

**CAMILO AMARO DE CARVALHO**

**HISTOMORFOMETRIA DE LESÕES AGUDAS DA MUCOSA GÁSTRICA DE  
RATOS WISTAR INDUZIDAS POR ÁCIDO ACETILSALICÍLICO, E OS  
EFEITOS CICATRIZANTES DO EXTRATO AQUOSO DO REPOLHO  
(*Brassica oleracea* variedade *capitata*)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Celular e  
Estrutural, para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C331h  
2009

Carvalho, Camilo Amaro de, 1981-  
Histomorfometria de lesão agudas da mucosa gástrica de  
ratos Wistar induzidas por ácido acetilsalicílico, e os efeitos  
cicatrizantes do extrato aquoso do repolho  
(*Brassica oleracea* variedade *capitata*) / Camilo Amaro  
de Carvalho. – Viçosa, MG, 2009.  
ix, 55f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Cláudio César Fonseca.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Histologia. 2. Cicatrização de feridas. 3. Repolho.  
4. *Brassica oleracea*. 5. Úlcera. 6. Farmacologia.  
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 571.5

**CAMILO AMARO DE CARVALHO**

**HISTOMORFOMETRIA DE LESÕES AGUDAS DA MUCOSA GÁSTRICA DE  
RATOS WISTAR INDUZIDAS POR ÁCIDO ACETILSALICÍLICO, E OS  
EFEITOS CICATRIZANTES DO EXTRATO AQUOSO DO REPOLHO**  
*(Brassica oleracea variedade capitata)*

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Biologia Celular e  
Estrutural, para obtenção do título de  
*Magister Scientiae*.

APROVADA: 17 de julho de 2009.

---

Prof. Sérgio Luis Pinto da Matta  
(Coorientador)

---

Prof. Marcelo Barreto da Silva  
(Coorientador)

---

Prof. Rogério Pinto

---

Prof<sup>a</sup>. Juliana Silva Rocha

---

Prof. Cláudio César Fonseca  
(Orientador)

“Celebrarei e cantarei as tuas obras, pois por tuas mãos foram criados terra,  
céus e mar, e todo o ser que Nele há. Toda terra celebra a Ti,  
com cânticos e júbilos, pois Tu és meu criador...”

*Aline Barros*

Aos meus amados pais e irmãos

A minha sempre companheira, amiga e esposa Marilane

Aos meus amigos, sogro e sogra, Vera Lúcia e Antônio Fani

Aos meus tesouros preciosos Caroline e Carine

Dedico

Aos meus orientadores e amigos Cláudio César Fonseca, Sérgio Luis Pinto da Matta e  
Marcelo Barreto da Silva.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, responsável por todas as bênçãos e conquistas em minha vida, inclusive esta.

Aos meus pais, responsáveis pela minha existência, pessoas maravilhosas que sempre acreditaram em mim e me apoiaram. Vocês são exemplos de vida para mim! Obrigada por todos os ensinamentos!

Aos meus irmãos Rodrigo e Eliana, pelo apoio, amizade e principalmente pelo amor que nos une.

A minha esposa Marilane, pelo constante apoio, amizade e amor dedicado durante todos estes anos. Não conseguiria mais esta vitória sem a sua ajuda e compreensão. Te amo!

Às minhas sobrinhas Caroline e Carine, que me proporcionaram o prazer de ser tio, e que souberam entender meus momentos de ausência por acreditarem que cada meta que temos na vida é para o bem de toda a família. Obrigada meus anjinhos!

Ao meu sogro Antônio Fani e a minha sogra Vera Lúcia Fani, por me apoiar e incentivar nesta jornada. Muito obrigado!

Aos meus cunhados Marcelo e Meire por proporcionar momentos de alegria e felicidade em família durante os encontros em Itaperuna, Viçosa, Ubá e Muriaé.

À Universidade Federal de Viçosa pelo apoio e à brilhante contribuição na capacitação de novos profissionais.

Ao curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, pela seriedade dos seus trabalhos e por ter sido acessível a todas as solicitações no decorrer do curso.

À UNIVIÇOSA pelos ensinamentos profissionais e pessoais, que muito contribuíram para a execução deste trabalho.

Ao meu orientador e amigo Cláudio César Fonseca, por sempre acreditar em mim e fazer de mim uma pessoa e profissional mais capacitada e crítica.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural, pelos ensinamentos adquiridos durante o curso.

Aos professores e coorientadores Sérgio Luis Pinto da Matta e Marcelo Barreto da Silva pela amizade e contribuições ao longo deste trabalho.

Aos professores da banca Rogério Pinto e Juliana Silva Rocha, por todas as considerações que certamente contribuirão para a melhoria deste trabalho.

Aos professores do Laboratório de Biologia Estrutural Clóves, Lino, Adilson e Izabel pela colaboração, convivência e aprendizagem durante estes anos.

Aos funcionários do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da UFV, Adão Custódio de Carvalho e Juliano Souza Cardoso, por disponibilizarem tempo e cuidados imprescindíveis para a execução do experimento.

Aos meus amigos do laboratório de Histologia, pelo apoio incondicional durante o curso e principalmente durante o experimento, Kenner e Alex. Isto é só uma demonstração das parcerias de trabalho e da verdadeira amizade que construímos.

Aos meus alunos da Univiçosa, obrigado por toda a experiência vivida e por toda torcida para a conquista desta etapa. Vocês são responsáveis por essa busca em aprimorar a cada dia meus conhecimentos.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1- INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2-REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1- Fitoterapia.....	2
2.2 – <i>Brassica oleracea</i> variedade <i>capitata</i> .....	4
2.3- O estômago .....	9
2.4 - Úlcera gástrica .....	12
2.5- Inibidores da bomba de prótons .....	16
3-Referências Bibliográficas .....	19
ARTIGO 1 .....	23
Avaliação do efeito cicatrizante do extrato aquoso de <i>Brassica oleracea</i> var. <i>Capitata</i> (Brassicaceae) em úlceras gástricas de ratos Wistar induzidas por ácido acetilsalicílico .....	23
Resumo .....	23
Abstract .....	24
1-Introdução .....	24
2-Material e Métodos .....	27
3-Resultados e Discussão .....	30
4-Conclusões .....	38
5-Referências Bibliográficas .....	38
ARTIGO 2 .....	42
Anatomia e histologia do estômago de ratos Wistar e sua utilização em modelo de úlceras gástricas .....	42
Resumo .....	42
Abstract .....	42
1-Introdução .....	43
2-Material e Métodos .....	44
3-Resultados e Discussão .....	46
4-Conclusões .....	53
5-Referências Bibliográficas .....	53
3-Conclusões Gerais .....	56

## RESUMO

CARVALHO, Camilo Amaro de, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2009. **Histomorfometria de lesões agudas da mucosa gástrica de ratos Wistar induzidas por ácido acetilsalicílico, e os efeitos cicatrizantes do extrato aquoso do repolho (*Brassica oleracea* variedade *capitata*)** Orientador: Cláudio César Fonseca. Coorientadores: Sérgio Luis Pinto da Matta e Marcelo Barreto da Silva.

Este trabalho objetivou investigar os efeitos cicatrizantes do extrato aquoso de *Brassica oleracea* var. *capitata* (EAB), analisando histologicamente as úlceras induzidas por ácido acetilsalicílico em modelo animal. Foram avaliados cinco tratamentos: 250, 500 e 1000 mg/kg de EAB, omeprazol a 20mg/kg e veículo aquoso. Foi realizada a descrição macroscópica e histológica do estômago de ratos Wistar. Verificou-se que o a administração do extrato aquoso de *Brassica oleracea* var. *capitata* na concentração de 1000mg/kg promoveu melhor taxa de cicatrização, seguido pelo omeprazol. Entretanto o tratamento com EAB na concentração de 1000mg/kg, em valores absolutos demonstrou ser o mais eficaz por haver uma melhora adicional no quadro das lesões, cerca de 95,77% a mais de redução das lesões quando comparado ao grupo tratado com omeprazol. Verifica-se que os resultados estão de acordo com os achados etnobotânicos e com outros estudos já realizados com a *Brassica sp.*, confirmando assim seu efeito terapêutico sob forma de extrato aquoso para a cicatrização de úlcera gástrica. Os dados da descrição anatômica e histológica do estômago de ratos Wistar visam acrescentar conhecimentos sobre esta espécie e permitindo maior acesso à comunidade científica que faz uso da espécie em modelo de úlceras gástricas.

## ABSTRACT

CARVALHO, Camilo Amaro de, M.Sc. Federal University of Viçosa, July of 2009. **Histomorphometric of acute lesions of the gastric mucosa of Wistar rats induced by acetylsalicylic acid, and the healing effects of aqueous extract of the cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*).** Adviser: Cláudio César Fonseca. Co-advisers: Sérgio Luis Pinto da Matta and Marcelo Barreto da Silva.

This work aimed at to investigate the healing effects of the aqueous extract of *Brassica oleracea* var. *capitata* (EAB), analyzing histological the ulcers induced by acetylsalicylic acid in animal model. They were appraised five treatments: 250, 500 and 1000 mg/kg of EAB, omeprazole to 20mg/kg and aqueous vehicle. The macroscopic and histological description of the stomach of mice was accomplished Wistar. It was verified that the the administration of the aqueous extract of *Brassica oleracea* var. *capitata* in the concentration of 1000mg/kg promoted better cicatrization tax, following for the omeprazole. However the treatment with EAB in the concentration of 1000mg/kg, in absolute values demonstrated to be the most effective for there being an additional improvement in the picture of the lesions, about 95,77% the more of reduction of the lesions when compared to the group treated with omeprazole. It is verified that the results are in agreement with the discoveries etnobotanicals and with other studies already accomplished with the *Brassica* sp., confirming like this his/her therapeutic effect under form of aqueous extract for the peptic ulcer cicatrization. The data of the anatomical and histological description of the stomach of mice Wistar seek to increase knowledge about this species and allowing larger access to the scientific community that he/she makes use of the species in model of peptic ulcers.

## 1-INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos 20 anos, observou-se um avanço significativo no estudo de doenças relacionadas às úlceras, gástrica e duodenal. Isto se deve, especialmente, ao desenvolvimento de várias técnicas que têm possibilitado uma observação mais detalhada da mucosa gástrica (Brzozowski, 2003). A hipersecreção ácida é o aspecto mais importante da função gástrica estudado na prática clínica. A influência de alterações nessa função tem sido considerada no desenvolvimento de drogas para serem utilizadas no tratamento de úlceras gástricas (Pohle e Domschke, 2003).

Mesmo com o progresso de métodos alternativos nos últimos anos, os modelos 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). Dentre todos os modelos experimentais aos quais podem ser induzidas úlceras gástricas, o rato Wistar, inquestionavelmente, é o mais intensamente utilizado. No entanto, é escasso o acervo bibliográfico enfocando aspectos histológicos e anatômicos do estômago de ratos, em especial de ratos Wistar.

A pesquisa na área de produtos naturais tornou-se um fato de relevância e grande valorização em todos os países desenvolvidos, principalmente devido à possibilidade de descoberta de novos fármacos que poderão ser utilizados para fins terapêuticos (Viegas et al. 2006). A Fitoterapia constitui uma forma de terapia medicinal que vem crescendo notadamente nestes últimos anos. Em recentes publicações, muitas plantas medicinais têm sido evidenciadas como úteis no tratamento de distúrbios gástricos (Vinagre et al., 2005). Quando utilizada de forma segura, a fitoterapia torna-se uma aliada no tratamento de diversas patologias, inclusive distúrbios gastrintestinais, os quais acometem grande parte da população (Simões et al., 2004). Segundo Vinagre et al.,

(2005) as drogas utilizadas atualmente no tratamento de úlceras gástricas não são totalmente eficazes na cicatrização das mesmas.

A *Brassica oleracea* variedade *capitata* é conhecida popularmente como repolho, tem sido utilizada popularmente como cicatrizante pela população da região de Governador Valadares – MG (Matos, 2008). Dentre as inúmeras utilizações milenares desta espécie está o tratamento da úlcera gástrica. Com intuito de validar os achados etnobotânicos, este trabalho objetiva investigar os efeitos cicatrizantes do extrato aquoso de *Brassica oleracea* var. *capitata*, analisando histologicamente as úlceras induzidas por ácido acetilsalicílico em modelo animal, bem como também a descrição macroscópica e histológica da mucosa gástrica de ratos Wistar.

## **2-REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1- Fitoterapia**

Desde os primórdios da civilização, as plantas têm sido um recurso acessível ao ser humano com o propósito de alimentação e tratamento os mais variados. Durante milênios o homem, empiricamente, aprofundou seus conhecimentos na busca da cura para diversas enfermidades através do uso de plantas medicinais. A quantidade de evidências relacionadas com as atividades biológicas de compostos derivados de plantas aumentou durante a última década (Simões et al., 2004). Embora existam muitas espécies vegetais que são usadas sem que se saiba exatamente qual o princípio farmacológico ativo ou se possuem componentes potencialmente tóxicos com riscos para a saúde pública (Simões et al., 2004).

As plantas e os extratos vegetais foram e continuam sendo de grande relevância na área farmacêutica, tendo em vista a utilização das substâncias ativas isoladas como

protótipos para a obtenção de fármacos e adjuvantes, ou ainda, de medicamentos fitoterápicos. Entretanto, sem o estudo adequado das plantas medicinais, torna-se inviável o estabelecimento de parâmetros necessários para definição da dose terapêutica e de seu uso seguro com o mínimo de reações colaterais (Simões et al., 2004).

No segmento industrial, é nítido o ressurgimento do interesse em produtos naturais como fonte de modelos para fármacos e como matéria-prima para desenvolvimento de medicamentos fitoterápicos (Simões et al., 2004). Nos EUA, entre 1997 e 1998, foi registrada uma expansão de produtos contendo kavakava (461%) e hipérico (190%). Dados mostram um aumento na venda de valeriana (+70,5%) e chá-verde (+39,4%), entre 1999 e 2000. Além disso, têm sido desenvolvidos estudos de farmacoeconomia utilizando-se matérias-primas vegetais, mostrando o impacto da fitoterapia na melhora da economia de alguns países (De Smet et al., 2000; Turolla e Nascimento, 2006).

Estudos desenvolvidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) demonstram que 85% da população de países em desenvolvimento fazem uso de plantas medicinais, ou seus derivados, no tratamento das patologias gastrointestinais (OMS, 1979). Sheldon et al. (1997) citaram que segundo a OMS, em 80% dos países subdesenvolvidos a população faz uso de plantas medicinais, as quais se encontram incorporadas em um sistema de medicina tradicional.

Muitas plantas medicinais têm sido evidenciadas como úteis no tratamento de distúrbios gástricos. Como exemplos podem ser citados *Syngeanthus arthrotrichus* (sempre-viva), e a *Musa paradisiaca* L. (banana) (Batista, 2004). Existe na flora mundial um grande número de espécies usadas na medicina popular para este mesmo propósito, como por exemplo: *Melissa officinalis* (erva-cidreira), *Mentha piperita* (hortelã-pimenta), *Silybum marianum* (cardo-santo), *Brassica oleracea* (couve), *Maytenus aquifolium* (espinheira-santa), *Zolernia ilicifolia* (alsa-espinheira-santa) e

*alga Chlorella vulgaris* (algas verdes) (Souza-Brito e Nunes, 1997; Oliveira et al., 2007;). Pahlow (2000) faz referência a trabalhos conduzidos por pesquisadores alemães, demonstrando que a ingestão do suco de folhas de repolho acelerou o processo de cicatrização de úlceras gástricas.

Os compostos obtidos de plantas medicinais que possuem atividade antiulcerogênica apresentam estruturas químicas diversas e distintos mecanismos de ação. Dentre as principais classes de compostos relacionados com essas atividades, têm-se os terpenos, triterpenos, flavonóides, alcalóides, glicosídeos, saponinas e polissacarídeos (Lewis et al., 1991). Guinal (2003) demonstrou em seus estudos, que esteróides como o estradiol, possuem efeito curativo sobre úlceras crônicas produzidas por ácido acético em modelo experimental.

