

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
FACULDADE DE VETERINÁRIA-FAVET
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE DE DOUTORADO

**ESTUDO DE GASTROPATIAS NATURAIS E UMA ANÁLISE
CLÍNICO-LABORATORIAL, HISTOPATOLÓGICA E IDENTIFICAÇÃO
DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO ETANÓLICO
DE *Momordica charantia* EM GASTROPATIAS EXPERIMENTAIS
INDUZIDAS POR ANTIINFLAMATÓRIO,
EM CÃES.**

Marilac Maria Arnaldo Alencar

Fortaleza- Ceará

2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**ESTUDO DE GASTROPATIAS NATURAIS E UMA ANÁLISE
CLÍNICO-LABORATORIAL, HISTOPATOLÓGICA E IDENTIFICAÇÃO
DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO ETANÓLICO
DE *Momordica charantia* EM GASTROPATIAS EXPERIMENTAIS
INDUZIDAS POR ANTIINFLAMATÓRIO,
EM CÃES.**

Marilac Maria Arnaldo Alencar

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Reprodução e Sanidade de Carnívoros

Orientador: Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro

Fortaleza - Ceará

2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**ESTUDO DE GASTROPATIAS NATURAIS E UMA ANÁLISE
CLÍNICO-LABORATORIAL, HISTOPATOLÓGICA E IDENTIFICAÇÃO
DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DO EXTRATO ETANÓLICO
DE *Momordica charantia* EM GASTROPATIAS EXPERIMENTAIS
INDUZIDAS POR ANTIINFLAMATÓRIO, EM CÃES.**

Marilac Maria Arnaldo Alencar

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro
Orientadora

Prof. Dr. Marcos Fábio G. Rocha
Co-Orientador/Examinador

Profa. Dra. Selene Maia de Moraes
Examinadora

Profa. Dra. Adriana da Rocha Tomé
Examinadora

Profa. Dra. Adriana Wanderley P. Pessoa
Examinadora

Prof. Dr. Raymundo Rizaldo Pinheiro
Examinador

A minha filha Alba Raquel Alencar Fernandes e a minha orientadora

Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro

Dedico

E repito: *“Eu apenas queria que vocês soubessem que aquela alegria ainda está comigo e que a minha ternura não ficou na estrada, não ficou no tempo, presa na poeira...”*

(Gonzaguinha)

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pois sem Ele, nada sou e nada posso.

Aos **meus pais**, Leonardo Arnaldo Alencar e Maria Alba de Alencar (in memorian), pelo entusiasmo, orgulho e dedicação que tiveram aos seus filhos, agradeço-os do fundo do meu coração, cheio de saudades.

A minha amada filha, **Alba Raquel Alencar Fernandes**. Obrigada pela paciência e preocupação comigo nos dias de maior tensão. Esta caminhada foi, em parte, por você.

Aos meus familiares pelo afeto e apoio. São muito fortes os laços que nos unem. Agradeço, em especial, ao meu sobrinho Francisco Mamoré Arnaldo Alencar Filho, que esteve sempre presente quando solicitado para ajudar na organização desta Tese.

A minha orientadora **Dra Diana Célia Sousa Nunes pinheiro**, por me ter acolhido num momento tão difícil, sem restrições e sem medo. Você é a responsável direta por eu ter cumprido esta etapa na minha vida. Tenho que dividir meu título de Doutora com você. Agradecer o que você fez por mim é impossível. Você é muito especial. Obrigada pela sua coragem.

Ao meu Co-orientador, professor **Marcos Fábio Gadelha Rocha**, uma criatura maravilhosa. Muito obrigada pelas orientações neste trabalho. Tenho certeza que posso sempre contar com você.

A minha amiguinha professora **Cláudia Maria Leal Bevilaqua**, pra você eu digo: hoje eu compreendo que “amigo não é só o que aplaude” Agradeço a Deus por nossa amizade.

À professora. **Selene Maia de Moraes**, por me ter permitido usar e abusar do seu laboratório e ter colocado à minha disposição seus alunos que muito colaboraram nesta tese. O que mais tenho que agradecer a você é que em todas as vezes que eu fui procurá-la, você sempre me recebeu com um sorriso, embora não permitisse que eu falasse “aquela” palavra. É tão boa a sensação de ser bem acolhida. Obrigada.

À minha grande amiga, Médica Veterinária, **Ivanilde Andrade Cândido**, pela colaboração neste trabalho, pela paciência e por nossa longa e inabalável amizade. Você é amiga de verdade. É tão amiga que se eu disser vamos, você nem pergunta para onde.

À médica veterinária **Marília Dutra Girão**, pela colaboração na parte experimental inicial desta tese.

A acadêmica de Medicina **Isabelle Jataí**, pela colaboração e pelo convívio neste período. Valeu mesmo. Divertimos-nos bastante.

