamento por meio de cromatografia em camada fina (placas de sílica gel) e como eluente acetato de etila-metanol, 80:20 v:v). A identificação dos compostos foi realizada empregando ressonância magnética nuclear e espectrometria de massa e suas estruturas foram confirmadas pela comparação com dados da literatura (Agrawal, 1989; Harborne, 1996; Berrondo, 2003).

2.5. Ensaio antioxidante com o radical livre DPPH

O teste de atividade antioxidante com o radical livre DPPH (1,1 – difenil – 2 picril – hidrazila) foi realizado nas amostras 25, 50 e 100 mg do extrato ESD. Preparou-se uma solução de DPPH (40 $\mu\text{g/mL}$) em metanol. Adicionou-se 1,00 mL da solução de DPPH para cada 0,50 mL de amostra. Deixou-se reagir por 30 minutos antes de se fazer a leitura em espectrofotômetro a 517nm. Fez-se o mesmo procedimento para o branco.

Através das absorbâncias foi calculado o percentual de inibição (PI) (Equação 1) (Kumaran e Karunakaran, 2006). O padrão utilizado foi a quercetina sendo preparadas soluções em concentrações entre 20-320 $\mu\text{g/ mL}^{-1}$.

$$\%PI = \frac{[A_o - A]}{A_o} \times 100$$

A_o

Equação 1: Utilizada para verificação do percentual de inibição, onde PI é o percentual de inibição, **A** corresponde à absorbância da amostra em DPPH decorridos 30 minutos de reação e **A_o** corresponde à absorbância do solvente em DPPH decorridos 30 minutos de reação (Kumaran e Karunakaran, 2006).

2.6. Mecanismo de ação antiúlcera

Como foi observado uma resposta positiva em relação à atividade gastroprotetora deste extrato, o provável mecanismo de ação do mesmo foi avaliado.

2.6.1. Avaliação do óxido nítrico

Para avaliar o envolvimento do óxido nítrico endógeno com a ação protetora do extrato do *Sedum dendroideum* faz-se necessário utilizar o L-NAME (N-nitro-L-arginina metil éster), o qual corresponde a um inibidor da enzima NO sintase.

Conforme a metodologia adaptada de Matsuda et al., (1999), foram utilizados ratos wistar (n=7), sob jejum. Três grupos foram previamente tratados com 70mg/kg de L-NAME (diluído em salina) e outros três grupos com 5mL/kg salina, ambos via intraperitoneal. Após 30 minutos, tanto os animais tratados com L-NAME, quanto salina receberam o seguinte tratamento via oral: 5mL/kg de salina (controle negativo), 200mg/kg carbenoxolona (controle positivo) e ESD na dose de 50 mg. Após 1 hora, todos receberam 0,5 mL/100 g de peso corporal de etanol 70% via oral para induzir as lesões gástricas. Uma hora depois os animais foram submetidos à eutanásia por meio do excesso de anestésico via intraperitoneal, e em seguida os estômagos foram retirados e abertos ao longo da curvatura maior para avaliar as lesões ulcerativas.

2.6.2. Avaliação dos compostos sulfidrílicos

O NEM (N-metil-maleimida) corresponde a uma substância capaz de quelar os compostos sulfidrílicos, que apresentam propriedades antioxidantes relacionados à

gastroproteção. Após o jejum, três grupos foram previamente tratados com 10mg/kg de NEM (diluído em salina) e outros três grupos com salina, ambos via intraperitoneal. Após 30 minutos, tanto os animais tratados com NEM quanto salina receberam o seguinte tratamento via oral: 5mL/kg de salina (controle negativo), 200mg/kg carbenoxolona (controle positivo) e ESD na dose de 50 mg. Após 1 hora, todos receberam 0,5 mL/100g de peso corporal de etanol 70% via oral para induzir as lesões gástricas. Uma hora depois os animais foram submetidos à eutanásia, e em seguida os estômagos foram retirados e abertos ao longo da curvatura maior para avaliar as lesões ulcerativas como descrito anteriormente (Faure e Lafond, 1995; Matsuda et al., 1999).

2.6.3. Modelo de determinação da secreção gástrica – Ligadura do piloro

Este experimento foi realizado de acordo com o método descrito por Monteiro et al., 2012, com algumas modificações. Os ratos *wistar* com peso entre 180 a 250 g foram divididos em grupos (n=7) e submetidos ao jejum por 12h. Os mesmos foram anestesiados e submetidos à laparotomia, para realizar a ligadura de piloro, assim como para administrar via intraduodenal os diferentes tratamentos: 5 mL/kg salina (controle negativo), 200 mg/kg cimetidina (controle positivo), e o ESD na dose de 50 mg/Kg diluído em solução salina com tween 2%. Depois dos tratamentos, as incisões foram suturadas. Os animais foram submetidos à ligadura cirúrgica do piloro e mantidos anestesiados durante todo o período experimental (4h). Nesta etapa, dois tempos de latência foram avaliados, isto é, 2 e 4 horas após a cirurgia. Decorrido 4 h os animais foram submetidos à eutanásia por excesso de anestésico. As incisões foram reabertas e a região da cárdia pinçada para evitar perda do conteúdo gástrico. Os estômagos foram retirados para determinação do conteúdo estomacal, pH e concentrações de íons de hidrogênio.

Após a determinação do volume, foi adicionado 10 mL de água destilada à amostra e centrifugada por 10 minutos a 4000 rpm. No sobrenadante foi determinado o pH e titulado com solução de NaOH 0,01 mol.L⁻¹, utilizando fenolftaleína como marcador. Os resultados foram expressos em g (volume), pH e mEq/L/4h (concentração de íons de hidrogênio).