## **2.2 – *Brassica oleracea* variedade *capitata***

O repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*) é uma planta herbácea e folhosa que pertence a família Brassicaceae, e tem como região de origem a Europa e o Oriente Médio (Fig. 1). Apresenta grande versatilidade, não somente pelo seu valor nutritivo, sendo rico em cálcio, proteína e vitamina C (Filgueira, 2000; Léo et al., 2000), mas também pelo seu caráter social, pelo fato de ser cultivada essencialmente por pequenos agricultores (Silva Júnior, 1987; Silva Júnior et al., 1988; Filgueira, 2000; Carvalho et al., 2008).

Em sua forma selvagem, era utilizado pelos egípcios, sendo o seu uso generalizado com as invasões arianas, entre 2000 e 2500 a.C. Acredita-se que o repolho tenha sido introduzido na Europa pelos celtas no século IX, e por ser considerada uma fina iguaria pelos gregos e romanos, era cultivado em suas diversas formas. Para a América, o repolho foi trazido pelos conquistadores europeus por volta do século XV

d.C. (Fracaro, 1999; Monsalve e Cano, 2003; Oliveira et al., 2007; Carvalho et al., 2008).



Figura 1. Vista superior (A) e lateral (B) das folhas de repolho Repolho (*Brassica oleracea* variedade *capitata*).

Um ponto importante no estudo de princípios ativos de uma planta são os estágios fenológicos da cultura (Andaloro et al., 1983), o que facilita a transposição de informação sobre a cultura, tendo em vista que a duração do ciclo reprodutivo de cada vegetal é função também da interação com os componentes do ambiente como temperatura, água, luz, etc. O ciclo vegetativo da cultura do repolho pode ser dividido em fases fenológicas, assumindo valores distintos, como pode ser visto na Fig. 2 e Tab. 1. Essas fases compreendem um período de crescimento ou período vegetativo da cultura, formação da colheita (aumento do tamanho) e maturação – fases fenológicas (Carvalho et al., 2008).

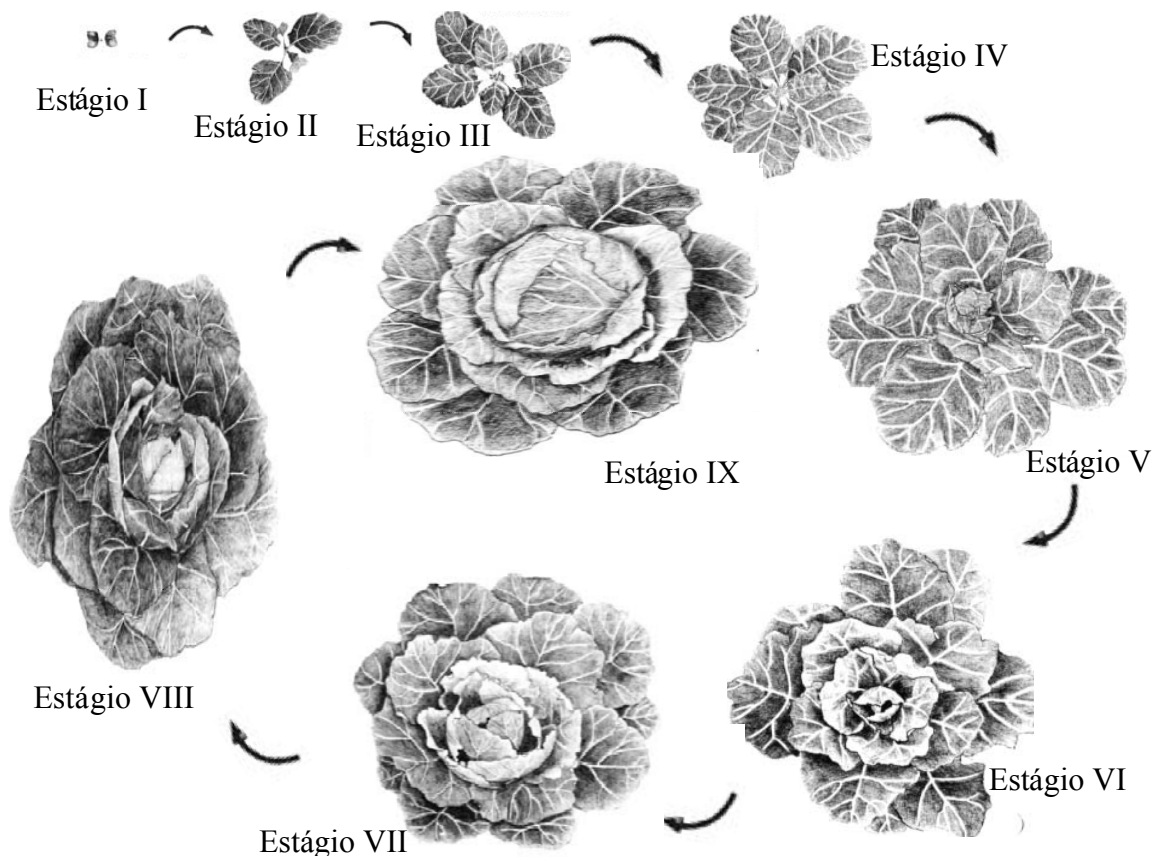


Figura 2. Representação esquemática do desenvolvimento fenológico da cultura de *Brassica sp.* (Fonte: Carvalho et al., 2008, adaptado de Andaloro et al., 1983).

Tabela 1: Descrição dos estágios fenológicos da *Brassica oleracea* variedade *capitata*

<b>Estágios</b>	<b>Características do desenvolvimento</b>
<b>I</b>	Cotilédone (folhas de semente). Nenhuma folha verdadeira presente.
<b>II</b>	Até 5 folhas verdadeiras* .
<b>III</b>	6 a 8 folhas verdadeiras* .
<b>IV</b>	9 a 12 folhas verdadeiras. Base de talo ainda visível (vista superior).
<b>V</b>	Área foliar possui aproximadamente 13 a 19 folhas ao final desta fase. A base do talo e a bases de todas as folhas estão escondidas, quando a planta é vista de acima. As folhas do “coração” são visivelmente distintas das folhas circunvizinhas.
<b>VI</b>	Área foliar possui aproximadamente 20 a 26 folhas. O “coração” íntimo, parte que ainda está crescendo em uma moda vertical, é escondido pelas folhas maiores, mais velhas que os cercam.
<b>VII</b>	O formato da cabeça é de aproximadamente 8,25cm de diâmetro. O coração interno, em desenvolvimento é como a estrutura de uma bola de folhas escondida pelas folhas grandes circunvizinhas. Estas folhas não se apertam contra a cabeça em desenvolvimento e desdobrarão para se tornar folhas de “armação” posteriormente.
<b>VIII</b>	O formato da cabeça é de aproximadamente 13,97cm de diâmetro. Uma cabeça firme é visível dentro das folhas de envoltura. A cabeça não tem conteúdo completamente desenvolvido e, assim, não é de tamanho ideal para a colheita.
<b>IX</b>	O formato da cabeça é de aproximadamente 22,86cm de diâmetro. Não há produção de folhas novas depois que a cabeça atinge seu tamanho máximo. A cabeça está pronta para colheita.

Fonte: (Carvalho et al., 2008, adaptado de Andaloro et. al., 1983).

\* Folhas verdadeiras - primeiras folhas geradas a partir dos cotilédones, na fase juvenil (Ferreira et al., 2001).

Segundo Balbach e Boarim (1993), os romanos já empregavam a *Brassica sp.*, aplicada tanto interna, como externamente como produto utilizado para limpar ferimentos e na forma de cataplasmas no tratamento das feridas. Relatos informam ainda o uso da *Brassica sp.* há mais de um milênio em processos de cicatrização de

abscessos, cefalalgias idiopáticas (dores de cabeça de causa desconhecida), dores reumáticas e reumatóides, tumores, prevenção de tuberculose, auxílio em casos de afonia, desnutrição, anemia, enfermidades do estômago, úlceras internas, hemorróidas, alcoolismo, gota e reumatismo.

Silva et al. (2006), observaram uma intensificação na pesquisa de produtos fitoterápicos à base de *Brassica oleracea* variedade *capitata* para auxiliar no tratamento de feridas. Pahlow (2000) relata que o uso do suco de repolho duas vezes ao dia (manhã e tarde) por um período de 3 a 5 semanas para o tratamento de úlceras gástricas promove um efeito curativo sobre as mesmas. Cheney (1952) tratou 100 pacientes, que apresentavam úlcera gástrica, com suco de repolho, administrando diariamente quatro copos de suco do extrato da planta crua diariamente. Os resultados foram considerados surpreendentes, pois na primeira semana, 81% dos pacientes estavam curados e não apresentavam quaisquer sinais de úlcera após 7 dias de tratamento. Outros pacientes relataram alívio nos primeiros 4 dias. O tempo gasto, em dias, para cura da úlcera dos pacientes era diferente dos tratamentos hospitalares que exigiam mais de um mês para produzirem resultados. O composto foi denominado cloreto metioninasulfônio (S-metilmetionina), relacionado com a atividade cicatrizante, foi chamado de vitamina desconhecida “Unknown Vitamin” ou vitamina da úlcera, e sugeriu o termo vitamina U.

A S-metilmetionina é um derivado da metionina com fórmula química  $C_6H_{15}NO_2S$  (Fig. 3). Este composto está presente em plantas da família das angiospermas e é sintetizado a partir da doação de grupos metil para o aminoácido metionina (Met), produzindo S-metilmetionina e S-adenosilhomocisteína em uma reação única catalisada pela enzima metionina S-metiltransferase (Ranocha et al., 2001). A Met pode ser chamada de vitamina U na medicina neuropática, embora não seja reconhecida como vitamina pela ciência nutricional, por não haver provas de que está seja essencial para o funcionamento metabólico, que é um dos requisitos principais

para a classificação de uma substância como vitamina. No entanto é muito comum encontrar citações que retratam a S-metilmetionina como uma vitamina com potencial antiulcerogênico (Ranocha et al., 2001). Augspurger et al. (2005), relata que as fontes de metionina são limitadas entretanto pode ser encontrada em altas concentrações no repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*).

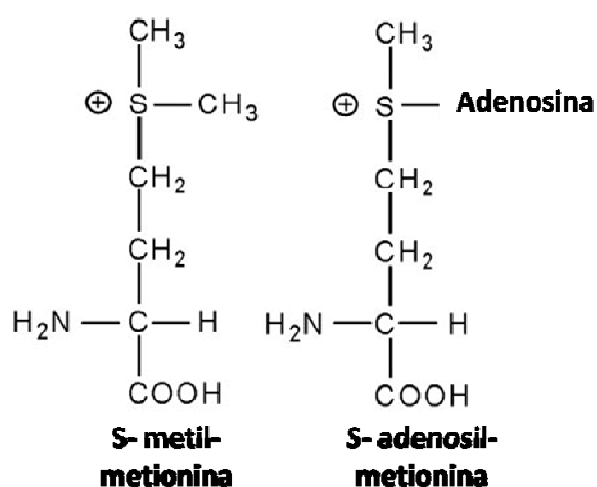


Figura 3. Fórmula estrutural da S-metilmetionina e S-adenosilmetionina (Fonte: Augspurger et al., 2005).

### 2.3- O estômago

Anatomicamente, o estômago humano divide-se em regiões: cárdica, corpo, fundo e antro pilórico. A abertura do esôfago no estômago é chamada de cárdia sendo que o limite macroscópico entre os dois órgãos está marcado pela diferença de coloração entre as mucosas: branca na região esofágica e avermelhada na região

gástrica. A saída do estômago, na junção com o intestino delgado, é guarnecida pelo esfíncter pilórico (Dani e Castro, 1993; Junqueira e Carneiro, 2004).

Existem histologicamente, três regiões distintas no estômago: a região cárdia, constituída por uma faixa estreita de tecido (1,5 a 3,0 cm) situada logo abaixo da transição esôfago-gástrica; a região oxíntica ou glandular, ocupando 75 a 85% da superfície global do estômago; e região antropilórica, que abrange 15 a 25% da área do estômago. A mucosa cárdia contém glândulas tubulares simples ou ramificadas, denominadas glândulas da cárdia. As porções terminais destas glândulas são frequentemente enoveladas, com lúmen amplo. Nesta região são encontradas principalmente células que produzem muco e lisozima (enzima que destrói a parede de bactérias) e poucas células produtoras de  $H^+$  e  $Cl^-$ , que formarão HCl no lúmen. A mucosa oxíntica é mais extensa, ocupando o corpo e o fundo, e é o sítio da secreção de ácido clorídrico. Esta mucosa oxíntica é formada por glândulas oxínticas, que são constituídas por células parietais (oxínticas), células principais e células endócrinas produtoras de somatostatina (células D) e do tipo enterocromafins (ECL), dentre outras. No colo glandular, predominam as células produtoras de muco, que protegem a mucosa gástrica da ação corrosiva das secreções originadas pela glândula (Dani e Castro, 1993; Junqueira e Carneiro, 2004; Sundler et al., 1991). As glândulas da mucosa pilórica estão repletas de células G, que produzem a gastrina, o principal estimulante hormonal da secreção ácida, além de apresentarem os mesmos tipos celulares que as glândulas oxínticas, porém sem a presença de células parietais (Dani e Castro, 1993; Junqueira e Carneiro, 2004).

O processo de secreção do estômago consiste de três etapas, duas das quais são estimulatórias (fase encefálica e fase gástrica) e outra inibitória (fase intestinal). Estes estágios iniciam através de fenômenos neurológicos como: cheiro ou memória, visualização dos alimentos, drogas e outras substâncias ingeridas (Chavez, 1996). Três

substâncias químicas endógenas constituem os agonistas responsáveis por estimular a célula parietal a secretar ácido clorídrico:

*Acetilcolina* – liberada a partir do nervo vago, atua sobre receptores muscarínicos, provavelmente do tipo M<sub>2</sub>, estimulando a secreção ácida pela célula parietal, elevando os níveis de Ca<sup>+2</sup> intracelular. Sua liberação está associada a estímulos provenientes do olfato, visão, paladar ou mastigação e ainda aqueles provenientes do estímulo de neurônios locais da parede gástrica através da distensão das paredes do estômago com a chegada do alimento (Dani e Castro, 1993; Hirschowitz et al., 1995; Kutchai, 1996).

*Gastrina* – hormônio liberado a partir do antro pilórico estimula receptores CCK-B (colecistocinina – B) da célula parietal, induzindo aumento da secreção ácida através do aumento dos níveis intracelulares de Ca<sup>+2</sup> de modo semelhante à acetilcolina. A gastrina é liberada em resposta a produtos da digestão como aminoácidos, além da estimulação vagal e da alcalinização do antro pilórico (Kutchai, 1996; Zavros et al., 2002).

*Histamina* – químico estimulador das células oxínticas mais potente que a gastrina, dado que: 1) age diretamente na célula oxíntica; 2) liberada localmente pelas células ECL, as quais possuem histamina descarboxilase para transformar histidina em histamina; 3) não sofre ação da histaminase, pois esta não é detectada na mucosa oxíntica; 4) liberada por estimulantes da secreção ácida como presença de alimento ou gastrina. A histamina atua em receptores H<sub>2</sub> e a sua liberação promove o aumento da secreção ácida por elevar os níveis intracelulares de AMPc. Após o estímulo, várias H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPases localizadas em túbulos ou vesículas citoplasmáticas, fundem-se com a membrana plasmática na superfície luminal das células parietais formando canalículos. Esta fusão aumenta a área de superfície canalicular pela formação de microvilos nos canalículos. As H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPases, atuam como bombas de prótons na etapa final da

secreção de íons  $H^+$  em troca dos íons  $K^+$ . A célula ativa também secreta  $K^+$  e  $Cl^-$  nos canalículos. Os íons  $H^+$  e  $Cl^-$  formam uma solução ácida extremamente importante às funções do estômago (Dani e Castro, 1993; Junqueira e Carneiro, 2004; Hirschowitz et al., 1995; Lind et al., 1983).