A ex-professora do PPGCV **Francisca Sônia Martins Crisóstomo**, que quebrou a barreira da distância e foi sempre disponível em ajudar. Obrigada, minha amiga.

A **todos os professores** do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela disponibilidade e ensinamentos. Vocês são heróis.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, **Alzenira de Andrade Ferreira** e **Adriana Maria Sales Albuquerque**, que embora não tenham idade pra isto, se preocupam comigo e “puxam minhas orelhas”, como se minhas mães fossem. Acho isto espetacular.

Às professoras e amigas **Adriana Wanderley de Pinho Pessoa** e **Adriana Tomé**, pelas análises histopatológicas. Compreendo que foi um trabalho árduo e que a amizade contou muito neste momento.

Ao professor **David Rondina**, pela elaboração das análises estatísticas e pela amizade.

À professora **Ana Paula Ribeiro Rodrigues**, de quem gosto imensamente. Obrigada pelos momentos de descontração que tivemos extra-Universidade. Eles foram de fundamental importância para realização desta tese, pois nem só de trabalho vive o pesquisador.

Ao professor **Vicente José de Figueiredo Freitas** por nunca ter negado nada que eu o pedisse e pela sua preciosa colaboração no sentido de viabilizar a realização da análise histológica em seu laboratório.

À funcionária **Maria Rocilda**, pelo esmero na confecção das lâminas para análise histopatológica. Você é super.

Ao professor **Ricardo Tonioli**, por ter liberado a funcionária Maria Rocilda para colaborar com este trabalho, Obrigada de coração.

Ao professor **Cláudio Cabral** pelas fotografias das lâminas incluídas nesta tese.

A todos **os alunos** do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pelo companheirismo e amizade que marcaram nossos relacionamentos.

À **Dra Evanisa Leite**, diretora do Canil da Prefeitura Municipal de Fortaleza e a todos os funcionários, pelo apoio incondicional e pela liberação dos animais utilizados neste experimento.

À **Secretaria de Saúde do Estado do Ceará**, pela doação do medicamento misoprostol, importantíssimo para a realização deste trabalho.

À empresa **QellQuímica** pela doação do hexano utilizado no experimento.

À **Fundação Cearense de Amparo à Pesquisa**, pelo incentivo dado aos profissionais que se dedicam à capacitação profissional.

À **Faculdade de Veterinária** da Universidade Estadual do Ceará, por toda minha formação acadêmica.

A todos, que direta ou indiretamente apoiaram este trabalho, meu muito obrigada.

E mais uma vez a **Deus**, por ter permitido que pessoas tão especiais participem da minha vida. Agradeço—O por está presente em minha vida, nas minhas atitudes, nos momentos de angústia, tristezas, decepções, não permitindo que eu desaniime. Nesses momentos, procurei sempre manter minha alegria, pois o que deixa um pai feliz é ver seus filhos alegres, otimistas e realizados. Isto eu sou. Muito obrigada, meu Deus, por tantos momentos felizes. Sei que nada me separa de Você.

Agradeço ao Professor **Ricardo Figueredo**, pois ao escrever as palavras acima, lembrei dele. Dr. Ricardo, quando o vejo, meu coração fica cheio de carinho. Obrigada.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito gastroprotetor do extrato etanólico (EE) obtido de partes aéreas da planta *Momordica charantia* sobre lesões gástricas induzidas por meloxicam (antiinflamatório não esteróide seletivo COX-2) em cães, tendo sido executado em seis etapas. Na **primeira etapa** foi avaliado a presença de lesão gástrica em cães errantes da cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil, com o objetivo de fazer um levantamento sobre a prevalência destas lesões em animais de rua, uma vez que para testar o efeito gastroprotetor do EE foram utilizados animais com a mesma procedência. Para tanto foram utilizados 257 cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses, entre os meses de outubro e novembro de 2004. Os resultados demonstraram que 24,51% dos animais apresentavam lesões gástricas variadas, localizadas nas regiões do corpo (51%), antro (19%) e fundo (8%) do estômago. Pequenas úlceras gástricas (15,5%) e petéquias (5,7%) foram às lesões mais freqüentemente observadas. Em uma **segunda etapa** realizou-se a indução de úlceras gástricas em cães, através do uso do meloxicam na dose de 1,0 mg/kg/pv, por via oral, a cada 24 horas, durante dez dias consecutivos. Nessa etapa foram utilizados 15 animais adultos, machos, sem raça definida. Os animais foram avaliados clinicamente, por exames laboratoriais e gastroscopia ao longo do experimento. Todos os cães que receberam o tratamento apresentaram sintomas gastrintestinais, como vômito e diarreia. No quinto dia da administração do meloxicam foi observado, por avaliação endoscópica, que 80% dos animais apresentaram úlceras antro-pilóricas e hiperemia de mucosa gástrica. No décimo dia foi observado, em 100% dos animais, ulcerações graves na região antro-pilórica. Observaram-se, ainda, alterações significativas nos padrões hematológicos, bioquímicos e renais. Ao serem necropsiados, todos os animais tratados com meloxicam, apresentaram úlceras gástricas severas, localizadas na região antro-pilórica. Quanto à avaliação histopatológica, 100% dos animais apresentaram lesões do tipo ulcerativa. Com base nos resultados, foi proposto um modelo de ulceração gástrica, em cães, pelo meloxicam. Na **terceira etapa** objetivou-se avaliar o efeito citoprotetor do EE de *M. charantia* sobre lesões gástricas induzidas por meloxicam. Os cães foram pré-tratados por três dias consecutivos com o EE na doses de 100/ mg/kg/pv ou com misoprostol (4µg/kg). No quarto dia, iniciou-se a administração do