2.6.4. Modelo de determinação de muco no conteúdo gástrico - Ligadura do piloro

Foi utilizada a metodologia adaptada de Sun et al. (1991). Os ratos foram divididos em quatro grupos e após 12 h de jejum, sob anestesia, foram submetidos à laparotomia, para realizar a ligadura de piloro. Imediatamente, foi administrado intraduodenalmente com os respectivos tratamentos para cada grupo, 50 mg/kg de ESD, 200 mg/kg de carbenoxolona (controle positivo), 200 mg/kg de cimetidina, ou 5 mL/kg de salina (controle negativo). Os animais foram suturados e quatro horas após submetidos a eutanásia. O abdômen foi aberto, e outra ligadura foi realizada no esôfago, para evitar extravasamento da secreção gástrica. Após a retirada dos estômagos, eles foram pesados em balança analítica, e adicionado 10 mL da solução (Alcian Blue 0,02%, sacarose 0,16M, acetato de sódio 0,05M, pH 5,8, a 25°C) incubados por 24 horas. Após este período, o tecido estomacal foi retirado e o líquido centrifugado a 4000 rpm por 10 minutos. A leitura do sobrenadante foi medida por espectrofotometria a 615 nm em triplicata. Os resultados são expressos em quantidade de corante aderido ao muco (mg/g peso do tecido).

2.7. Análise estatística

Os resultados são expressos como a média \pm E.P.M. A análise estatística foi determinada por meio da análise de variância (ANOVA). O teste t de Student foi utilizado para comparar dois grupos (toxicidade aguda). Quando a análise demonstrou uma diferença estatisticamente significativa, foi complementada com o teste de Tukey, fixando em 5 % o nível de rejeição da hipótese de nulidade. Os cálculos foram realizados com o auxílio do software programa Jandel Sigma-Start 3.5 (Systat. software, Inc, USA).

3. Resultados e discussão

A ausência de toxicidade aguda comprovada no experimento em ratas *wistar* pela administração (v.o) de 2.000 mg/kg do ESD, garante segurança para pesquisa, bem como fortalece a continuidade do estudo com intuito de investigar o bálsamo como planta com potencial para tratamento de úlcera gástrica conforme relatado pelo conhecimento popular. Durante os 14 dias de observação, os sinais de toxicidade, como perda de massa corporal,

inibição do crescimento, alterações comportamentais (tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono e coma) e clínicas, consumo de ração, ingestão hídrica, peso dos órgãos analisados (coração, pulmão, fígado, baço, rins), não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quando comparadas ao grupo controle (dados não mostrados).

Neste experimento, o estudo do efeito gastroprotetor do ESD foi iniciado com a indução de úlcera aguda em ratos por meio do etanol e indometacina. Estes dois modelos são os testes mais comumente empregados nas avaliações de atividade antiúlcera (Oyagi et al., 2010).

A administração intragástrica do etanol constitui um modelo clássico de indução de lesões gástricas em animais (Rios et al., 2010; Ali Khan et al., 2013), produzindo hemorragia e necrose na mucosa, diminuição da circulação, causando peroxidação lipídica, reduzindo a secreção de bicarbonato e a produção de muco, além de modificar a composição de glicoproteínas (Marhuenda et al., 1993; Raffin, et al. 2007).

Tabela 1

Efeito do extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum* (ESD) em diferentes doses e do lansoprazol em úlceras gástricas induzidas por etanol em ratos

Tratamentos (v.o.)	N	Dose (mg/kg)	Área total de lesão (mm ²)	% Área de lesão	Índice de lesão ulcerativo	Inibição (%)
Salina	7		210,90±18,39	57,07±4,36	627,36±53,88	
Lansoprazol	7	30	34,73±6,38*	10,48± 2,09*	97,53±19,13*	84,5
ESD	7	25	79,21±12,77*	23,85±3,72*	230,22±37,83*	66,03
	7	50	68,61±8,79*	21,17±4,31*	195,75±27,58*	71,11
	7	100	73,64±11,83*	21,13±4,08*	209,84±35,11*	70,82

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p<0,001$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

Observou-se neste estudo que o ESD inibiu significativamente a formação de úlcera aguda induzida por etanol, nas doses de pré-tratamento (v.o) de 25, 50 e 100 mg/Kg, comparado ao grupo controle negativo (Tabela 1). Isto pode ser devido à presença no ESD de metabólitos secundários com potencial de atividade gastroprotetora e antioxidante.

Outro fator agressor a mucosa gástrica são os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), tais como indometacina e aspirina, amplamente prescritos na prática clínica no tratamento da dor, febre e inflamação (Simmons e Botting, 2004).

O ESD nas doses de 25, 50 e 100 mg/Kg de pré-tratamento (v.o) no modelo experimental de indução de úlcera gástrica aguda por indometacina reduziu respectivamente a úlcera em 89,88%, 94,36% e 90,64% respectivamente, com diferença significativa se comparado ao grupo controle negativo (Tabela 2).

É conhecido que os AINEs agem inibindo a ciclooxigenase 1 e 2, diminuindo a síntese de prostaglandinas (Cavallini, 2006), as quais estão envolvidas na produção de muco, bicarbonato e no aumento do fluxo sanguíneo, protegendo assim a mucosa gástrica (Laine et al., 2008; Braz et al., 2013).

Tal resultado sugere o possível envolvimento de prostaglandinas no efeito gastroprotetor agudo proporcionado pelo ESD. O aumento da produção de prostaglandinas gera uma maior resistência da mucosa gástrica contra vários agentes, tais como drogas anti-inflamatórias (Wallace, 2001; Arun e Asha, 2008; Nguielefack et al., 2008).