A inervação do estômago é realizada pelo sistema nervoso autônomo, através dos nervos vago e do simpático. A inervação da parede gástrica é realizada através dos plexos nervosos que, embora em número de cinco, apresentam dois particularmente importantes: o plexo mioentérico de Auerbach e o submucoso de Meissner, que constituem se denomina inervação intrínseca.

#### **2.4 - Úlcera gástrica**

Nos últimos 20 anos, observou-se um avanço significativo no estudo de doenças relacionadas às úlceras, gástrica e duodenal. Isto se deve, especialmente, ao desenvolvimento de várias técnicas que têm possibilitado uma observação mais detalhado da mucosa gástrica (Brzozowski, 2003). O risco de complicação por úlcera tem aumentado em média, resultando 1,25 hospitalizações adicionais para cada 100 pacientes por ano (Almeida, 2004). A hipersecreção ácida é o aspecto mais importante da função gástrica estudado na prática clínica. A influência de alterações nessa função tem sido considerada no desenvolvimento de drogas para serem utilizadas no tratamento de úlceras gástricas (Pohle e Domschke, 2003).

As doenças ulcerativas do tubo digestivo dependem de duas condições: presença de ácido e predisposição das mucosas a lesões por fatores diversos. Não há maneiras estabelecidas de interferir farmacologicamente com as predisposições, genéticas ou não, da mucosa aos danos (Brzozowski, 2003). A incidência de úlceras é maior nos homens em relação às mulheres (3:1) e, apesar de ocorrerem em qualquer idade, a úlcera

duodenal desenvolve com mais frequência na faixa de 30-55 anos, enquanto a úlcera gástrica na faixa de 50-70 anos (Kumar et al., 2008).

A mucosa gástrica exposta a agentes ulcerogênicos necrotizantes como ácido acetilsalicílico, indometacina, ácidos biliares, álcool e isquemia, desenvolve características histopatológicas, alterações ultraestruturais e funcionais que, segundo Almeida (2004), resultam em injúrias. As lesões agudas da mucosa gástrica estão associadas com: 1) ruptura da superfície hidrofóbica da membrana; 2) injúria e esfoliação da superfície do epitélio com perda da barreira e função elétrica; e 3) injúria profunda na camada da mucosa, incluindo células endoteliais vasculares, zona de proliferação celular, células parietais e principais.

As lesões no endotélio vascular levam à diminuição do fluxo sanguíneo, reduzindo o aporte de oxigênio e o transporte de nutrientes. Estes eventos resultam na formação de erosão e ulceração na mucosa. A erosão acomete somente a camada mucosa, enquanto a úlcera penetra até a camada muscular (Almeida, 2004) (Fig. 4). Wallace et al. (2000), relata que a ulceração seja resultado da associação de fatores agressores endógenos, como ácido, pepsina e bile; fatores exógenos predisponentes relacionados a condições de vida, como estresse, fumo, álcool, uso contínuo de drogas antiinflamatórias não esteróides (AINEs), ingestão de determinados alimentos, presença de *Helicobacter pylori*; e predisposição genética, o que reduziria a capacidade de defesa da mucosa gástrica.

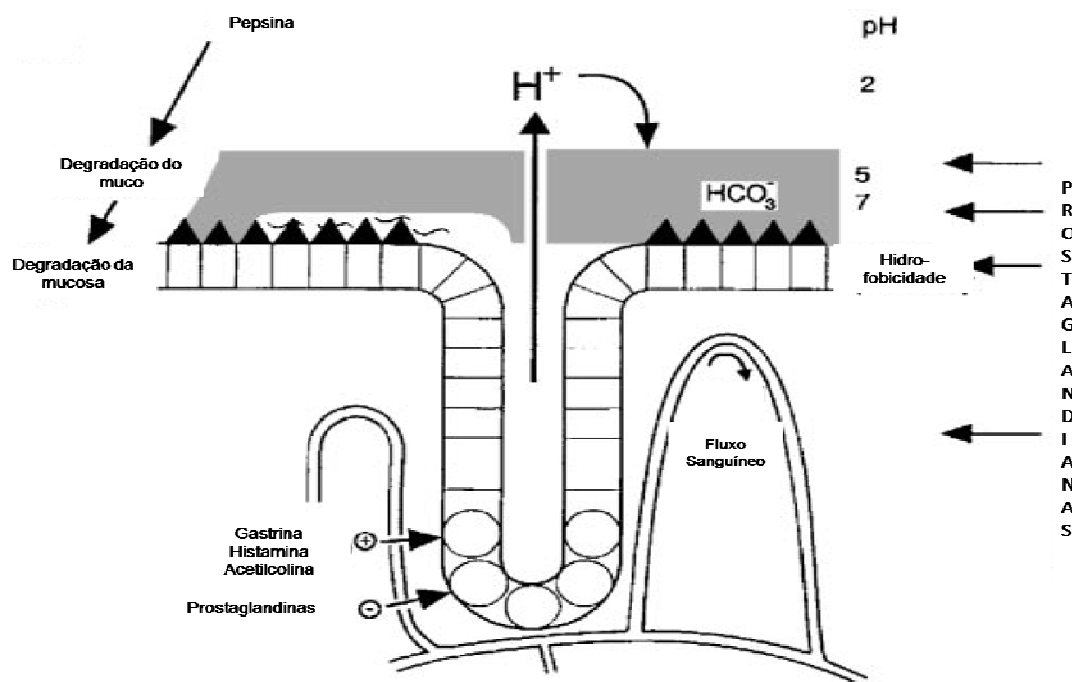


Figura 4. Mecanismos de defesa de mucosa gástrica (Hawkey, 2000).

Um pequeno desequilíbrio entre os mecanismos agressores da mucosa e os mecanismos protetores poderá causar lesão (Fig. 5) que no Brasil provoca alto índice de morbidade (Wallace e Granger, 1996). Assim, o desenvolvimento de uma terapêutica adequada para o tratamento das úlceras pépticas tornou-se de vital importância (Vinagre et al., 2005). As alternativas terapêuticas disponíveis para regulação da secreção ácida buscam modificar a influência neural, por meio de cirurgias, ou alterar os mecanismos que envolvem os segundos mensageiros na célula parietal, através da utilização de antagonistas muscarínicos ou histamínicos. A produção do ácido depende, numa primeira etapa, de histamina, acetilcolina e gastrina, primeiros mensageiros do processo (Almeida, 2004). Uma outra terapia utilizada é o bloqueio da bomba  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase, que é a responsável pelo último evento da cascata de reações da secreção ácida (Goodman e Gilman, 2006).

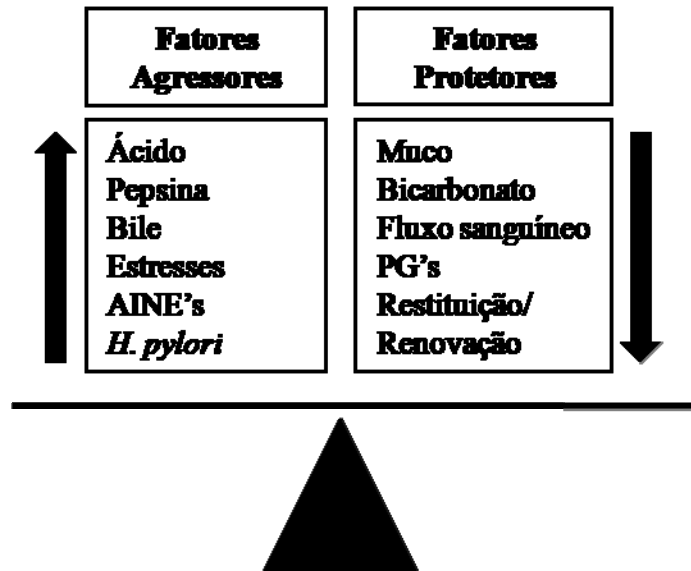


Figura 5. Esquema fisiopatológico atual da úlcera péptica (Modificado de Vinagre et al., 2005). PG's – prostaglandinas; AINE's – Antiinflamatório não esteroidais

As drogas utilizadas atualmente no tratamento de úlceras gástricas não são totalmente eficazes na cicatrização das mesmas. Entre as drogas empregadas, temos antiácidos, anticolinérgicos, antagonistas do receptor  $H_2$  para histamina e inibidores de bomba de próton (Tab. 2). Embora raramente nos dias atuais sejam utilizados, procedimentos cirúrgicos, como a vagotomia, ainda são indicados para alguns casos da patologia (Vinagre et al., 2005).

Tabela 2: Classificação dos citoprotetores gástricos

<b>Classificação</b>	<b>Medicamentos</b>
Antiácidos	hidróxidos (alumínio/magnésio); bicarbonato de sódio; carbonato de cálcio; silicatos; fosfatos
Agentes citoprotetores	sucralfato; bismuto coloidal
Antagonista de receptor H <sub>2</sub>	cimetidina; ranitidina; famotidina; nizatidina
Antagonistas muscarínicos	pirenzepina e telenzepina
Agonista de prostaglandina	misoprostol
Inibidores de H <sup>+</sup> ,K <sup>+</sup> - ATPase	omeprazol; pantoprazol; lansoprazol; rabeprazol; esomeprazol

### 2.5- Inibidores da bomba de prótons

A “bomba de prótons” (H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase) é o mediador final da secreção de ácidos da membrana apical da célula parietal, e portanto, como é específica das células parietais, vários inibidores específicos foram desenvolvidos para ela. Uma família de benzimidazóis substituídos foi inicialmente descoberta e um destes compostos é o omeprazol (Fig. 6), que foi liberado pela “Food and Drug Administration” (FDA) para uso clínico nos Estados Unidos (korolkovas, 1988; Lindberg, 1990; Mctavish et al., 1991; Barradell et al., 1992). Estes agentes inibem a secreção de ácido a qualquer nível desejado e são considerados citoprotetores. São utilizados em pacientes com úlcera gástricas não controlada pelos antagonistas H<sub>2</sub>. Em pH neutro, o omeprazol é quimicamente estável, lipossolúvel, base fraca, sem atividade inibidora. São estas bases fracas neutras que atingem as células parietais do sangue e se difundem para os canalículos secretores, onde se tornam protonadas e, desta forma, são retidas. O agente protonado se rearranja para formar um ácido sulfênico e uma sulfenamida. A sulfenamida interage de forma covalente com os grupamentos sulfidrílica em pontos

críticos no domínio extracelular (luz) da  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase, da superfície da membrana. Assim, o omeprazol deve ser considerado pró-droga que precisa ser ativada para ser eficaz. A sua administração resulta na inibição permanente da atividade in vivo da enzima e a secreção de ácido retorna apenas após a inserção de novas moléculas de  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase na membrana luminal (Korolkovas, 1988; Lindberg, 1990; Mctavish et al., 1991).

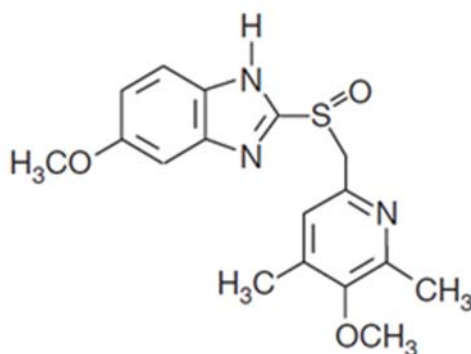


Figura 6: Molécula do fármaco omeprazol.

Os efeitos farmacológicos e farmacocinéticos do omeprazol resultam da redução da secreção gástrica através de mecanismo de ação altamente seletivo, produzindo inibição específica da enzima  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase (bomba de prótons) nas células parietais, não possuindo ação sobre receptores da acetilcolina e histamina. Portanto, produz apenas alterações pequenas no volume de suco gástrico, na secreção de pepsina e fator intrínseco e não afetam a motilidade gástrica. Como é um inibidor irreversível de  $H^+$ ,  $K^+$ -ATPase, provoca uma inibição dose-relacionada da secreção gástrica do ácido, que persiste após o seu desaparecimento no plasma (Mctavish et al., 1991).

É importante saber que, embora seja estável em pH neutro, ele é destruído pelo ácido intragástrico. Como conseqüência, se microgrânulos forem rompidos, por

exemplo, e se o paciente mastigar ou esmagar o comprimido revestido, o pH neutro da boca e do esôfago destruirão esses microgrânulos e a substância será degradada pelo ácido do estômago. Assim, uma das recomendações ao paciente é que os comprimidos não devem ser esmagados nem mastigados. A sua absorção ocorre no intestino delgado e é geralmente completada entre 3-6 horas. A ingestão concomitante de alimentos não influi na sua biodisponibilidade.

A administração prolongada de doses elevadas em animais de laboratório pode causar hiperplasia das células mucosas oxínticas, supostamente devido aos efeitos tróficos da gastrina destas células (McTavish et al., 1991).

O omeprazol é geralmente bem tolerado e o tratamento de pacientes que requerem doses de 60 a 360 mg por dia, por até 6 anos, não causou efeitos colaterais graves. Cerca de 1,5% a 3% dos pacientes que tomam omeprazol, sofrem efeitos gastrintestinais, incluindo náuseas, diarreia e cólicas abdominais. Os efeitos do SNC (por exemplo, cefaléia, tontura, sonolência) têm sido relatados menos freqüentemente (Brunton, 1996).

Este trabalho objetivou-se estudar a atividade farmacológica do extrato aquoso de *Brassica oleracea* variedade *capitata* (EAB), obtida a partir de suas folhas, de forma majoritária, investigando:

- Sua atividade cicatrizante sobre úlcera gástrica em modelos experimentais de úlcera induzida por antiinflamatório não esteroideal (ácido acetilsalicílico);
- Quantificar histomorfometricamente a redução das lesões agudas da mucosa gástrica de ratos Wistar, provocadas por ácido acetilsalicílico.
- A citoproteção fornecida pelo EAB, em comparação à proteção conferida pelo omeprazol.

### 3-Referências bibliográficas

ANDALORO, J.T.; ROSE, K.B.; SHELTON, A.M.; HOY, C.W.; BECKER, R.F. Cabbage Growth Stages. *New York's Food and Life Sciences Bulletin*, n.101, p.362-369, 1983.

ALMEIDA, A. B. A. *Atividade anti-ulcerogênica e anti-inflamatória intestinal da Arctium lappa*. 2004. 147f. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

AUGSPURGER, N. R.; SCHERER, C. S.; GARROW, T. A.; BAKER, D. H. Dietary S-Methyl methionine, a component of foods, has choline-sparing activity in chickens. *Journal of Nutrition*. v.135, p.1712-1717, 2005.

BALBACH, A.; BOARIM, D. *As Hortaliças na Medicina Natural*. 2ª ed. Itaquacetuba: Vida Plena. 1993. 280p.

BARRADELL, L. B.; FAULDS, D.; McTAVISH, D. Lansoprazole: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its therapeutic efficacy in acid-related disorders. *Drugs*, v.44, p.225-250,1992.

BATISTA, L.M.; ALMEIDA, A.B.A.; MAGRI, L.P.; TOMA, W.; CALVO, T.C.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, A.R.M. Gastric antiulcer activity of *Syngonanthus arthrotrichus*. *Biology & Pharmacology Bulletin*. v.27, p.328-332, 2004.

BRZOZOWSKI, T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and câncer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment – Polish achievements. *Journal Physiology Pharmacology*. v.3, p.99-126, 2003.

CARVALHO, C.A.; SILVA, M.B.; OLIVEIRA, T.G.; LIMA, J.M.; ROSA, M.B. Estudo espectrométrico de diferentes estágios fenológicos da *Brassica oleracea* var. *capitata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, p.249-257, 2008.

CHAVEZ, R.R. Gastric acid. *Arquivos de Gastroenterologia*, v.16, n.3, 249-253, 1996.

CHENEY, G. Vitamin U concentrate therapy of peptic ulcer. *American Journal of Gastroenterology*. v.21, n.3, p.230-250, 1954.

CHENEY G. Vitamin U therapy of peptic ulcer. *California Medicine*. v.77, n.4, p.248-252, 1952.