meloxicam na dose de 1mg/kg, associadas aos tratamentos. No final do experimento, ou seja, no décimo quinto dia, realizou-se a coleta de sangue para os exames laboratoriais e, em seguida os animais foram submetidos ao procedimento de eutanásia. Todos os cães tratados apresentaram úlceras gástricas severas, incluindo o grupo tratado com misoprostol. Uma vez que o misoprostol, droga de referência na prevenção de ulcerações gástricas induzidas por DAINEs, não foi capaz de prevenir estas lesões, iniciou-se um novo grupo experimental, composto por dez cães, que receberam o meloxicam na dose de 0,5 mg/kg. A metodologia utilizada foi a mesma empregada quando utilizou-se a dose de 1 mg/kg. Os resultados demonstraram que o meloxicam na dose de 0,5 mg/kg induziu ulcerações gástricas em 100% dos animais. Diante desta comprovação, procedeu-se a realização de outro experimento, na qual o EE foi utilizado na dose de 100 mg/kg, o misoprostol na dose de 4 μ g/kg, usando como agente indutor de ulcerações nos cães, o meloxicam na dose 0,5 mg/kg, seguindo a mesma metodologia utilizada na terceira etapa deste trabalho. Os resultados demonstraram que EE na dose de 100mg/kg exerceu atividade gastroprotetora nas ulcerações induzidas por meloxicam 0,5 mg/kg em todos os cães tratados. Entretanto, não foi capaz de atenuar os efeitos deletérios relativos ao padrão celular sanguíneo. **Na quarta etapa e quinta etapa**, objetivou-se elucidar o mecanismo de ação do EE envolvido na proteção gástrica. Foram realizados os teste de avaliação do trânsito intestinal, em camundongos e secreção gástrica, utilizando o modelo da ligadura pilórica em ratos e cães. Os resultados demonstram que o extrato etanólico de *M. charantia* na dose de 500 mg/kg, exerce uma ação pró-cinética no trânsito gastrintestinal e, que sua ação gastro-protetora pode estar associado a outros mecanismos não relacionados à neutralização ácida, atividade anti-secretora ou antioxidante. Concluindo, este estudo mostrou que os cães não domiciliados na cidade de Fortaleza-Ce apresentam um alto índice de lesões gástricas que podem ser agravadas pela administração de anti-inflamatórios; que o meloxicam nas doses de 0,5 e 1mg/kg é efetivo na indução de lesões gástricas na espécie canina; que o EE de *Momordica charantia* possui atividade pró-cinética intestinal; que o EE de *Momordica charantia* exerce uma ação gasprotetora, provavelmente via síntese das prostaglandinas, não estando esta atividade, relacionada à neutralização ácida, atividade anti-secretora ou antioxidante.