Tabela 2

Efeito do extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum* (ESD) em diferentes doses e da cimetidina em úlceras gástricas induzidas por AINES em ratos

Tratamentos (v.o.)	n	Dose (mg/kg)	Área total de lesão (mm ²)	% Área de lesão	Índice de lesão ulcerativo	Inibição (%)
Salina	7		10,14±1,93	2,18±0,45	16,96±3,23	
Cimetidina	7	200	2,52±0,59*	0,27±0,06*	2,52±0,59*	89,41
ESD	7	25	2,46±0,62*	0,33±0,09*	3,04±0,88*	89,88
	7	50	1,47±0,37*	0,16±0,04*	1,58±0,45*	94,36
	7	100	1,36±0,26*	0,19 ±0,05*	1,88±0,48*	90,64

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p < 0,001$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

Não houve diferença significativa entre as doses testadas nos modelos de indução de úlcera aguda. Diante disso, estes resultados indicam que a relação dose-efeito ocorre provavelmente abaixo de 100 mg/kg, uma vez que não houve diferença significativa acima de 25 mg/kg. Assim, optou-se pela dose de 50 mg/kg do ESD no modelo de úlcera induzida por ácido acético.

Para avaliar a potencialidade do ESD na cura da úlcera, foi aplicado ácido acético a 30% na submucosa estomacal, sendo este modelo o que mais se aproxima da úlcera gástrica humana, pois os danos causados pelo ácido acético penetram na mucosa gástrica, submucosa

e na camada muscular (Bonamin et al., 2011). O ESD apresentou um elevado índice de cura da úlcera crônica, de 92,99% em relação ao controle negativo. A cimetidina apresentou cura de 77,16 % em relação ao controle negativo, ambos com diferença significativa (Tabela 3).

Tabela 3

Efeito do extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum* (ESD) e da cimetidina em úlceras gástricas induzidas por ácido acético em ratos

Tratamentos (v.o.)	n	Dose (mg/kg)	Área total de lesão (mm ²)	% Área de lesão	Índice de lesão ulcerativo	Inibição (%)
Salina	7		103,37±8,48	40,97±4,31	310,11±25,43	-
Cimetidina	7	200	23,69±7,44*	7,59± 2,34*	70,83±22,41*	77,16
ESD	7	50	7,34±1,88*	2,45±0,69*	21,69±5,85*	92,99

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p < 0,001$ comparado com o grupo controle negativo (salina).

A toxicidade subaguda foi avaliada após os 14 dias de tratamento e evidenciado a ausência de sinais de toxicidade, sem alterações no peso dos órgãos, mucosa, alterações motoras e peso corporal (dados não mostrados). Nas análises bioquímicas nenhum parâmetro apresentou diferença estatisticamente significativa com relação ao grupo controle negativo (Tabela 4).

Tabela 4

Quantificação bioquímica da aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (U/L), creatinina e ureia em ratos tratados com salina (controle), cimetidina (200 mg/kg) ou *Sedum dendroideum* (ESD, 50 mg/kg) por 14 dias

Tratamento (v.o.)	N	AST (U/L)	ALT (U/L)	Fosfatase alcalina (U/L)	Creatinina (mg/dL)	Uréia (mg/dL)
Controle	7	88,57±6,86	30,57±3,04	77,42±4,35	0,25±0,03	38,21±2,11
Cimetidina	7	79,57±4,96	27,42±1,57	71,00±5,30	0,27±0,02	38,28±2,78
ESD	7	71,42±5,06	26,42±2,23	68,28±4,26	0,24±0,03	32,02±1,94
Valor de p		0,13	0,45	0,38	0,79	0,12

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

Após estudo da toxicidade e da atividade antiulcerogênica aguda e crônica do ESD foi realizado uma avaliação qualitativa e quantitativa do extrato visando analisar quais os

possíveis compostos ou classes desses que poderiam estar envolvidos na atividade gastroprotetora.

A análise fitoquímica preliminar do extrato bruto hidroetanólico de *Sedum dendroideum* mostrou a presença de flavonoides, fenois e taninos, e a partir de então seus teores foram avaliados (Tabela 5). O extrato também foi fracionado por cromatografia em coluna e foram isolados quercetina, rutina e luteolina. O efeito gastroprotetor e antioxidante de quercetina e rutina são bem conhecidos (De la Lastra et al., 1994; La Casa et al., 2000; Rodrigues et al., 2012), o que justifica a atividade gastroprotetora do extrato.

Tabela 5

Quantidade de teores de fenois, flavonoides e taninos no extrato de *Sedum dendroideum* (ESD)

Amostras	Fenois (mg/g)	Flavonoides (mg/g)	Taninos (mg/g)
ESD	323,19	232,07	80,12
CV(%)	1,43	1,85	1,34

Em modelos experimentais, os flavonoides, terpenoides e taninos apresentaram atividade antiúlcera (Rodriguez et al., 2004; Marques et al., 2006; Vasconcelos et al., 2010), por atuar na proteção da mucosa gástrica, a partir da produção de prostaglandina, por inibir a secreção de histamina, eliminar radicais livres e evitar o crescimento de *Helicobacter pylori* (Borrelli e Izzo, 2000; Gonzalez e Di Stasi, 2002).

Os radicais livres desempenham um papel importante em lesões ulcerativas e erosivas do trato gastrointestinal (Borrelli e Izzo, 2000), pela produção de agentes pró-inflamatórios com efeitos nocivos as células e tecidos, aumentando o processo de peroxidação lipídica, esfoliação, erosão epitelial e diminuição das defesas do sistema antioxidante do estômago (Cadirci et al., 2007) e um retardo na cicatrização de úlceras gástricas crônicas induzidas por ácido acético em ratos (Shii et al., 1992).

De fato, há uma relação existente entre o aumento nos níveis de radicais livres na úlcera péptica e diminuição das defesas antioxidantes endógenas (Koutroubakis et al., 2004; Hamaishi et al., 2006; Alimi et al., 2011).