COSTA, M. & BROOKES, S. J. H. The enteric nervous system. *American Journal of Gastroenterology*, v. 89, p.129-137, 1994.

DE SMET, P.A.G.M.; BONSEL, G.; VAN DER KUY, A.; HEKSTER, Y.A.; PRONK, M.H.; BRORENS, M.J.A.; LOCKFEER, J.H.M.; NUIJTEN, M.J.C. Introduction to the pharmacoeconomics of herbal medicines. *Pharmacoeconomics*. v.18, n.1, p.1-7, 2000.

FERREIRA, R.A.; BOTELHO, A.S.; DAVIDE, A.C.; MALAVASI, M.M. Morphology of fruits, seeds, seedlings and saplings of *Dimorphandra mollis* Benth. - faveira (Leguminosae Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica*, v.24: p.303-309. 2001.

FILGUEIRA, F.A.R. *Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa: UFV, 2000. 402 p.

FRACARO, F.; SARTORI, M.; BIZZANI, E.; GRELMAN, E.; ECHEVERRIGARAY, S. Agronomic behavior of cabbage cultivars and hybrids in the northeast region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista Ciência Rural*, v. 29, n. 3, p.465-468, 1999.

GOODMAN & GILMAN. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 11<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2002. 1821 p.

GUINAL, O.; OKTAR, B. K.; OZÇINAR, E.; SUNGUR, M.; ARBAK, S.; YEGEN, B. C. Estradiol treatment ameliorates acetic acid-induced gastric and colonic injuries in rats. *Inflammation*, v.27, n. 6, p.351-359, 2003.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMAN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*. v.30, p.3864-3874, 1991.

HAWKEY, C. J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Gastroenterology*. v.119, p.521-535, 2000.

HEYWOOD, R. The use of animals in testing. *Atla*; v.14, n.4, p.329-333. 1987.

HIRSCHOWITZ, B.I.; KEELING, D.; LEWIN, M.; OKABE, S.; PARSONS, M.; SEWING, K.; WALLMARK, B.; SACHS, G. Pharmacological aspects of acid secretion. *Digestive Diseases and Sciences*. v.40, p.3-23, 1995.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; MITCHELL. *Robbins Patologia Básica*. 8<sup>a</sup>ed., São Paulo: Elsevier Editora Ltda, 2008. 1028p.

KUTCHAI, H.C. *Gastrointestinal secretions*. 2.ed., Mosby-Year Book Inc., St. Louis, Missouri, 1996. 589p.

KOROLKOVAS, A. *Química Farmacêutica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

LINDBERG, P. Omeprazole: the first proton pump inhibitor. *Medicinal Research Reviews*. v.10, p.1-54, 1990.

LÉDO, F.J.S.; SOUZA, J.A.; SILVA, M.R. Avaliação de cultivares e híbridos de repolho no Estado do Acre. *Horticultura Brasileira*, v.18, n.2, p.138-140, 2000.

LEWIS, D. A. e HANSON, P. J. Anti-ulcer drugs of plant origin In: Progress in medicinal chemistry. VI 28. Ed. G. P. Ellis and G. B. West. *Elsevier Science*, p.201-231, 1991.

LIND, T.; CEDERBERG, C.; EKENVED, G.; HAGLAND, U.; OLBE, L. Effect of omeprazole (a gastric proton pump inhibitor) on pentagastrin stimulated acid secretion in man. *Gut*, v.24, p.270-276, 1983.

MATOS, D. S. *Avaliação do efeito cicatrizante de diferentes Formulações fitoterápicas do extrato de repolho (Brassica oleracea var. capitata) em coelhos*. 2008. 45f.

- Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)-Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares, 2008.
- MCTAVISH, D.;BUCKLEY,M.M.; HEEL, R C. Omeprazole. An updated review of its pharmacology and therapeutic use in acid-related disorders. *Drugs*. v.42, p.138-170, 1991.
- MONSALVE, C.; CANO, A. La familia Brassicaceae em la provincia de Huaylas, Ancash. *Revista Peruana Biologia*. v.10 n.1, p.20-32, 2003.
- OLIVEIRA, T. G.; CARVALHO, C. A.; DAL’PIVA, G. G.; CARVALHO, L. M.; ROSA, M. B. Perfil cromatográfico e espectrofotométrico de diferentes estágios fenológicos da *Brassica oleracea* var. *capitata*. *Revista Eletrônica de Farmácia*. v.4, n.2, p.142-152, 2007.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE / UNICEF. *Cuidados Primários em Saúde*. Relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários da Saúde, Alma-Ata, URSS, 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: Ministério da Saúde, 1979. p.64
- PAHLOW, M. *Das grosse Buch de Heilpflanzen. Gesund durch die Heilkräfte der Natur*. Berlin: Gräfe und Unzer edt. 2000, p.198-200.
- POHLE, T & DOMSCHKE, W. Gastric function measurements in drug development. *Journal Clinical Pharmacology*. v.56, n.2, p.156-64, 2003.
- RANOCHA, P.; MCNEIL, S. D.; ZIEMAK, M. J.; LI, C.; TARCZYNSKI, M. C.; HANSON, A. D. The S-methylmethionine cycle in angiosperms: ubiquity, antiquity and activity. *The Plant Journal*. v.25, n.5, p.575–584, 2001.
- RIBEIRO, S.M.L.; CAMPOS, P.; TIRAPGUI, J. O rato como animal de laboratório: histórico, dados biológicos e análise crítica de seu uso. *Revista de Farmácia Bioquímica Universidade de São Paulo*, v.31, n.1, p.21-28. 1995.
- SALÉN, J.C.W. Animal models: principles and problems. In: ROLLIN, B.E; KESSEL, M.L. *The experimental animal in biomedical research: care, husbandry and well-being: na overview by species*. 3.ed. Boston: CRC Press, 1995. 560p.
- SCHUBERT, M. L. & SHAMBUREK, R. D. Control of acid secretion. *Gastroenterology Clinics of America*, v.19, p.1-25, 1990.
- SHELDON, J.W., BALICK, M.J., LAIRD, S.A. Ed. New York Botanical Garden. *New York*, p.87- 92, 1997.
- SILVA JÚNIOR, A.A. *Repolho: fitologia, fitotecnia, tecnologia alimentar e mercadológica*. Florianópolis: EMOASC, 1987. 259 p.
- SILVA JÚNIOR, A.A.; MIURA, L.; YOKOYAMA, S. Repolho: novas cultivares de verão. *Agropecuária Catarinense*, v.1, n.3, p.47-49, 1988.
- SIMÕES, C.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMÃO, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5.ed., Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS, 2004. 821p.

SILVA, M. B. ; SILVA, C. A.; MALAQUIAS, L. C. C.; SARANDY, M. M.; FREIRE, M. C. M.; ANTUNES, F. R.; COSTA, A. S. V. da . Comparative effect of a phytotherapeutic product from *Brassica* sp as cicatrizing. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.8, p.136-138, 2006.

SNITKOFF, G.G. Testes biológicos. In: Gennaro, A.R. *Remington: a ciência e a prática da farmácia*. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 556-568p.

SOUZA BRITO, A. R. M.; NUNES, D. S. Ethanopharmacology and sustainable development of new plant-derived drugs. *Ciência e Cultura*, v.49, n.5-6, p.402-408, 1997.

SUNDLER, F.; EKBLAD, E.; HAKANSON, R. The neuroendocrine system of the gut: an update. *Acta Oncologica*, v.30, p.419-27, 1991.

TUROLLA, M. S. R. e NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. v.42, n.2, p.289-306, 2006.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J.. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*. v.29, n.2, p.326-337, 2006.

VINAGRE, A. M.. *Efeito anti-ulcerogênico do extrato de Chlorella vulgaris*. 74f. 2005. Dissertação (Mestrado em Biologia Funcional e Molecular)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

WALLACE, J. L.; MCKNIGHT, W.; REUTER, B. K.; VERGNOLE, N. NSAID's induced gastric damage in rats: requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology*, v.119, p.706-714, 2000.

WALLACE, J.L. e GRANGER, D.N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *The FASEB Journal*, v. 10, p.823-57, 1996.

YAO, X e FORTE, J. G. Cell Biology of Acid Secretion by the Parietal Cell. *Annual Review of Physiology*, v.65, p.103-131, 2003.

ZAVROS, Y.; RIEDER, G.; FERGUSON, A.; SAMUELSON, L.C.; MERCHANT, J.L. Genetic or chemical hypochlorhydria is associated with inflammation that modulates parietal and G-cell populations in mice. *Gastroenterology*, v.122, p.119-133, 2002.

## ARTIGO 1

### **Avaliação do efeito cicatrizante do extrato aquoso de *Brassica oleracea* var. *capitata* (Brassicaceae) em úlceras gástricas de ratos Wistar induzidas por ácido acetilsalicílico**

#### **RESUMO**

Com intuito de validar os achados etnobotânicos, este trabalho teve por objetivo investigar os efeitos cicatrizantes do extrato aquoso de *Brassica oleracea* var. *capitata* (EAB), analisando histologicamente as úlceras induzidas por ácido acetilsalicílico. Foram avaliados cinco tratamentos: EAB a 250, 500 e 1000 mg/kg, omeprazol a 20mg/kg e veículo aquoso; A administração foi realizada uma vez ao dia por gavagem em um período de cinco dias. Ao término do tratamento, após eutanásia por sobre dose de Tiopental Sódico, o estômago dos animais foi retirado, fixado em formol, incluído em parafina histológica e as lâminas analisadas em microscópio de luz para análise histopatológica. Os dados da cicatrização da mucosa gástrica foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Os resultados demonstraram que o extrato aquoso de EAB, proporcionou a cicatrização das úlceras gástricas de ratos Wistar. O resultado obtido com o EAB foi semelhante ao omeprazol, agindo de maneira não prejudicial, e sim proporcionando condições adequadas para o restabelecimento do tecido.

**Palavras-chave:** ácido acetilsalicílico, *Brassica oleracea* var. *capitata*, cicatrização, úlcera gástrica.

## **ABSTRACT**

In order to validate the ethnobotanical findings, this work aimed the investigation of the effect of *Brassica oleracea* var. *capitata* (Brassicaceae) aqueous extract (EAB), by the analysis of the histological features of ulcers induced by acetylsalicylic acid. Five treatments, EAB in concentration of 250, 500 e 1000mg/Kg, 20mg/kg of omeprazole and aqueous vehicle were investigated. The treatments were administrated by gavage once a day, during a period of five days. Finished the treatment period, the animal's stomachs were removed after euthanasia by Sodic Thiopental overdose, fixed in formol and included in histological paraffin. The laminas were submitted to histopathological analysis through light microscope observation. The obtained data were statistically analyzed by Tukey test (p value <0,05). The results demonstrated that the aqueous extract of EAB, promoted the cicatrization of the peptic ulcers of rats Wistar. The result obtained with EAB was similar to the omeprazole, acting in way no harmful, but providing appropriate conditions for the re-establishment of the tissue.

**Key words:** acetylsalicylic acid, *Brassica oleracea* var. *capitata*, healing, gastric ulcer.

## **1 – INTRODUÇÃO**

A administração crônica de antiinflamatórios não esteroidais (AINE's) está associada com o desenvolvimento de efeitos adversos gastrintestinais, como erosões gástricas, gastrites ou úlceras duodenais, além de complicações como hemorragia ou perfurações gastrointestinais (Jones e Tait, 1995; Wright, 1995; Berenguer et al., 2002). O mecanismo etiológico dessas lesões envolve processos isquêmicos com subsequente liberação de radicais livres e surgimento de infiltrado inflamatório constituído majoritariamente por neutrófilos (Villegas et al., 2000; Beck et al., 2000; Berenguer et al., 2002).

A mucosa gástrica exposta a agentes ulcerogênicos necrotizantes como ácido acetilsalicílico, indometacina, ácidos biliares, álcool e isquemia, desenvolve características histopatológicas, alterações ultraestruturais e funcionais que resultam em

injúrias (Almeida, 2004). Recentemente vários agentes seletivos para a ciclooxygenase-2, como o NS-398, L-745,337, celecoxib e rofecoxib tem sido desenvolvidos para minimizar os efeitos adversos no aparelho digestório, mas estas drogas estão relacionadas com a diminuição das concentrações de prostaglandinas que são fundamentais no processo de manutenção da integridade da mucosa, cicatrização de úlceras gástricas, fluxo sanguíneo renal e na taxa de filtração glomerular, podendo causar insuficiência renal aguda. Esses fármacos podem promover, ainda, retenção de sódio, cloreto e água, e, por conseguinte, aumentar o volume plasmático, bem como alterar a dinâmica cardíaca. Além disso, são contra-indicadas em situações onde a mucosa já esteja inflamada, com úlceras pépticas, em quadros de doenças inflamatórias do intestino (Berenguer et al., 2002; Goodman e Gilman, 2006).

As lesões agudas da mucosa gástrica estão associadas com ruptura da superfície hidrofóbica da membrana; injúria e esfoliação da superfície do epitélio com perda da barreira e função elétrica; e injúria profunda na camada da mucosa incluindo células endoteliais vasculares e zona de proliferação celular. Quando há danos no endotélio vascular pode ocorrer uma diminuição do fluxo sanguíneo, o que reduz o aporte de oxigênio e conseqüentemente transporte de nutrientes. Todos esses eventos resultam no aparecimento de erosão e ulceração na mucosa. A diferença entre erosão e úlcera é que a erosão acomete a camada mucosa, enquanto a úlcera penetra até a camada muscular (Almeida, 2004).

As drogas utilizadas atualmente no tratamento de úlceras gástricas não são totalmente eficazes na cicatrização das mesmas. Entre as drogas empregadas, estão os antiácidos, anticolinérgicos, antagonistas do receptor H<sub>2</sub> de histamina e inibidores de bomba de próton. Embora raramente nos dias atuais sejam utilizados, procedimentos cirúrgicos, como a vagotomia, ainda são indicados para alguns casos da patologia (Vinagre et al., 2005).

A Fitoterapia constitui uma forma de terapia medicinal que vem crescendo notadamente nestes últimos anos. Atualmente o mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de 22 bilhões de dólares (Yunes et al. 2001). Em recentes publicações, muitas plantas medicinais têm sido evidenciadas como úteis no tratamento de desordens gástricas (Vinagre et al., 2005).

O repolho (*Brassica oleraceae* var. *capitata*) é uma planta herbácea e folhosa que pertence a família Brassicaceae, e tem como região de origem a Europa e o Oriente Médio. Apresenta grande versatilidade, não somente pelo seu valor nutritivo, sendo rico em cálcio, proteína e vitamina C (Filgueira, 2000; Lédo et al., 2000), mas também pelo seu caráter social, pelo fato de ser cultivada essencialmente por pequenos agricultores (Silva Júnior, 1987; Silva Júnior et al., 1988; Filgueira, 2000; Carvalho et al., 2008).

Segundo Balbach e Boarim (1993), os romanos já empregavam a *Brassica sp.*, aplicada tanto interna, como externamente como produto utilizado para limpar ferimentos e na forma de cataplasmas no tratamento das feridas. Relatos informam ainda o uso da *Brassica sp.* há mais de um milênio em processos de cicatrização de abscessos, cefalalgias idiopáticas (dores de cabeça de causa desconhecida), dores reumáticas e reumatóides, tumores, prevenção de tuberculose, auxílio em casos de afonia, desnutrição, anemia, enfermidades do estômago, úlceras internas, hemorróidas, alcoolismo, gota e reumatismo. Cheney (1954) verificou que pacientes que usaram o suco fresco de repolho obtiveram uma ação cicatrizante frente aos distúrbios gástricos, em particular na úlcera péptica, apresentando efeitos cicatrizantes das lesões.

A utilização da fitoterapia conta, em muitos casos, com uso tradicional nas populações, o que permitiria justificar sua eficácia, sendo, porém necessário ressaltar a importância dos estudos farmacológicos e toxicológicos que são indispensáveis para confirmar tais implicações, garantindo a segurança do uso. Quando utilizada de forma

segura, a fitoterapia torna-se uma aliada no tratamento de diversas patologias, inclusive distúrbios gastrintestinais, os quais acometem grande parte da população. Assim, este trabalho objetivou estudar a atividade farmacológica do extrato aquoso de *Brassica oleracea* variedade *capitata* (EAB), obtida a partir de suas folhas, investigando sua atividade cicatrizante em modelos experimentais de úlcera induzida por antiinflamatório não esteroidal (ácido acetilsalicílico). Este estudo permitirá maior compreensão da utilização e dos efeitos da espécie proporcionando uma alternativa terapêutica de baixo custo.

## **2-MATERIAL E MÉTODOS**

### *2.1-Material botânico*

As folhas de *Brassica oleracea* variedade *capitata* (Brassicaceae) foram obtidas comercialmente. O material foi lavado em água corrente, seco em estufa a 40°C e triturado em pequenas partes. As amostras foram solubilizadas em água de modo a obter uma suspensão aquosa nas concentrações de 250, 500 e 1000 mg/kg. Em seguida, as suspensões foram submetidas a 60 minutos de ultrassonicação, em temperatura ambiente (28 °C), com a finalidade extrair seus metabólitos. Todos os extratos foram filtrados à vácuo.

### *2.2-Animais*

Os animais foram manipulados de acordo com o Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório – National Research Council (2003) e em concordância com os Princípios Éticos para o uso de Animais de Laboratório preconizados pelo COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo aprovado pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da UFV, sob protocolo nº 44/2008.

Foram utilizados 25 ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*), adultos (120 dias), pesando em média 340 gramas e provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Os animais foram pesados e alojados em gaiolas individuais, constituindo 5 grupos experimentais, sendo mantidos em condições de temperatura e umidade ambiente controladas e no ciclo claro-escuro de 12h (07:00-19:00) no Laboratório de Experimentação Animal do Departamento de Nutrição. Água e ração foram disponibilizados *ad libitum*, sendo retirada a ração 24h antes da indução das úlcers, mantendo-se livre acesso à água.

A opção pela linhagem Wistar foi relacionada à experiência prévia de outros autores que realizaram estudos semelhantes.

### *2.3-Drogas utilizadas*

Para a indução das lesões na mucosa gástrica foi utilizado o antiinflamatório não esteroide ácido acetilsalicílico (400mg/kg, via oral - *v.o.*). Para o grupo controle foi administrado o inibidor da bomba de prótons omeprazol (20mg/kg, *v.o.*). No teste com EAB, foram utilizados as concentrações de 250, 500 e 1000 mg/kg, *v.o.*

### *2.4-Avaliação dos efeitos do EAB nos animais*

Os animais foram divididos em cinco grupos (grupo A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, e C) conforme Tabela 1, seguindo o modelo descrito por Ajaikumar et al. (2005) com modificações por Berenguer (2002) e Gönül et al. (2004). Todos os tratamentos foram realizados por gavagem.

Para o procedimento de indução os animais ficaram em jejum alimentar por 24 horas, recebendo então ácido acetilsalicílico (400mg/kg, *v.o.*, dissolvido em HCl 0,2N) em duas doses, com intervalo de 12h entre cada administração, em uma proporção de

1mL/100g de peso corporal. Após 24h da última dose indutora da lesão todos os animais foram tratados diariamente conforme o tratamento correspondente ao seu grupo, por um período de 5 dias. O grupo A recebeu tratamento com omeprazol (20mg/kg, *v.o.*), os grupos B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub> com EAB nas concentrações de 250, 500 e 1000 mg/kg, *v.o.*, respectivamente, e o grupo C apenas o veículo aquoso. Todos os tratamentos foram realizados na mesma proporção, ou seja, 1mL/100g de peso corporal. Os animais foram eutanasiados no 6º dia, por sobredose anestésica de tiopental sódico (60 mg/Kg) (Resolução 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária), para exérese do estômago e observação das lesões gástricas.

Tabela 1. Grupos de animais e seus respectivos tratamentos por via ora.

<b>Grupos</b>	<b>Tratamentos</b>	<b>Concentrações</b>
A	Omeprazol	20 mg/kg
B <sub>1</sub>	EAB	250 mg/kg
B <sub>2</sub>	EAB	500 mg/kg
B <sub>3</sub>	EAB	1000 mg/kg
C	Veículo	-

EAB – Extrato aquoso de *Brassica oleracea* variedade *capitata*;

### 2.5-Avaliação macroscópica das lesões gástricas

Após remoção do estômago, uma incisão foi realizada ao longo da sua curvatura maior. O órgão foi lavado com solução de NaCl (0,9%) para retirada de restos alimentares e em seguida fixado em solução de formol neutro a 10% tamponado, por 24h. O órgão foi analisado em estereomicroscópio Olympus® SZ40, onde foram selecionados os fragmentos contendo ulcerações.

### 2.6-Avaliação microscópica das lesões gástricas

Os fragmentos selecionados foram destinados ao estudo sob microscopia de luz, e submetidos às técnicas histológicas rotineiras, desde a desidratação em série crescente

de alcoóis 70, 80, 90 e 100%, até a inclusão em parafina histológica purificada (PF 56-58° C).

Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação manual (Leica® 2045), com espessura de 4µm e os cortes teciduais corados pelas técnicas de Hematoxilina-Eosina (HE) (Grimaldi Filho, 1981) e Tricrômico de Gomori (TG) (Bancroft et al, 1996).

A análise histológica foi realizada no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV, em microscópio de luz Olympus® BX 41. Formam obtidas imagens em fotomicroscópico Olympus® C31, que foram analisadas morfometricamente utilizando o programa Image-Pro Plus® (Media Cybernetics).

### *2.7-Análise estatística*

Para interpretação dos resultados da análise morfométrica, foi verificada a presença da normalidade pelo teste de Lilliefors. Após constatada a normalidade foi realizada análise de variância (ANOVA) na investigação das possíveis diferenças entre os vários grupos estudados, seguido do teste de Tukey ao nível de  $p \leq 0,05$  (Siegel e Castellan, 1988). As análises estáticas foram realizadas em software SAEG® 2007.

## **3-RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados da análise morfométrica (Tab. 1) permitiram concluir que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos com EAB e omeprazol. Entretanto, verificou-se diferença significativa entre o grupo controle tratado com o veículo, grupo C ( $p < 0,05$ ), e os demais tratamentos, como ilustrado na Fig. 1. Embora não tivesse ocorrido diferença estatística entre os demais tratamentos (A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub>), o tratamento B<sub>3</sub> em valores absolutos demonstrou ser mais eficaz por haver uma melhora mais eminente no quadro das lesões. Tais resultados permitem concluir

que o EAB pode ser equiparado ao omeprazol. Entretanto, em números absolutos, o EAB (B<sub>3</sub>) apresentou cerca de 95,77% a mais de redução das lesões quando comparado ao grupo tratado com omeprazol (grupo A). Deve-se ressaltar que o repolho é uma hortaliça de fácil cultivo e acesso, baixo custo e não apresenta efeitos adversos aparente. Além disso, o EAB não é uma substância isolada em especial, o que nos leva a inferir uma possível superioridade do EAB frente ao omeprazol.

Apesar do omeprazol proporcionar ótima resposta cicatrizante ao tecido ulcerado devido ao seu efeito anti-secretor, deve-se ressaltar que há uma preocupação com a sua terapêutica prolongada, que está relacionada ao crescimento bacteriano acloridria-dependente do tubo digestivo superior e à consequente superprodução de nitritos e, portanto, a um eventual risco de câncer gástrico. Também foi observada em outros estudos realizados com ratos uma hipergastrinemia, incidência elevada de tumor carcinóide e acloridria prolongada após o uso de omeprazol (Dani e Castro, 1993). O que deixam antever que seu uso clínico deverá ser conduzido com cautela e sob vigilante observação.

Tabela 1. Área média das úlceras gástricas de acordo com os tratamentos. A – omeprazol; B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> e B<sub>3</sub> – EAB; e C – somente veículo aquoso.

Tratamentos	Número de animais	Média*(mm <sup>2</sup> )	Percentual médio (%)
A	5	19,75 <sub>b</sub>	13,18
B <sub>1</sub>	5	10,01 <sub>b</sub>	6,73
B <sub>2</sub>	5	22,57 <sub>b</sub>	15,07
B <sub>3</sub>	5	0,83 <sub>b</sub>	0,56
C	5	149,80 <sub>a</sub>	100,00

\*médias seguidas de uma mesma letra não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

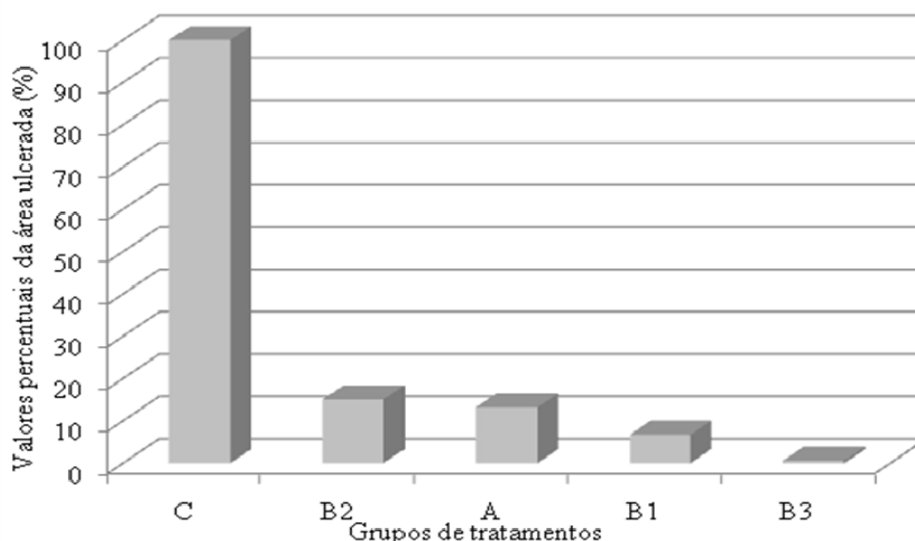


Figura 1. Representação percentual dos valores médios da área ulcerada nos respectivos tratamentos: omeprazol (grupo A), EAB (grupos B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, e B<sub>3</sub>) e o veículo (grupo C).

Neste experimento, o modelo de indução por AINE's utilizado proporcionou a produção de úlceras na região aglandular do estômago de todos os animais analisados, conforme Fig. 2. Uma análise histopatológica foi realizada na região glandular, a fim de confirmar a ausência de ulcerações nesta região (Fig. 3). A região glandular da mucosa gástrica de ratos Wistar é menos acometida pela formação de lesões, devido às propriedades protetoras existentes ali, ou seja, presença de muco e bicarbonato produzidos pelas células epiteliais superficiais, após um sinal estimulador originado pelas prostaglandinas (PG's) (Dani e Castro, 1993; Hawkey, 2000). Estes lipídeos são sintetizados pelas ciclooxigenases (COX) e possuem afinidade por receptores para prostaglandinas (EP<sub>3</sub>) na porção basal das células epiteliais superficiais da mucosa gástrica levando a estimulação da liberação dos fatores protetores (Goodman e Gilman, 2006).

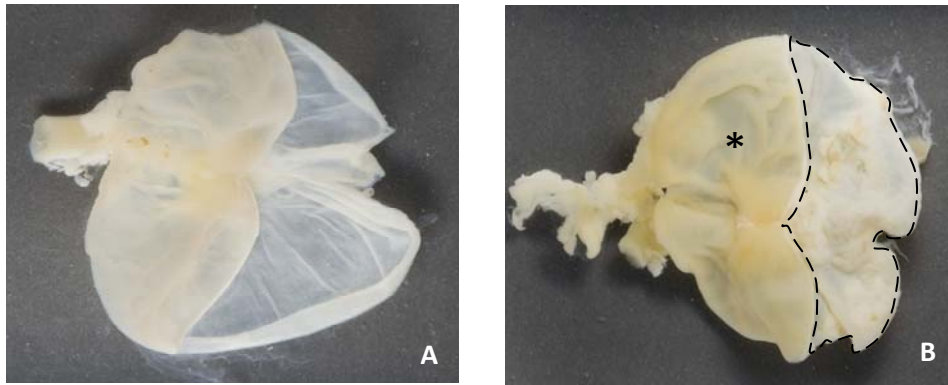


Figura 2: Anatomia normal e patológica do estômago de ratos Wistar. A – estômago normal; B – estômago com ulcerações na região aglandular (área tracejada); região glandular (\*).

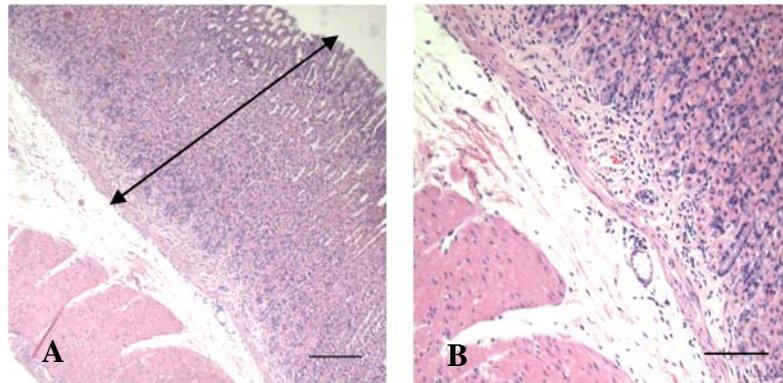


Figura 3. Histopatologia da região glandular da mucosa fúndica do estômago de ratos Wistar, evidenciando a ausência de ulcerações. A – barra 100µm; B – barra 150µm. Mucosa íntegra na região fúndica (Seta dupla). HE.

Vinagre (2005) relata que o fenômeno da lesão gástrica ocorre quando uma agressão ou diminuição na resistência da mucosa quebra o equilíbrio fisiológico entre as barreiras de proteção e os fatores ulcerogênicos. Segundo Goodman e Gilman (2006) inúmeros fatores estão implicados na patogênese da úlcera gástrica. Entre eles estão o aumento da secreção de ácido clorídrico, a redução da síntese de prostaglandinas que culmina com a diminuição da secreção de muco, além da presença da bactéria *Helicobacter pylori*.

A avaliação histopatológica dos resultados (Fig. 4) permitiu confirmar as observações macroscópicas realizadas previamente. As úlceras gástricas analisadas histologicamente consistiam em duas estruturas: a margem da úlcera formada pela borda adjacente não necrosada, delimitando a área da lesão, e a base da úlcera que é composta pelo tecido necrosado. Foi observado uma migração das bordas da mucosa, proliferação celular, neovascularização e formação do tecido de granulação. Além disso, foi observado presença de figuras de mitoses na base da úlcera, indicando reepitelização. As úlceras e erosões observadas se caracterizavam por intensa reação inflamatória com abundante tecido de granulação, bem como, por intensa proliferação do tecido conjuntivo fibroso. Segundo Hawkey (2000), todos estes processos são controlados por citocinas e fatores de crescimento, incluindo o fator de crescimento transformante  $\beta$ , fator de crescimento epidermal e fatores de crescimento de fibroblastos o que é fundamental para um processo de cicatrização.