Neste estudo o ensaio de atividade antioxidante com o radical livre DPPH foi realizado nas amostras do ESD nas concentrações 25, 50 e 100 mg, com percentual de inibição,

respectivamente, de 79,7%, 82,4% e 82,3%. Isso evidencia a ação antioxidante do extrato, corroborando com sua ação antiulcerogênica aguda e crônica.

Foi avaliado o provável envolvimento de compostos sulfidrílicos no efeito gastroprotetor do ESD usando o inibidor de compostos sulfidrílicos NEM (N-etilmaleimida). Observou-se a partir do pré-tratamento com NEM, que o ESD alterou sua atividade gastroprotetora, evidenciando outro possível mecanismo de ação (Tabela 6).

Tabela 6

Efeito do extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum* (ESD) sobre lesões gástricas induzidas por etanol em ratos pré-tratados com inibidor do óxido nítrico sintase (L-NAME) ou bloqueador de compostos sulfidrílicos (NEM)

Pré-tratamentos (i.p.)	Tratamentos (v.o.)	n	Área total de lesão (mm ²)	%Área de lesão	Inibição (%)
Salina	Salina	7	177,44±19,35	50,52±6,29	-
Salina	Carbenoxolona	7	1,95±0,88*	0,27±0,17*	99,13
Salina	ESD	7	27,66±4,70*	7,84±1,61*	70,10
L-NAME	Salina	7	326,96±20,78	79,29±4,33	-
L-NAME	Carbenoxolona	7	285,62±22,97*	73,41±7,49*	13,06
L-NAME	ESD	7	93,39±7,38*	28,19±4,97*	75,21
Salina	Salina	7	210,33±13,73	57,76±4,07	-
Salina	Carbenoxolona	7	0,61±0,51*	0,12±0,10*	99,85
Salina	ESD	7	58,24±7,35*	17,64±2,92*	73,90
NEM	Salina	7	321,88±13,92	98,84±5,98	-
NEM	Carbenoxolona	7	95,08±18,86*	48,28±6,92*	47,53
NEM	ESD	7	153,66±9,75*	67,23±3,06*	33,11

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguida do teste de Tukey. * $p < 0,001$ comparado com o respectivo grupo controle negativo (salina).

O aumento de compostos sulfidrílicos na mucosa exerce um efeito gastroprotetor (Hiraishi et al., 1994; Sener-Muratoglu et al., 2001), por estimularem a produção de muco gástrico, por manterem a integridade da barreira mucosa se ligando aos formadores de

radicais livres, especialmente no que se relaciona à ação de agentes nocivos, tais como o etanol (Kimura et al., 2001).

Além disso, o óxido nítrico (NO), produzido pela via NO-sintase, tem sido reconhecido como um mediador fundamental nos mecanismos de defesa gástrica porque estimula a produção de muco, inibe a aderência de neutrófilos às células endoteliais, e principalmente, aumenta o fluxo sanguíneo da membrana da mucosa gástrica (Coruzzi et al., 2000; Olinda et al., 2008). A inibição da produção de NO-sintase através da utilização do L-NAME (N-nitro-L-arginina metil éster) tem sido pesquisada na atividade gastroprotetora de vários extratos vegetais (Ferreira et al., 2008; Gomes et al., 2009). Na atual investigação, o pré-tratamento com L-NAME não reverteu o efeito gastroprotetor do ESD, mostrando que o efeito do ESD não depende do óxido nítrico (Tabela 6).

Neste estudo, também foram testados os efeitos do ESD na atividade de secreção gástrica, pH, muco, volume e acidez gástrica. Para isso, foi realizada a cirurgia de ligadura de piloro, a qual induz danos na parede estomacal, mediada pela retenção de ácido gástrico (In-Geun Jo et al., 2013). Trata-se de um procedimento importante, que mostra as possíveis mudanças nos parâmetros relativos ao conteúdo gástrico (Barros et al., 2008).

Tabela 7

Quantificação do muco aderido na mucosa gástrica de ratos tratados com extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum* (ESD)

Tratamento (i.d.)	n	Dose (mg/kg)	Alcian blue quelado (mg/g peso do tecido)
Controle	7	-	1,48±0,04
Carbenoxolona	7	200	2,12±0,08*
Cimetidina	7	200	1,60±0,06*
ESD	7	50	1,97±0,03*

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey. * $p < 0,001$ comparado com o grupo controle.

As causas da úlcera gástrica em modelos de ligação pilórica são evidenciadas pelo aumento da secreção ácida, levando à digestão automática e ruptura da barreira da mucosa constituída por uma camada de muco secretado pelas células epiteliais, a qual é formada por glicoproteínas denominadas mucinas (aproximadamente 5%), que conferem viscoelasticidade ao mesmo (Laine et al., 2008; Dharmani et al., 2009; Monteiro et al., 2011).

Observou-se que a administração do ESD via intraduodenal na dose de maior efetividade (50 mg) diminuiu significativamente a secreção gástrica, volume total e acidez $[H^+]$ mEq/mL, e aumentou o pH do suco gástrico em relação ao controle salina. Estes resultados mostram que a atividade antiúlcera de ESD também pode ser devido ao seu provável efeito antissecretório (Tabela 7 e 8).

Tabela 8

Efeito do extrato hidroetanólico de *Sedum dendroideum* (ESD) administrado intraduodenalmente nos parâmetros do suco gástrico, obtidos a partir do modelo de ligadura de piloro

Tratamento (i.d.)	n	Dose (mg/kg)	pH	Volume Gástrico (mL)	$[H^+]$ mEq/mL/4h
Controle	7	-	5,80±0,27	1,58±0,15	35,96±4,77
Cimetidina	7	200	7,16±0,17*	0,64±0,09*	12,64±2,18*
ESD	7	50	6,793±0,19*	1,18±0,08*	15,34±3,60*

Resultados em média±E.P.M. ANOVA seguido do teste de Tukey. * $p < 0,001$ comparado com o grupo controle.

O bálsamo, *Sedum dendroideum*, pertence ao gênero *Sedum* (*Crassulaceae*) que engloba um grande número de espécies usadas em diversos tratamentos farmacológicos. Estudos químicos de espécies *Sedum* já conduziram ao isolamento de várias classes de substâncias, tais como alcaloides, taninos, flavonoides e compostos cianogênicos (Nahrstedt et al., 1982; Mulinacci et al., 1995; Stevens et al., 1996; De Melo et al., 2005). Tais compostos provavelmente estão relacionados aos resultados positivos encontrados neste estudo, sendo necessário investigar se tais substâncias atuam isoladamente ou se há um sinergismo entre elas.

CONCLUSÃO

Com base nestes resultados, comprovou-se o benefício descrito pelo uso popular da planta medicinal *Sedum dendroideum* (bálsamo) no tratamento de úlcera gástrica, com atividade gastroprotetora nos modelos experimentais de prevenção e cura da úlcera. É sugerido que a ação antiulcerogênica observada pode estar relacionada com a presença dos metabólitos secundários flavonoides, fenois e taninos, identificados neste extrato, sendo dependente dos compostos sulfidrílicos para sua ação antiulcerosa. Além disso, o ESD nos

parâmetros avaliados não desencadeou sinais de toxicidade nos animais e a dose de 50 mg/Kg com maior efeito gastroprotetor. Tais dados sugerem o potencial para o desenvolvimento de uma nova droga antiulcerogênica a partir do extrato de *Sedum dendroideum* (bálsamo), no entanto, mais estudos são necessários para avaliar o mecanismo exato de ação, bem como a realização de modelos experimentais que possam investigar a ação gastroprotetora dos constituintes químicos isolados presentes, assim como estudos clínicos para recomendar o uso pela população.

Agradecimentos

Somos gratos à Profa. Dra. Zefa Valdivina Pereira – UFGD, por identificar esta espécie de planta e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro à investigação.

Referências

- Agostini-Costa, T. S., Garruti, D. S., Lima, L., Freire, S., Abreu, F. A. P., Feitosa, T., 1999. Avaliação de metodologias para determinação de taninos no suco de caju. *Boletim CEPPA* 17, 167-176.
- Agrawal P.K., 1989. Carbon-13 NMR of Flavonoids. Tetrahedron, Elsevier.
- Ali Khan, Mohammed Safwan; Abdul Manan Mat Jais, and Adiba Afreen. 2013. Prostaglandin Analogous and Antioxidant Activity Mediated Gastroprotective Action of *Tabernaemontana divaricata* (L.) R. Br. Flower Methanolic Extract against Chemically Induced Gastric Ulcers in Rats. *BioMed Research International* 18, 54-76.
- Alimi H., Hfaiedh N., Bouoni Z., Sakly M., Rhouma K.B., 2011. Evaluation of antioxidant and antiulcerogenic activities of *Opuntia ficus indica* f. *inermis* flowers extract in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 32, 406–16.
- Andrade, S.F., Antonioli, D., Comunello, E., Cardoso, L.G.V., Carvalho, J.C.T., Bastos, J.K., 2006. Antiulcerogenic activity of crude extract, fractions and populnic acid isolated from *Austroplenckia populnea* (Celastraceae). *Journal of Biosciences* 61, 329-333.
- Arakawa T., Watanabe T., Tanigawa T., Tominaga K., Fujiwara Y., Morimoto K., 2012 . Quality of ulcer healing in gastrointestinal tract: Its pathophysiology and clinical relevance. *World Journal Gastroenterology* 35, 4811–4822.
- Arun M., Asha, V.V., 2008. Gastroprotective effect of *Dodonaea viscosa* on various experimental models. *Journal of Ethnopharmacology* 118, 462-465.
- Babu T.H., Manjulatha K., Kumar G.S., Hymavathi A., Tiwari A.K., Purohit M., Rao J.M., Babu K.S., 2010. Gastroprotective flavonoid constituents from *Oroxylum indicum* Vent. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20, 117–120.
- Bonamin F., Moraes T.M., Kushima H., Silva M.A., Rozza A.L., Pellizzon C.H., Bauab T.M., Rocha L.R., Vilegas W., Hiruma-Lima C.A., 2011. Can a *Strychnos* species be used as antiulcer agent? Ulcer healing action from alkaloid fraction of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Loganiaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 138, 47-52.