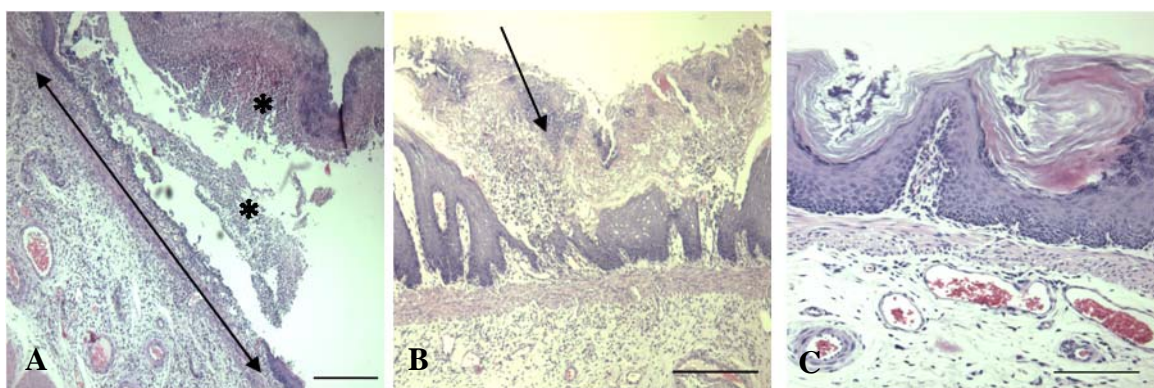


Figura 4. Lesões da mucosa gástrica de ratos Wistar. A - grupo C; B - grupo A e C - grupo B (tratado com EAB). Extensão entre bordas da lesão (seta dupla); infiltrado inflamatório e o produto da degradação tecidual (seta); produto de degradação tecidual destacado da mucosa devido a fragilidade do tecido (\*). HE - barras 150 $\mu$ m.

O infiltrado inflamatório estava presente em todos os cortes histológicos do grupo controle tratado com veículo, entretanto o mesmo apresentou-se de modo discreto nos cortes histológicos dos animais do grupo tratado com o EAB e omeprazol (Fig. 4).

Além disso, foi observado uma maior espessura da mucosa gástrica dos animais dos grupos tratados com EAB e omeprazol quando comparado com o grupo tratado apenas com o veículo.

Ao analisar a neovascularização, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre todos os grupos analisados. Entretanto, foi verificada (Fig. 5) a presença de ampla vascularização do tecido conjuntivo em todos os tratamentos, processo de suma importância no momento da reepitelização, favorecendo assim o processo de cicatrização conforme descrito por Tarnawski et al. (2001).

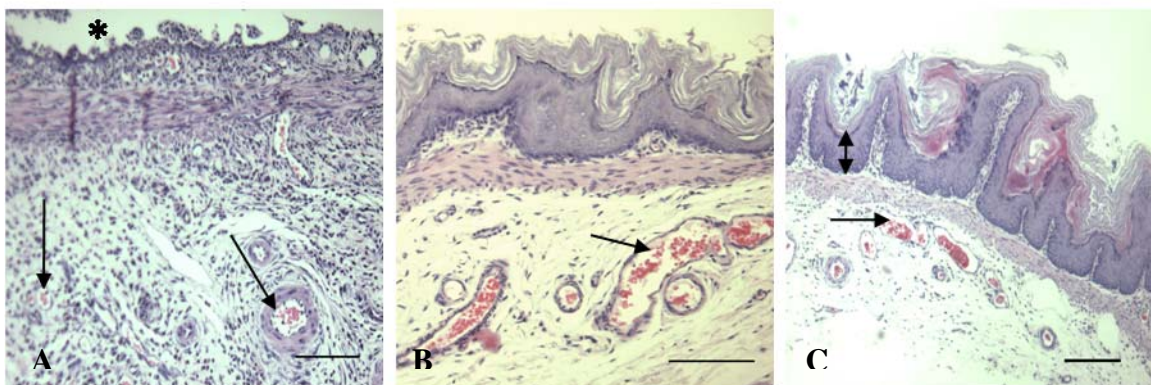


Figura 5: Efeitos dos tratamentos na microcirculação da submucosa gástrica após tratamento. A - grupo C, administração do veículo, B - grupo controle tratado com omeprazol e C- Grupo B, tratamento com EAB. Vasos congestionados (setas); restos epiteliais (\*); reconstituição do tecido epitelial de revestimento com diferenciação de suas camadas (seta dupla). A e C - barras 150µm; B - barra 100 µm. HE.

A análise das preparações coradas com tricrômico de Gomori (Fig. 6) nos permite inferir que houve proliferação das fibras colágenas da porção profunda na base da úlcera dos grupos tratados com EAB e omeprazol. As fibras colágenas já se encontravam organizadas e dispostas paralelamente na base da úlcera. O grupo controle C apresentou um evidente infiltrado inflamatório e um atraso na síntese das fibras colágenas quando comparado às preparações dos grupos tratados com EAB e omeprazol. Estes dados estão de acordo com os resultados obtidos por Sarandy (2007)

onde foi observada uma maior organização das fibras colágenas em processos de cicatrização quando era aplicado o extrato de *Brassica oleracea* var. *capitata* e feridas cutâneas de ratos Wistar. Resultados semelhantes foram obtidos por Matos (2008) ao avaliar o efeito cicatrizante de diferentes formulações fitoterápicas do extrato de repolho em processos de cicatrização de feridas cutânea coelhos.

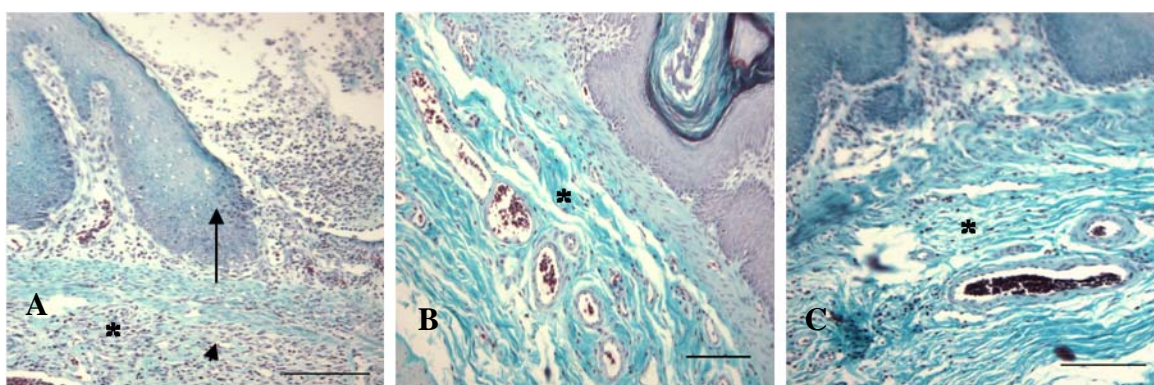


Figura 6. Efeitos dos tratamentos na proliferação de fibroblastos da camada submucosa do estômago de ratos Wistar após tratamento. A - grupo controle; B - grupo tratado com omeprazol e C - grupo tratado com EAB. Fibras colágenas do tecido conjuntivo (\*); infiltrado inflamatório (ponta de seta); epitélio migrando a partir das bordas das margens da úlcera (seta). Barras 150 $\mu$ m. TG.

Os resultados da cicatrização das úlceras gástricas neste trabalho estão de acordo com aqueles obtidos em estudos envolvendo a espécie *Brassica sp.*, onde Cheney (1952), avaliando o potencial cicatrizante do suco de repolho frente a úlceras gástricas, verificou que o mesmo após ser administrado diariamente aos seus pacientes proporcionou alto índice de cicatrização. O composto obtido do repolho foi denominado cloreto metioninasulfônio (S-metilmetioniona), relacionado com a atividade cicatrizante foi então chamado de vitamina desconhecida “Unknown Vitamin” ou vitamina da úlcera, e supostamente foi sugerido o termo vitamina U.

Nossos resultados estão de acordo também com aqueles obtidos por Gonzalez e Di Stasi (2002), que concluíram que os flavonóides podem ser reconhecidos como compostos ativos contra lesões gástricas. Em estudos anteriores, realizados por Carvalho et al. (2008), foi verificado a presença destes metabólitos secundários, assim como também de compostos fenólicos, triterpenos e esteróides. Alcaraz e Hoult (1985) verificaram que os metabólitos secundários revelaram ação gastroprotetora por aumento do conteúdo de prostaglandinas na mucosa. Também verificou-se redução da secreção de histamina pela inibição da enzima histidina descarboxilase e inibição do desenvolvimento do *Helicobacter pylori* (Bronner e Landry, 1985; Beil et al., 1995; Havsteen, 2002).

Os compostos obtidos de plantas medicinais com atividade cicatrizante e antiulcerogênica apresentam estruturas químicas diversas e distintos mecanismos de ação. Os mecanismos de atuação do EAB ainda não são claros, mas poderiam envolver a ativação de fatores de proteção da mucosa gástrica, assim como a redução da secreção ácida e de pepsinogênio, além do aumento do fluxo sanguíneo gástrico, muco e bicarbonato (Borrelli e Izzo, 2000). Entretanto estes dados são de suma importância, pois permitem correlacioná-los com o efeito cicatrizante do extrato analisado.

Verifica-se que os resultados são similares aqueles apresentados na literatura e com outros estudos já realizados, confirmando assim os efeitos terapêuticos de *Brassica oleracea* var. *capitata*, sob forma de extrato aquoso, para a cicatrização de úlceras gástricas em ratos Wistar. A planta em questão mostrou-se um interessante alvo de estudos, visando o desenvolvimento de fitomedicamentos ou a busca de novas entidades químicas com ação cicatrizante frente a úlcera gástrica. Sabe-se que a atividade do fármaco está intimamente relacionada com a sua concentração e com seu coeficiente de atividade no veículo (Lachman et al, 2001). Entretanto, novos estudos visando analisar seu efeito terapêutico são necessários, pois desta forma devem ser realizados testes

utilizando concentrações maiores do extrato, e simultaneamente verificar a toxicidade ao organismo, além de testar o extrato sob outras vias de administração e formulações farmacêuticas.

#### 4- CONCLUSÕES

Conclui-se que o extrato aquoso de EAB, proporcionou a cicatrização das úlceras gástricas de ratos Wistar. O resultado obtido com o EAB foi semelhante a um fármaco comercializado comumente, o omeprazol, agindo de maneira não prejudicial, e sim proporcionando condições adequadas para o restabelecimento do tecido.

#### 5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJAIKUMAR, K.B.; ASHEEF, M.; BABU, B.H.; PADIKKALA, J. The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. (Pomegranate) methanolic extract. *Journal of Ethnopharmacology*. v.96, p.171–176, 2005.

ALCARAZ, M.J; HOULT, J.R.S. Effects of hypolaetin 8-glucoside and related flavonoids on soybean lipoxygenase and snake venom phospholipase A2. *Archives Internationales Pharmacodynamie*. v.278, p.4-12. 1985.

ALMEIDA, A.B.A. *Atividade anti-ulcerogênica e antiinflamatória intestinal da Arctium lappa*. 2004. 147f. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

BANCROFT, J. D.; STEVENS, A. *Theory and practice of histological techniques*. New York:Churchill Livingstone, 1996. 766p.

BECK, P.L.; XAVIER, R.; LU, N. Mechanisms of NSAID-induced gastrointestinal injury defined using mutant mice. *Gastroenterology*, v.119, p.699– 705. 2000.

BERENQUER, B.; LASTRA, C. A.; MORENO, F. J.; MARTI'N, M. J. Chronic gastric ulcer healing in rats subjected to selective and non-selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *European Journal of Pharmacology*, v.442, p.125–135. 2002.

BEIL, W.; BIRKHOLZ, C.; SEWING, K. F. Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. *Arzneimittel-forschung*. v.45, p.697-700. 1995.

- BORRELLI, F. & IZZO, A.A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. *Phytotherapy Research*, v.14, p.581-591. 2000.
- BRONNER, C. & LANDRY, Y. Kinetics of the inhibitory effect of flavonoids on histamine secretion from mast cells. *Agents Actions*, v.16, p.147-151. 1985.
- CARVALHO, C.A.; SILVA, M.B.; OLIVEIRA, T.G.; LIMA, J.M.; ROSA, M.B. Estudo espectrométrico de diferentes estágios fenológicos da *Brassica oleracea* var. *capitata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, p.249-257. 2008.
- CHENEY G. "Vitamin U therapy of peptic ulcer". *California Medicine*. v.77, n.4, p.248-252. 1952.
- CHENEY, G. "Vitamin U concentrate therapy of peptic ulcer". *American Journal of Gastroenterology*. v.21, n.3, p.230-250. 1954.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução no 714, de 20 de junho de 2002. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. Diário Oficial da União (DOU), 21 de junho de 2002. Disponível em: < [http://www.cfmv.org.br/legislacao/resolucoes/resolucao\\_714.htm](http://www.cfmv.org.br/legislacao/resolucoes/resolucao_714.htm) >. Acesso em: 30 junho. 2009.
- DANI, R. e CASTRO, L. P. *Gastroenterologia clínica*. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 1103p.
- FILGUEIRA, F.A.R. *Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa: UFV, 2000. 402 p.
- FREIBURG, J. L. *Abdominale Sonographie bei der Ratte (Rattus norvegicus f. domestica)*. 2007, 131f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária)-Universität München, München, 2007.
- GÖNÜL, BILGE; AKBULUT, K. G.; ÖZER, Ç.; YETKIN, G.; ÇELEBI, N. The role of transforming growth factor - formulation on aspirin-induced ulcer healing and oxidant stress in the gastric mucosa. *Surgery Today*, v.34, p.1035-1040. 2004.
- GONZALEZ, F.G; DI STASI, L.C. Antiulcerogenic and analgesic activities of the leaves of *Wilbrandia ebracteata* in mice. *Phytomedicine*. v.9, p.125-134. 2002.
- GOODMAN E GILMAN. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 11.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2002. 1821 p.
- GRIMALDI, G. F. *Manual de técnica histológica*. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz.1981. 70p.
- HAVSTEEN, B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, v.96, p.67-202. 2002.
- HAWKEY, C. J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Gastroenterology*, v.119, p.521-535. 2000.

HIROSE, H.; TAKEUCHI, K.; OKABE, S. Effect of indomethacin on gastric mucosal blood flow around acetic acid induced gastric ulcers in rats. *Gastroenterology*, v.100, p.1259–1265. 1991.

JONES, R.H.; TAIT, C.L. Gastrointestinal side-effects of NSAIDs in the community. *British Journal of Clinical Practice*, v.49, p.67–70. 1995.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A; KANING, J.L. *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*. 5.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. 953p.

LÉDO, F.J.S; SOUZA, J.A; SILVA, M.R. Avaliação de cultivares e híbridos de repolho no Estado do Acre. *Horticultura Brasileira*. v.18, p.138-140. 2000.

LEVI, S.; GOODLAD, R.A.; LEE, C.Y. Inhibitory effect of non-steroidal drugs on mucosal cell proliferation associated with gastric ulcer healing. *Lancet*, v.336, p.840–843. 1990.

MATOS, D. S. *Avaliação do efeito cicatrizante de diferentes Formulações fitoterápicas do extrato de repolho (Brassica oleracea var. capitata) em coelhos*. 2008. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)-Universidade Vale do Rio Doce, Governador Valadares, 2008.

MIZUNO, H.; SAKAMOTO, C.; MATSUDA, K. Induction of cyclooxygenase 2 in gastric mucosal lesions and its inhibition by the specific antagonist delays healing in mice. *Gastroenterology*, v.112, p.387–397. 1997.

MOURA, S.A.L. *Efeito dos extratos aquoso e etanólico da própolis verde de Minas Gerais a 5% no processo de cicatrização de feridas por segunda intenção, produzidas experimentalmente, em coelhos*. 2004. 72f. Dissertação Mestrado em Medicina Veterinária)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

NRC. National Research Council. *Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório*. Goiânia: AAALAC/COBEA, 2003. 75-89 p.

OGIHARA, Y. e OKABE, S. Mechanism by which indomethacin delays gastric ulcer healing in the rat: inhibited contraction of the ulcer base. *Japanese Journal of Pharmacology*, v.61, p.123–131. 1993.

OKABE, S. e AGAMASE, K. An overview of acetic acid ulcer models: the history and state of the art of peptic ulcer research. *Biological Pharmaceutical Bulletin*. v.28, n.8, p.1321-1341. 2005.

RANOCHA, P.; MCNEIL, S. D.; ZIEMAK, M. J.; LI, C.; TARCZYNSKI, M. C.;HANSON, A. D. The S-methylmethionine cycle in angiosperms: ubiquity, antiquity and activity. *The Plant Journal*. v.25, n.5, p.575–584. 2001.