- Barros, M.P., Lemos M., Maistro, E.L., Leite, M.F., Sousa, J.P.B., Bastos, J.K., Andrade S. F. de, 2008. Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. *Journal of Ethnopharmacology* 120, 372-377.
- Berrondo L.F., Gabriel F.T., Fernandes S.B.O., Menezes F.S., Moreira D.L., 2003. Dirhamnosyl flavonoid and other constituents from *Brillantaisia palisatii*. *Química Nova* 26, 922–923.
- Bonacorsi C., Raddi M.S., Carlos I.Z., Sannomiya M., Vilegas W., 2009. Anti-Helicobacter pylori activity and immunostimulatory effect of extracts from *Byrsonima crassa* Nied. (*Malpighiaceae*). *BMC Complementary and Alternative Medicine* 9, 2-8.
- Borrelli F., Izzo A.A., 2000. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research* 14, 581-591.
- Brasil. Lei nº 11.974 de outubro de 2008. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. *Diário Oficial*.
- Braz, D.C., Oliveira, L.R.S., Viana, A.F.S.C., 2013. Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso da *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz. *Revista Brasileira Plantas Mediciniais* 15, 86-90.
- Broadhurst, R. B., Jones, W. T., 1978. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 29, 788-794.
- Cadirci E., Suleyman H., Aksoy H., Halici Z., Ozgen U., Koc A., Ozturk N., 2007. Effects of *Onosma armeniacum* root extract on ethanol-induced oxidative stress in stomach tissue of rats. *Chemico-Biological Interactions* 170, 40–48.
- Caldas, G. F. R., da Silva Oliveira, A. R., Araújo, A. V., Quixabeira, D. C. A., da Costa Silva-Neto, J., Costa-Silva, J. H., Wanderley, A. G. I., 2014. Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil of *Hyptis martiusii* Benth. (*Lamiaceae*). *Plos one* 9, e84400.
- Carlini, E.A., Neto, J.P., DE Almeida, E.T., Marigo, C., 1970. Úlcera por contenção em ratos: ação protetora de extrato aquoso de bálsamo. Estudo preliminar. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 42, 267-270.
- Cechinel Filho, V., Yunes, R.A., 1998. Estratégia para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutura para otimização da atividade. *Química Nova* 1, 99-105.
- Coelho de Souza, G., Haas, A.P.S., Poser, G.L.V., Schapoval, E.E.S., Elisabetsky, E., 2004. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 90, 135–143.
- Concea, 2013. Portaria nº 596, de 25 de junho de 2013, art. 87, parágrafo único, inciso II, da Constituição Federal, Art. 1º Diretrizes da Prática de Eutanásia do Concea. Resolução normativa nº 13, de 20 de setembro de 2013. Disponível em: <<http://www.mct.gov.br>> Acesso em: 4 de fevereiro de 2014.
- Conselho Federal de Medicina Veterinária. Resolução nº 1.000, de 11 de maio de 2012. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. http://www.cfmv.org.br/portal/legislacao/resolucoes/resolucao_1000.
- Coruzzi G, Adami M, Morini G, Pozzoli C, Cena C, Bertinaria M., 2000. Antisecretory and gastroprotective activities of compounds endowed with H2 antagonistic and nitric oxide (NO) donor properties. *Journal of Physiology* 94, 5-10.
- Da Silva, N. L. A., Miranda, F. A. A., Da Conceição, G. M., 2010. Triagem Fitoquímica de Plantas de Cerrado, da Área de Proteção Ambiental Municipal do Inhamum, Scientia Plena.
- De la Lastra, C. A., Martín, M.J., La Casa C., Motilva V., 1994. Antiulcerogenicity of the flavonoid fraction from *Bidens aurea*: Comparison with ranitidine and omeprazole. *Journal of Ethnopharmacology* 42, 161–168.

- De Melo, G.O., Malvar, D.C., Vanderlinde, F.A., Pires, P.A., Cortes, W.S., Germano Filho, P., Muzitano, M.F., Kaiser, C.R., Costa, S.S., 2005. Phytochemical and pharmacological study of *Sedum dendroideum* leaf juice. *Journal of Ethnopharmacology* 102, 217–220.
- De Melo, G.O., Malvar, D. C., Vanderlinde, F. A., Rocha, F. F., Pires, P. A., Costa, E. A., De Matos, L. G., Kaiser, C. R., Costa, S. S. J., 2009. Antinociceptive and anti-inflammatory kaempferol glycosides from *Sedum dendroideum*. *Journal of Ethnopharmacology* 124, 228-32.
- Dharmani P., Srivastava V., Kisson-Singh V., Chadee K., 2009. Role of intestinal mucins in innate host defense mechanisms against pathogens. *Journal of Innate Immunity* 1, 123-135.
- 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.
- Donatini, R.S., Ishikawa, T., Barros, S.B.M., Bacchi, E.M., 2009. Atividades antiúlcera e antioxidante do extrato de folhas de *Syzygium jambos* (L.) Alston (*myrtaceae*). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 19, 89-94.
- Diniz L.R.L., Vieira C.F.X., Santos E.C., Lima G.C., Aragão K.K.V., 2013. Gastroprotective effects of the essential oil of *Hyptis crenata* Pohl ex Benth. on gastric ulcer models. *Journal of Ethnopharmacol* 149, 694–700.
- Faure P., Lafond J.L., 1995. Measurement of plasma sulfhydryl and carbonyl groups as a possible indicator of protein oxidation. *Analysis of free radicals in biological systems* 237-248.
- Ferreira M.P., Nishijima C.M., Seito L.N., Dokkedal A.L., Lopes-Ferreira M., Di Stasi L.C., Vilegas W., Hiruma-Lima C.A., 2008. Gastroprotective effect of *Cissus sicyoides* (*Vitaceae*): Involvement of microcirculation, endogenous sulfhydryls and nitric oxide. *Journal of Ethnopharmacology* 117, 170-174.
- Gomes R.C., Bonamina F., Darin D.D., Seito L., 2009. Antioxidative action of methanolic extract and buthanolic fraction of *Vochysia tucanorum* Mart. in the gastroprotection. *Journal of Ethnopharmacology* 121, 466-471.
- Gonzalez F.G., Di Stasi L.C., 2002. Anti-ulcerogenic and analgesic activities of the leaves of *Wilbrandia ebracteata* in mice. *Phytomedicine* 9, 125-134.
- Hamaishi K, Kojima R, Ito M., 2006. Anti-ulcer Effect of Tea Catechin in Rats. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29, 2206—13.
- Hayden, L.J., Thomas, G., West, G.B., 1978. Inhibitors of gastric lesions in the rat. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 30, 244-246.
- Harborne J.B., 1996. *The Flavonoids. Advances in Research Since 1986.* Chapman and Hall.
- Hiraishi H., Terano A., Sugimoto T., Harada T., Razandi M., Ivey K.J., 1994. Protective role of intracellular superoxide dismutase against extracellular oxidants in cultured rat gastric cells. *Journal of Clinical Investigation* 93, 331-8.
- Hiruma-Lima C.A., Calvo T.R., Rodrigues C.M., Andrade F.D.P., Vilegas W, Souza Brito A.R.M., 2006. Antiulcerogenic activity of *Alchornea castaneaefolia*: effects on somatostatin, gastrin and prostaglandin. *Journal of Ethnopharmacology* 104, 215-224.
- In-Geun Jo., Park D., Kyung J., Kim D., Cai J., Kim J., Kwak T.H., Yoo S.K., Jeong H.S., Kim Y.B., 2013. Inhibitory effects of a β -dunnione compound MB12662 on gastric secretion and ulcers. *Laboratory Animal Research* 29, 178-181.
- Kang J.M., Seo P.J., Kim N., Lee B.H., Kwon J., Lee D.H., Jung H.C., 2012. Analysis of direct edicalcare costs of peptic ulcer disease in a Korean tertiary medical Center. *Scand Journal Gastroenterology* 47, 36–42.

- Kimura, M., Goto S., Ihara Y., Wada A., Yahiro K., Niidome T., Aoyagi H., Hirayama T., Kondo T., 2001. Impairment of glutathione metabolism in human gastric epithelial cells treated with vacuolating cytotoxin from *Helicobacter pylori*. *Journal of Pathology and microbiology* 31, 29 – 36.
- Klein-Jr, L.C.J., Gandolfi, R.B., Santin, J.R., Lemos, M., Cechinel Filho, V.A.S.F., 2010. Antiulcerogenic activity of extract, fractions, and some compounds obtained from *Polygala cyparissias* St. Hillaire & Moquin (*Polygalaceae*). *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 381, 121-126.
- Koutroubakis I.E., Malliaraki N., Dimoulios P.D., Karmiris K., Castanas E., Kouroumalis E.A., 2004. Decreased total and corrected antioxidant capacity in patients with inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences* 49, 1433–37.
- Kumaran, A., Karunakaran, R.J., 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry* 97, 109 – 114.
- Laine L., Takeuchi K., Tarnawski A., 2008. Reviews in basic and clinical gastroenterology Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. *Journal Gastroenterology* 135, 135-41.
- La Casa, C., Villegas, C., Alarcón De La Lastra, C., Motilva, V., Martín-Calero, M.J., 2000. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *Journal of Ethnopharmacology* 71, 45–53.
- Lakshimi V., Singh N., Shrivastva S., Mishra S.K., Dharmani P., Palit G., 2009. Gedunin and photogedunin of *Xylocarpus granatum* show significant anti-secretory effects and protect the gastric mucosa of peptic ulcer in rats. *Phytomedicine* 17, 569–574.
- Lin, J-Y., Ang T., C-Y., 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.
- Lorenzi, H., Souza, H.M., 1995. Plantas ornamentais no Brasil. Arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Nova Odessa, São Paulo, Plantarum, 325.
- Lucio, E.M.R.A, Rosalen, P.L., Sharapin, N., Souza, B.A.R.N., 2000. Avaliação toxicológica aguda e screening hipocrático da epiisoilosina, alcaloide secundário de *Pilocarpus microphyllus* Starf. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 9, 10.
- Maciel, M.A., Pinto, A.C., Veiga Júnior, V.F., 2002. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova* 25, 429-438.
- Marhuenda E., Martin M.J., Alarcon de la Lastra C., 1993. Antiulcerogenic activity of aescine in different experimental models. *Phytotherapy Research* 7, 13-16.
- Marques D.A., Foglio M.A., Morgante P.G., Sluys M.A.V., Shepherd S.L.K. 2006. Biotechnology approaches for production of antiulcerogenic dihydro-epideoxyarteannuin B isolated from *Artemisia annual*. *Revista Brasileira Farmacognosia* 16, 291-299.
- Matsuda, H., Li, Y., Yoshikawa, M., 1999. Roles of capsaicin-sensitive sensory nerves, endogenous nitric oxide, sulphhydryls, and prostaglandins in gastroprotection by mormodin Ic, on oleanolic acid oligoglycoside, on ethanol-induced gastric mucosal lesion in rats. *Life Sciences* 65, 27-32.
- Mello, V.J., Gomes, M.T.R., Lemos, F.O., Delfino, J.L., Andrade, S.P., Lopes, M.T.P., Salas, C.E., 2008. The gastric ulcer protective and healing role of cysteine proteinases from *Carica candamarcensis*. *Phytomedicine* 15, 237-244.
- Moore, David S., McCabe, George P., 2005. Introdução à Prática de Estatística. 5 ed. Wh Freeman, Co 978-0-7167-6282-9.
- 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 Pharmaceutical Sciences* 57, 495-505.
- Monteiro-dos-Santos, J., Conceição, K., Seibert, C. S., Marques, E. E., 2011. Studies on pharmacological properties of mucus and sting venom of *Potamotrygon cf. henlei*. *International Immunopharmacology* 11, 1368-1377.
- Mota K.S.L., Dias G.E.N., Pinto M.E.F., Luiz Ferreira-A, Monteiro Souza Brito-A.R., Hiruma Lima C.A., Barbosa Filho J.M., Batista L.M., 2009. Flavonoids with Gastroprotective Activity. *Molecules* 14, 979-1012.
- Mulinacci, N., Vincieri, F.F., Baldi, A., Bambagiotti-Alberti, M., Sendl, A., Wagner, H., 1995. Flavonol glycosides from *Sedum telephium subspecies maximum leaves*. *Phytochemistry* 38, 531-533.
- Nguelefack, T.B., Feumebo, C.B., Ateufack, G., Watcho, P., Tatsimo, S., Atsamo, A.D., Tane, P., Kamanyi, A., 2008. Anti-ulcerogenic properties of the aqueous and methanol extracts from the leaves of *Solanum torvum Swartz (Solanaceae)* in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 119, 135 – 140.
- Nahrstedt, A., Walther, A., W. Ray, V., 1982. Sarmentosin epoxide, a new cyanogenic compound from *Sedum cepaea*. *Phytochemistry* 21, 107-110.
- OECD, 2008. OECD Guideline for testing of chemicals: acute oral toxicity – acute toxic class method, n° 425, 3 - 4.
- Okabe, S., Amagase, K., 2005. An overview of acetic acid ulcer models--the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 8, 1321-41.
- Oliveira. J.A., Costa. A.M.D.D., Terra. F.S., Boriollo. G.M.F.O., Soares. E.A., 2010. Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol. *Revista Brasileira Clínica Médica* 8, 129-34.
- Olinda T.M., Lemos T.L.G., Machado L.L., Rao V.S., Santos F.A., 2008. Quebracchitol-induced gastroprotection against acute gastric lesions: Role of prostaglandins, nitric oxide and K^+_{ATP} channels. *Phytomedicine* 15, 327- 333.
- Oyagi A., Ogawa K., Kakino M., Hara H., 2010. Protective effects of a gastrointestinal agent containing Korean red ginseng on gastric ulcer models in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13, 45.
- Raffin, R.P., Colomé L.M., Schapoval E.E., Jornada D.S., Pohlmann A.R., Guterres S.S., 2007. Gastro-resistant microparticles containing sodium pantoprazole: stability and in vivo antiulcer activity. *Journal of Drug Delivery* 1, 28–35.
- Rodrigues, P.A, Morais S.M., Souza C.M., Magalhães D.V., Vieira I.G., Andrade G.M., Rao V.S., Santos F.A., 2012. Gastroprotective effect of *Byrsonima sericea DC leaf* extract against ethanol-induced gastric injury and its possible mechanisms of action. *An. Academia Brasileira Ciência* 84, 113-122.
- Rodriguez J.A., Hiruma-Lima C.A., Souza Brito A.R 2004. Antiulcer activity and subacute toxicity of trans-dehydrocrotonin from *Croton cajucara*. *Human & Experimental Toxicology* 23, 455-461.
- Sener-Muratoglu G.S., Paskaloglu K., Arbak S., Hurdag C., Ayanoglu-Dulger G., 2001. Protective effects of famotidine, omeprazole, and melatonin against acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats. *Digestive Diseases and Sciences* 46, 318–330.
- Simmons D.L., R.M. Botting, Hla T., 2004. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological Reviews* 56, 387-437.
- Shay, H., Komarov, S.A., Fels, S.S., Marenze, D., Grunstein, M., Siplet, H.A., 1945. Simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Journal Gastroenterology* 5, 43-61.