SARANDY, M. M. *Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (Brassica oleracea var. capitata) em ratos Wistar*. 2007. 49f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

SIEGEL, S. e CASTELLAN, J. R. N. *J. Nonparametric Statistics*. 2.ed. New York, McGraw - Hill. Int. Ed. 1988.

SILVA JÚNIOR, A.A. *Repolho: fitologia, fitotecnia, tecnologia alimentar e mercadológica*. Florianópolis: EMOASC, 1987. 259 p.

SILVA JÚNIOR, A.A.; MIURA, L.; YOKOYAMA, S. Repolho: novas cultivares de verão. *Agropecuária Catarinense*, v.1, n.3, p.47-49. 1988.

SINGH, G.; RAMEY, D.R.; MORFELD, D.; SHI, H.; HATOUM, H.T.; FRIES, J.F. Gastrointestinal tract complications of non-steroidal anti-inflammatory drug treatment in rheumatoid arthritis a prospective observational cohort study. *Archives of Internal Medicine*, v.156, p.1530-1536. 1996.

TARNAWSKI, A.; DOUGLASS, T.G.; STACHURA, J.; KRAUSE, W.J.; Quality of gastric ulcer healing: histological and ultrastructural assessment. *Alimentary Pharmacology Therapy*. v.5, n.1, p.79-90. 1991.

VILLEGAS, I.; MARTÍN, M.J.; LA CASA, C. Effects of meloxicam on oxygen radical generation in rat gastric mucosa. *Inflammation research*, v.49, p.361– 366. 2000.

VINAGRE, A. M.. *Efeito anti-ulcerogênico do extrato de Chlorella vulgaris*. 74f. 2005. Dissertação (Mestrado em Biologia Funcional e Molecular)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

WRIGHT, V. Historical overview of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *British Journal of Rheumatology*, v.34, p.2-4. 1995.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; CECHINEL FILHO, V.; A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Revista Química Nova*. v.24, n.1, p.147-152, 2001.

## ARTIGO 2

### **Aspectos macroscópicos e histológicos da mucosa gástrica de rato Wistar e sua utilização em modelo de úlceras gástricas**

#### **RESUMO**

A busca de novos fármacos e o uso de experimentação animal tem contribuído sobremaneira para o desenvolvimento da saúde, da ciência e tecnologia, promovendo ao longo dos anos a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de enfermidades que acometem os seres humanos. Animais de várias espécies têm sido utilizados desde os primórdios da civilização para o desenvolvimento científico, mas dentre todos os modelos experimentais aos quais podem ser induzidas úlceras gástricas, o rato Wistar, inquestionavelmente, é o mais utilizado. O objetivo deste trabalho foi realizar uma descrição anatômica e histológica do estômago de ratos Wistar visando acrescentar conhecimentos sobre esta espécie, e permitindo maior acesso à comunidade científica que faz uso da espécie em modelo de úlcera gástrica.

**Palavras-chave:** anatomia, histologia, ratos Wistar, *Rattus norvegicus*.

#### **ABSTRACT**

The search of new drugs and the use of animal experimentation has been contributing excessively to the development of the health, of the science and technology, promoting along the years the discovery of measured prophylactic and treatments of illnesses that attack the human beings. Animals of several species have been used from the origins of the civilization for the scientific development, but among all of the experimental models to the which peptic ulcers can be induced, the rats Wistar, doubtless, is the used. The objective of this work was to accomplish an anatomical and histological description of the stomach of rats Wistar seeking to increase knowledge on it is species, and allowing larger access to the scientific community that he/she makes use of the species in peptic ulcer model.

**Key words:** anatomy, histological, Wistar rats, *Rattus norvegicus*.

## **1-INTRODUÇÃO**

A pesquisa experimental com animais de laboratório tem sido a base do conhecimento e da evolução da ciência biológica, da morfologia, da fisiologia, da farmacologia e do entendimento da fisiopatologia que possibilitam os ensaios terapêuticos. Os resultados desses ensaios devem ser avaliados criteriosamente e são muitas vezes aplicados em seres humanos (Chorilli, 2007).

Bernard (1865), em seus estudos de fisiologia, lançou os princípios do uso de animais como modelo de estudo com transposição para a fisiologia humana. Seu trabalho “Introdução ao Estudo da Medicina Experimental” procurou estabelecer as regras e os princípios para o estudo experimental da medicina. A idéia de utilização de animais em pesquisas surgiu devido à necessidade do homem em entender patologias ainda não compreendidas, assim como prover novas alternativas terapêuticas (Fagundes e Taha, 2004). Atualmente, a utilização de animais no Ensino, Pesquisa e Extensão é norteadada por princípios éticos, morais e legais, ficando aqueles indivíduos, profissionais ou não, de áreas direcionadas para este uso, sujeitos às sanções no caso de transgressão das normas pré-estabelecidas (Fonseca et al., 2005).

O desenvolvimento da pesquisa experimental em animais de laboratório tem contribuído nos diferentes campos científicos e vem promovendo ao longo dos anos a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de inúmeras enfermidades que acometem os seres vivos. Como exemplos de contribuições científicas advindas de estudos realizados em animais, têm-se a descoberta da insulina, o desenvolvimento de vacinas contra diversas doenças, a produção de soros, o uso terapêutico de antibióticos e o tratamento de vários distúrbios do aparelho digestório, como por exemplo, o desenvolvimento de produtos para o tratamento de úlceras gástricas (Fagundes e Taha, 2004; Andrade, 2006).

Nos últimos 20 anos, observou-se um avanço significativo no estudo de doenças relacionadas às úlceras, gástrica e duodenal. Isto se deve, especialmente, ao

desenvolvimento de várias técnicas que têm possibilitado uma observação mais detalhada da mucosa gástrica (Brzozowski, 2003). O risco de complicação por úlcera tem aumentado em média, resultando 1,25 hospitalizações adicionais para cada 100 pacientes por ano (Almeida, 2004). A hipersecreção ácida é o aspecto mais importante da função gástrica estudado na prática clínica. A influência de alterações nessa função tem sido considerada no desenvolvimento de drogas para serem utilizadas no tratamento de úlceras gástricas (Pohle e Domschke, 2003).

Mesmo com o progresso de métodos alternativos nos últimos anos (estudos *in vitro*, cultura de células, softwares etc.), os modelos 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). Dentre todos os modelos experimentais aos quais podem ser induzidas úlceras gástricas, o rato Wistar, inquestionavelmente, é o mais intensamente utilizado. No entanto, é escasso o acervo bibliográfico enfocando aspectos histológicos e anatômicos do estômago de ratos, em especial de ratos Wistar. Portanto, este trabalho teve por objetivo descrever os aspectos macroscópicos e histológicos da mucosa gástrica de ratos Wistar, visando acrescentar conhecimentos sobre a espécie e permitir maior acesso à comunidade científica intensificada no uso desta espécie em modelos para estudos de úlceras gástricas.

## **2-MATERIAL E MÉTODOS**

### *2.1-Animais*

Os animais foram manipulados de acordo com o Manual sobre Cuidados e Usos de Animais de Laboratório – National Research Council (2003) e em concordância com os Princípios Éticos para o uso de Animais de Laboratório preconizados pelo COBEA -

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, sendo aprovado pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da UFV, sob protocolo nº 44/2008.

Foram utilizados cinco ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*), adultos com idades de 120 dias, pesando em média 340 gramas e provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os animais foram pesados e alojados em gaiolas individuais, sendo mantidos em condições de temperatura e umidade ambiente controlados e no ciclo claro-escuro de 12h (07:00-19:00), no Laboratório de Experimentação Animal do Departamento de Nutrição. Água e ração foram disponíveis *ad libitum*, sendo retirada a ração 24h antes da eutanásia, mantendo-se livre o acesso à água.

A opção pela linhagem Wistar foi relacionada à experiência prévia de outros autores que realizaram estudos dos distúrbios do aparelho digestório.

## 2.2-Avaliação macroscópica das lesões gástricas

Após remoção do estômago, uma incisão foi realizada ao longo da sua curvatura maior. O órgão foi lavado com solução de NaCl (0,9%) para retirada de restos alimentares e em seguida fixado em solução de formol neutro a 10% tamponado, por 24h. O órgão foi analisado em estereomicroscópio Olympus<sup>®</sup> SZ40, onde foram selecionados os fragmentos contendo ulcerações.

## 2.6-Avaliação microscópica das lesões gástricas

Os fragmentos selecionados foram destinados ao estudo sob microscopia de luz, e submetidos às técnicas histológicas rotineiras, desde a desidratação em série crescente de alcoóis 70, 80, 90 e 100%, até a inclusão em parafina histológica purificada (PF 56-58° C).

Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação manual (Leica<sup>®</sup> 2045),

com espessura de 4µm e os cortes teciduais corados pelas técnicas de Hematoxilina-Eosina (HE) (Grimaldi Filho, 1981).

A análise histológica foi realizada no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da UFV, em microscópio de luz Olympus® BX 41. Formam obtidas imagens em fotomicroscópico Olympus® C31.

### 3-RESULTADOS E DISCUSSÃO

Anatomicamente, o estômago do rato Wistar está localizado na cavidade abdominal sob a linha mediana ventral, na porção esquerda, caudal ao fígado, com a forma de um C e com uma concavidade cranial, onde se observa a penetração do esôfago. O peritônio encontra-se ligado ao estômago por uma membrana denominada omento maior. Estes dados estão de acordo com as observações realizadas por Freiburg (2007), onde o mesmo ainda relata que o estômago pode ser dividido em várias regiões, conforme o esquema da Fig. 1.

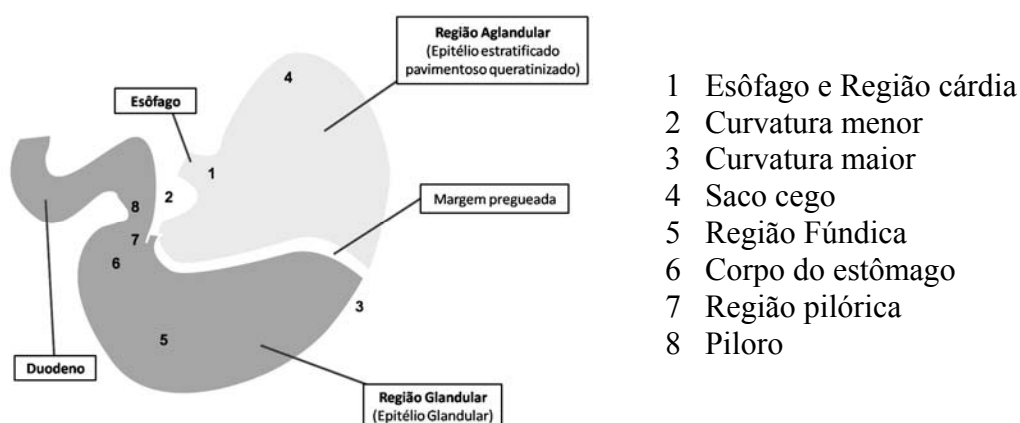


Figura 1. Esquema representativo do estômago de ratos Wistar e suas subdivisões (Adaptado de Freiburg, 2007).

O estômago dos ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) é curto em relação ao segmento intestinal. O cárdia, região que garante a entrada do estômago, e o piloro, esfíncter localizado na saída do mesmo, se localizam próximos devido ao formato do órgão. Segundo Sharp e Regina (1998) o estômago apresenta dorsalmente a região do fundo gástrico, aglandular. As demais regiões do estômago (glandulares) estão separadas pela margem pregueada (*margo plicatus*) e se encontram com o corpo e antro pilórico. Andrew e Hickman (1974) relatam que a porção aglandular é opaca e possui uma coloração esbranquiçada, enquanto a região é glandular é translúcida e apresenta-se com coloração róseo-avermelhada, o que pode ser confirmado em nossa análise macroscopicamente do órgão como visto na Fig. 2. Porém, o tempo de exposição ao agente fixador pode levar ao clareamento da mucosa glandular.

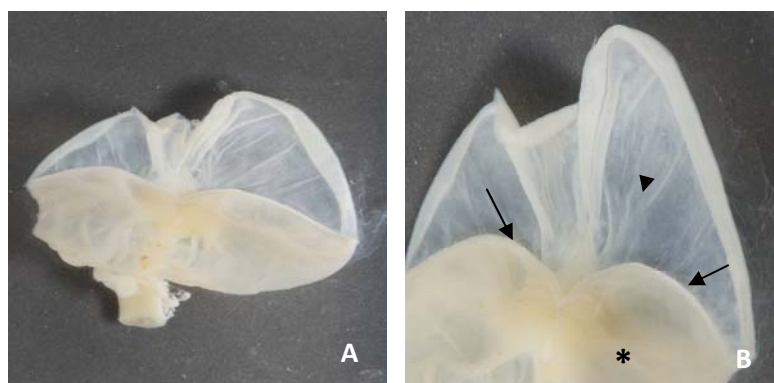


Figura 2. Visão macroscópica do estômago de ratos Wistar seccionado ao longo da curvatura maior, expondo a mucosa gástrica. A – visão geral do órgão; B – Detalhe da região glandular e aglandular. Margem pregueada (seta); região glandular (\*) e região aglandular (ponta de seta).

A margem pregueada é a “linha” de divisão entre o epitélio estratificado pavimentoso queratinizado que reveste a porção aglandular e o epitélio simples cúbico que reveste a região glandular (Fig. 2). Segundo Sharp e Regina (1998) a região

glandular (Figs. 3 e 4) possui alta atividade produtora de muco, responsável pela proteção da mucosa gástrica. Dani e Castro (1993) relataram ainda que as glândulas gástricas possuem alta atividade protetora da parede gástrica contra as agressões alimentares e suas próprias excreções glandulares. Esta proteção pode ser atribuída à alta velocidade das mitoses deste epitélio e, também, ao muco. Estes dados permitem inferir que a região glandular é menos acometida pela formação de lesões, em relação à região aglandular, devido às propriedades protetoras da mucosa. Segundo Goodman e Gilman (2006) dentre os fatores protetores estão o muco e bicarbonato produzidos pelas células epiteliais superficiais, após um sinal estimulador originado por prostaglandinas (PG's). Estes lipídeos são sintetizados pelas ciclooxigenases (COX) e possuem afinidade por receptores EP<sub>3</sub> para PG's na porção basal das células epiteliais superficiais da mucosa gástrica. O muco protege a mucosa gástrica de forma mecânica, lubrificando a parede gástrica e prevenindo sua erosão, já o bicarbonato atua como uma proteção química, neutralizando o a acidez proporcionada pelo ácido clorídrico (Andrew e Hickman, 1974; Dani e Castro, 1993).

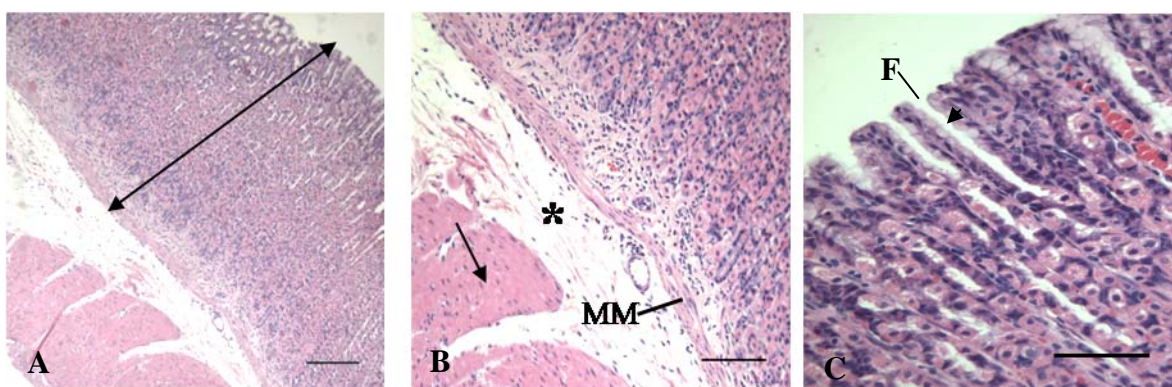


Figura 3. Região glandular da mucosa gástrica. A - seta dupla evidenciando a espessura da mucosa; B - detalhe da túnica mucosa evidenciando a muscular da mucosa (MM), túnica submucosa (\*) e a camada muscular (seta); C – abertura da fosseta gástrica na luz estomacal (F) e células mucosas superficiais (cabeça de seta). A - Barra 100µm, B - Barra 150µm e C - Barra 175µm. HE.