- Shii D., Inaguma K., Ito M., Suzuki Y., 1992. Role of oxygen radicals in healing process of acetic acid-induced ulcers in rats with limited food-intake-time and effects of oxygen radical scavengers on the healing. *Exp. Ulcer* 19, 105-09.
- Sun, S.B., Matsumoto, T., Yamada, H., 1991. Effects of a polysaccharide fraction from the roots of *Bupleurum folcatum* L. on experimental gastric ulcer models in rats and mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 43, 669-704.
- Souza-Brito A.R.M., 1994. Manual de ensaios toxicológicos in vivo. Campinas, Editora da Unicamp.
- Stevens, J.F., Hart, H., Elema, E.T., Bolck, A., 1996. Flavonoid variation in Eurasian *Sedum* and *Sempervivum*. *Phytochemistry* 41, 503-512.
- Vasconcelos P.C.P., Andreo M.A., Vilegas W., Hiruma-Lima C.A., Pellizzon C.H., 2010. Effect of *Mouriri pusa* tannins and flavonoids on prevention and treatment against experimental gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology* 131, 146–53.
- Veiga, J.R.V.F., Pinto, A.C., Maciel, M.A.M., 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova* 28, 519-528.
- Viana, A. F. S. C., Fernandes, H. B., Silva, F. V., Oliveira, I. S., Freitas, F. F. B. P., Machado, F. D. F., Oliveira, R. C. M., 2013. Gastroprotective activity of *Cenostigma macrophyllum* Tul. var. *acuminata* Teles Freire leaves on experimental ulcer models. *Journal of ethnopharmacology* 150, 316-323.
- Zakaria Z.A., Balan T., Suppaiah V., Ahmad S., Jamaludin F., 2014. Mechanism(s) of action involved in the gastroprotective activity of *Muntingia calabura*. *Journal of Ethnopharmacology* 151, 184-93.
- Wallace, J. L., 2001. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 15, 691-703.
- Wolff Cordeiro K., Aparecida Pinto L., Nazari Formagio A.S., Faloni de Andrade S, Leite Kassuya C.A., de Cássia Freitas K., 2012. Antiulcerogenic effect of *Croton urucurana* Baillon bark. *Journal of Ethnopharmacology* 143, 331-7.

5.2. Carta de Aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal 017/2012



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-MS, 10 de dezembro de 2012

Senhora Pesquisadora:

Karine de Cássia Freitas

O Projeto de sua responsabilidade – Protocolo nº. **017/2012** – **CEUA/UFGD** - intitulado "**Avaliação da eficácia do extrato da folha do Bálamo (*Sedum dendroideum*) 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.


Felipe de Almeida Borges
Secretário CEUA/UFGD

Felipe de Almeida Borges
Presidente em Administração
SUPE - 168839