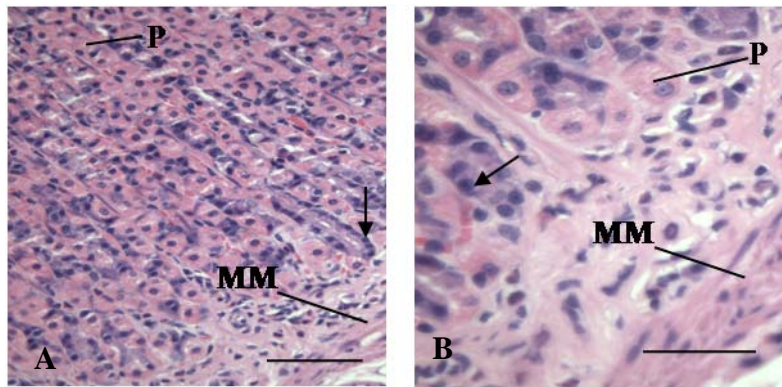


Figura 4. Glândulas fúndicas do estômago de rato Wistar. Célula parietal (P); células zimogênicas (setas); muscular da mucosa (MM). A – Barra 175 $\mu$ m e B – Barra 200 $\mu$ m. HE.

Segundo Freiburg (2007) a mucosa glandular do estômago de ratos Wistar pode ser dividida em regiões (Fig. 1) com diferentes tipos celulares: região cárdia, região fúndica e região pilórica. Andrew e Hickman (1974) relataram que *região cárdia*, está localizada ao redor da abertura gástrica do esôfago, se estendendo à borda da margem pregueada. Acredita-se que a mesma seja responsável pela secreção de bicarbonato e muco protetor. A *região fúndica* é composta pela maior parte da mucosa glandular e ocupa a parte ventral do estômago (curvatura maior). Na região de mucosa oxíntica se localizam as glândulas gástricas com presença de células parietais, que segundo Junqueira e Carneiro (2004) são células responsáveis pela secreção de ácido clorídrico (Fig. 4, A e B). Estas células se apresentaram com coloração clara e predominam na porção apical e média das glândulas. Além disso, a presença destas células é escassa na base, semelhante às células parietais do estômago humano, conforme descrito por Dani e Castro (1993).

Distribuídas entre as células parietais no colo da glândula, estão localizadas as células mucosas do colo (Fig. 4). Segundo König (2004) estas células secretam um muco, menos viscoso do que o produzido pelas células da mucosa superficial. Foi

verificada nestas células uma evidente basofilia que segundo Junqueira e Carneiro (2004) devem-se ao abundante retículo endoplasmático rugoso, que é característico em células produtoras de proteínas e confere a elas coloração azul escuro. Por fim, a *região pilórica*, que se estende da região fúndica até ao piloro (esfíncter presente entre o estômago e o intestino delgado). Segundo Andrew e Hickman (1974) a maior parte das células presentes nas glândulas pilóricas secretam, assim como na região cárdica, muco diretamente no lúmen gástrico, formando uma “cortina” de muco protetor que funciona como uma barreira alcalina e tamponam o pH ácido do suco gástrico.

As maiores áreas superficiais do estômago estão revestidas por células mucosas superficiais (Fig. 3, C). Dani e Castro (1993) relatam que estas células sintetizam muco persistente e espesso, uma característica especial do revestimento do estômago. Estas células apresentam coloração clara, típica de células produtoras de muco, com núcleo localizado na porção basal. Segundo Junqueira e Carneiro (2004) a presença destas células mucosas e sua secreção são importantes para a proteção do epitélio gástrico frente às condições ácidas e da atividade mecânica presente no lúmen.

O epitélio estratificado pavimentoso queratinizado que reveste a região aglandular (Fig. 5) se estende do esôfago até a margem pregueada. Esta região é semelhante ao epitélio esofágico humano. Segundo Dani e Castro (1993), o número, a distribuição e o desenvolvimento de glândulas nesta região são muito variáveis no homem e em outras espécies. Nos cães, estas glândulas são numerosas, porém estão presentes em pequenos números nos macacos e totalmente ausentes nos eqüinos e roedores. No esôfago humano esse tipo de epitélio, é diferenciado para a proteção mecânica, ao contrário da mucosa estomacal que faz mais uma proteção contra substâncias químicas (Dani e Castro, 1993). Entretanto, ainda não se sabe a função da região aglandular no estômago de ratos. Segundo Cunningham (1993), acredita-se que a região aglandular seja um local onde pequena quantidade de digestão fermentativa

possa ocorrer. Sugere-se ainda que esteja relacionado com o hábito alimentar dos roedores, o que favoreceria uma maior proteção às partículas sólidas ingeridas. Porém, esta região tem menor contato com a ingesta e ainda é considerada a área de maior incidência de formação de úlceras gástricas, especialmente por possuir pouca resistência à ação do ácido clorídrico e pepsina (Andrew e Hickman, 1974; Cunningham, 1993; Sharp e Regina, 1998).

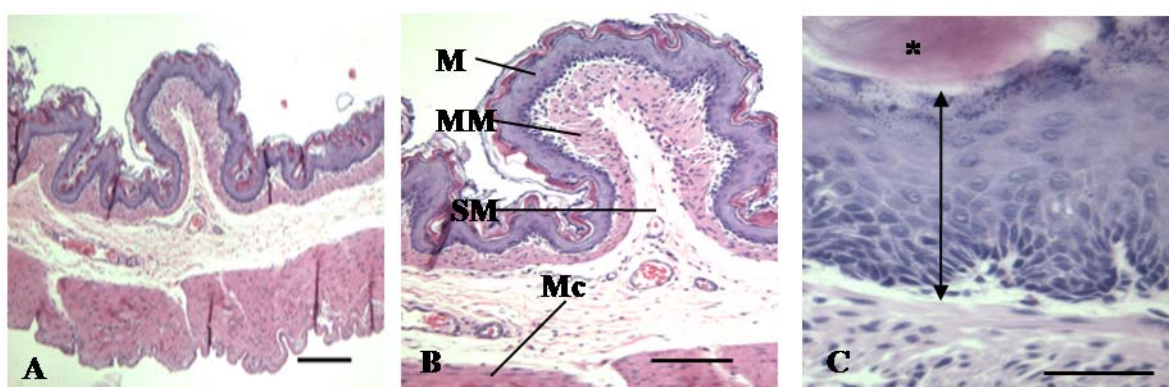


Figura 6. Região aglandular da mucosa gástrica de ratos Wistar. Mucosa (M); muscular da mucosa (MM); submucosa (SM); muscular (Mc); queratina (\*); camadas epiteliais (seta dupla). A – Barra 100 $\mu$ m; B - Barra 150 $\mu$ m e C - Barra de 200 $\mu$ m. HE.

### 3.1 - O rato Wistar e a pesquisa experimental com úlceras gástricas

As úlceras pépticas afetam um número considerável de pessoas no mundo. As lesões na mucosa gástrica ocorrem quando existe um desequilíbrio entre os fatores agressores, como a secreção ácida gástrica e os fatores protetores da mucosa gástrica, como a camada muco-bicarbonato, hidrofobicidade da mucosa e o fluxo sanguíneo (Dani e Castro 1993). Assim, o desenvolvimento de uma terapêutica adequada para o tratamento das úlceras pépticas tornou-se de vital importância. Segundo Vinagre et al. (2005), as drogas utilizadas atualmente no tratamento de úlceras gástricas não são totalmente eficazes na cicatrização das mesmas. Entre as drogas empregadas, temos antiácidos, anticolinérgicos, antagonistas do receptor  $H_2$  para histamina e inibidores de

bomba de próton. Entretanto, a maioria destas drogas possui alto valor agregado e vários efeitos adversos. Segundo Yunes et al. (2001), faz-se necessário a busca de novos fármacos proporcionando alternativas terapêuticas seguras e de baixo custo e deve ser levado em consideração a grande biodiversidade encontrada no Brasil, que é conseqüentemente uma rica fonte para novos fármacos. Viegas et al. (2006) relatam que o mercado farmacêutico mundial está estimado em 505 bilhões de dólares, em 2004. Estes números exemplificam a importância econômica do setor industrial farmacêutico e, portanto, a dos produtos naturais, de quaisquer origens, como fonte de novos padrões moleculares úteis para descoberta de fármacos. Segundo Simões et al. (2004) muitos achados etnobotânicos tem relatado a grande utilização de plantas e derivados, tanto para o tratamento e prevenção de úlceras gástricas como para outras patologias. Havsteen (2002) em seus estudos têm demonstrado que diferentes substâncias oriundas de plantas, não oferecem apenas gastroproteção, mas também aceleram a cicatrização de úlceras gástricas. Porém, para este tipo de estudo há a necessidade de estabelecimento e entendimento dos modelos experimentais utilizados. Assim, a descrição anatômica e histológica, aliada a dados bioquímicos e fisiológicos, são de suma importância na pesquisa científica na busca de novos fármacos. Deste modo, este trabalho poderá contribuir para o aprimoramento de estudos que visam a utilização de ratos Wistar como modelo experimental de úlceras gástricas. Entretanto, novos estudos visando analisar os parâmetros fisiológicos da homeostasia no rato Wistar deverão ser realizados, pois o mesmo é muito utilizado em pesquisas experimentais mas em contrapartida há poucas referências disponíveis, o que dificulta e atrasa os estudos pré-clínicos. Uma maior fonte bibliográfica sobre a espécie favorecerá uma maior produção de produtos terapêuticos e rapidez dos resultados de pesquisas científica utilizando o modelo em questão.

#### 4- CONCLUSÕES

A utilização de modelos animais na pesquisa científica é de grande importância para o desenvolvimento da ciência e da humanidade. Porém, há necessidade de um maior número de fontes bibliográficas que relatem sobre os achados histológicos e macrocópicos das espécies estudadas. Assim, a descrição do estômago de ratos Wistar realizada neste trabalho visou acrescentar conhecimentos e permitir maior acesso à comunidade científica que faz uso da espécie como modelo de úlceras gástricas.

#### 5- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. B. A. *Atividade anti-ulcerogênica e antiinflamatória intestinal da *Arctium lappa**. 2004. 147f. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

Andrade, M.C.R. *A utilização de Símios do gênero *Callithrix* como modelo experimental*. Boletim informativo do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal 03-97/98: 5, 1998. Disponível em: < <http://www.cobea.org.br/index.php?p=animais> > Acesso em 06 maio. 2009.

ANDREW, W. & HICKMAN, C. P. *Histology of the vertebrates*. Saint Louis: The C.V. Mosby Company, 1974. 275 p.

BRZOZOWSKI, T. Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and câncer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment - *Polish achievements*. *Journal Physiology Pharmacology*. v.3, p.99-126. 2003.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D.C.; SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Apliada*, v.28, n.1, p.11-23. 2007.

BERNARD, C. *An introduction to the study of experimental medicine* (1865). In: Images from the history of medicine division. National Library of Medicine. Disponível em: < <http://www.ihm.nlm.nih.gov> >. Acesso em: 06 jul. 2009.

FONSECA, C. C.; PINTO, A. S.; SALCEDO, J. H. P.; GUIMARÃES, J. D.; BENJAMIN, L. A. *Normas de conduta para o uso de animais no ensino, pesquisa e extensão do DVT/UFV*. Disponível em: < <http://www.dvt.ufv.br/docs/normas.pdf> >. Acesso em: 06 julho. 2009.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução no 714, de 20 de junho de 2002. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. Diário Oficial da União (DOU), 21 de junho de 2002. Disponível

em: < [http://www.cfmv.org.br/legislacao/resolucoes/resolucao\\_714.htm](http://www.cfmv.org.br/legislacao/resolucoes/resolucao_714.htm) >. Acesso em: 30 junho. 2009.

CUNNINGHAM, J.G. *Tratado de fisiologia veterinária*. 3.ed. Rio de Janeiro: GuanabaraKoogan, 2004.

DANI, R. e CASTRO, L. P. *Gastroenterologia clínica*. 3. ed. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 1993. 1103p.

FAGUNDES, D.J. e TAHA, M.O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.19, n.1, p.59-65. 2004.

FIGUEIREDO, R. D. *Lesões gástricas ulcerativas em decorrência do uso de antiinflamatórios não esteroidais*. 2006. 31f. Monografia (Especialização em Diagnóstico e Cirurgia de Eqüinos)-Universidade de Santo Amaro, Santo Amaro, SP, 2006.

FREIBURG, J. L. *Abdominale Sonographie bei der Ratte (Rattus norvegicus f. domestica)*. 2007. 131f. Tese (Doutorado em medicina Veterinária)-München: Universität München, 2007.

GOODMAN & GILMAN. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 11.ed. Rio de Janeiro: McGram-Hill Interamericana do Brasil, 2002. 1821 p.

GRIMALDI, G. F. *Manual de técnica histológica*. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz.1981. 70p.

HAMMOND, C.J.; MASON, D.K.; WATKINS, K.L. Gastric ulceration in mature thoroughbred horses. *Equine Veterinary Journal*. v.18, p.284-287. 1986.

HEYWOOD, R. The use of animals in testing. *Atla*. v.14, n.4, p.329-333. 1987.

JUNQUEIRA, L. C. e CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 10.ed., Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004. 488p.

KÖNIG, L.; HORST, E; LIEBICH; HANS-GEORG. *Anatomia dos Animais Domésticos*. Porto Alegre: Artmed, v.2, 2004.

NRC. National Research Council. *Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório*. Goiânia: AAALAC/COBEA, 2003. 75-89 p.

OTOFUJI, G.M. *Vias envolvidas no mecanismo de ação do efeito gastroprotetor das raízes da Pfaffia glomerata (Spreng) Pedersen*. 2005. 177f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia)-Universidade Federal do Paraná, Paraná,PR, 2005.

RIBEIRO, S.M.L.; CAMPOS, P.; TIRAPEGUI, J. O rato como animal de laboratório: histórico, dados biológicos e análise crítica de seu uso. *Revista de Farmácia Bioquímica Universidade de São Paulo*, v.31, n.1, p.21-28. 1995.

SALÉN, J.C.W. Animal models: principles and problems. In: ROLLIN, B.E; KESSEL, M.L. *The experimental animal in biomedical research: care, husbandry and well-being: na overview by species*. 3.ed. Boston: CRC Press, 1995. 560p.

SHARP, P.E. e LA REGINA, M.C. *The Laboratory rat*. Washington: CRC Press, 1998. 214p.

SNITKOFF, G.G. Testes biológicos. In: Gennaro, A.R. *Remington: a ciência e a prática da farmácia*. 20.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 556-68p.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J.. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química Nova*. v.29, n.2, 326-337, 2006.

YUNES, R.A.; PEDROSA, R.C.; CECHINEL FILHO, V.; A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Revista Química Nova*. v.24. n.1, p.147-152, 2001.

WERNECK, H. J. L. *Guia de dissecação de vertebrados*. Belo Horizonte: UFMG, 1966. 86p.

### **3-CONCLUSÕES GERAIS**

- A utilização de modelos animais na pesquisa científica é de grande importância para o desenvolvimento da ciência e da humanidade. Assim, há necessidade de um maior número de fontes literárias que relatem sobre os achados histológicos e fisiológicos das espécies estudadas.

- A descrição macroscópica e histológica do estômago de ratos Wistar realizada neste trabalho visou acrescentar conhecimentos e permitir maior acesso à comunidade científica que faz uso da espécie em modelo de úlceras gástricas.

- Conclui-se que o extrato aquoso de EAB, permitiu a cicatrização das úlceras gástricas de ratos Wistar. O resultado obtido com o EAB foi semelhante a um fármaco comercializado comumente, o omeprazol, agindo de maneira não prejudicial, e sim favorecendo condições adequadas para o restabelecimento do tecido.