Palavras-chave: *Momordica charantia*, úlceras gástricas, cães, meloxicam, trânsito intestinal, gastroproteção.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the gastroprotective effect of an ethanol extract prepared with the aerial parts of the bitter melon (*Momordica charantia*) upon gastric lesions induced in stray dogs from Fortaleza (Ceará, Brazil) using meloxicam (a COX-2-selective nonsteroidal antiinflammatory drug). The experiment was divided into five stages: In the first stage, the prevalence of gastric lesions was determined for the population sampled, using 257 animals from the pound of the local zoonosis service, collected in October and November, 2004. Of these, 24.51% presented gastric lesions in the body (51%), antrum (19%) and fundus (8%) of the stomach. The most frequent lesions were small gastric ulcers (15.5%) and petechia (5.7%). In the second stage, gastric ulcers were induced in 15 adult male dogs of mixed breed using 1 mg meloxicam/kg once a day for 10 days. The animals were evaluated clinically with laboratory tests and gastroscopy throughout the study. All the animals treated with meloxicam presented gastrointestinal symptoms such as vomiting and diarrhea. On the fifth day of treatment, 80% of the animals were observed endoscopically to have developed antro-pyloric ulcers and hyperemia. By the 10th day all animals presented severe ulcerations in the antro-pyloric region. Significant hematological, biochemical and renal changes were registered as well. Necropsies of the animals treated with meloxicam invariably revealed severe gastric ulcers in the antro-pyloric region, while histopathological examinations showed 100% of the dogs to have ulcerative lesions. Using these findings, a meloxicam-based canine gastric ulceration model was proposed. In the third stage the cytoprotective effect of the ethanol extract of *M. charantia* was tested. The animals were primed for three days with 100mg of extract/kg or with misoprostol (4mg/kg) prior to administration with meloxicam. On the 15th day, blood was collected for laboratory tests and the animals were euthanized. The extract was found to have a gastroprotective effect when meloxicam was administered at 0.5 mg/kg, but was unable to attenuate negative effects on blood cell patterns. The fourth and fifth stages of the experiment looked into the gastroprotective mechanism of the extract, testing the intestinal transit and gastric secretion of murine and canine and rats models of pyloric ligation. The study suggests that the ethanol extract of *M. charantia* has a pro-kinetic effect on the gastrointestinal transit and that its gastroprotective action may be associated with mechanisms other than acid

neutralization or antisecretory/antioxidant activity. In conclusion: a) stray dogs in Fortaleza present a high rate of gastric lesions which may be exacerbated by administration with antiinflammatory drugs; b) 0.5-1.0 mg meloxicam/kg effectively induces gastric lesions in dogs; c) the ethanol extract of *M. charantia* displays prokinetic intestinal activity; d) the ethanol extract of *M. charantia* exerts a gastroprotective action, probably by way of prostaglandins, but the action may not be associated with acid neutralization or antisecretory/antioxidant activity.

Key words: *Momordica charantia*, gastric ulcers, dogs, meloxicam, intestinal transit, gastroprotection.

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
µL	microlitro
ALT	Alanino-aminotransferase
AST	Aspartato-aminotransferase
APHS	[<i>o</i> -(<i>acetoxyphenyl</i>) <i>hept-2-ynyl sulfide</i>]
CCK	colecistoquinina
COX	Ciclooxygenase
DAINEs	drogas antiinflamatórias não-esteróides
DL ₅₀	dose inibidora de 50%
EE	extrato etanólico
g	Gramma
GI	Gastrintestinal
H	Hidrogênio
H ₁ , H ₂	receptores de histamina
<i>H. pylori</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
HCL	ácido clorídrico
IL-1, IL-6, IL-8	Interleucinas
IM	Intramuscular
IP ₃	trifosfato de inositol
IV	Intravenosa
K	Potássio
kg	Quilograma
LTA ₄ , LTB ₄ , LTC ₄ , LTD ₄ , LTE ₄	leucotrienos
<i>M. charantia</i>	<i>Momordica charantia</i>
mg	Miligramas
mL	Mililitro

PAF	fator de agregação plaquetária
PGD ₂ , PGE ₁ , PGE ₂ , PGE ₂ □	Prostaglandinas
PGI ₂	Prostaciclina
pH	potencial de hidrogênio
PKA	proteínas-quinase específica
PKC	proteína quinase C
PO	<i>per oris</i>
PV	peso vivo
S.C	Subcutânea
SRD	sem raça definida
TGI	trato gastrintestinal
TNF- α	fator de necrose tumoral
TXA ₂	Tromboxano
VEGF	Fator de Crescimento Endotelial Vascular
X	Versus

LISTA DE FIGURAS

- Figura - 1 Fotografia do estômago de cães apresentando úlceras na região do corpo e do cárdia.
- Figura - 2 Fotografia do estômago (cão), apresentado petéquias difusas no corpo e perda do pregueamento da mucosa.
- Figura - 3 Visão endoscópica de estômago de cão tratado com meloxicam 1 mg/kg apresentando hemorragia difusa por todo o corpo
- Figura - 4 Visão endoscópica de estômagos de cães tratados com meloxicam 1mg/kg, apresentando úlceras antrais no 10° dia de tratamento.
- Figura - 5 Visão macroscópica de úlceras antrais em cães tratados com meloxicam 1mg/kg.
- Figura - 6 Visão macroscópica de cão tratado com meloxicam 1mg/kg, apresentando úlceras duodenais.
- Figura - 7 Visão microscópica região pilórica da mucosa do estômago de cão tratado com meloxicam 1mg/kg.
- Figura - 8 Visão microscópica do duodeno de cão tratado com meloxicam 1mg/kg.
- Figura - 9 Visão macroscópica de cães tratados com meloxicam 0,5mg/kg e EE 100mg. Estômago sem lesões.
- Figura - 10 Visão macroscópica de estômagos de cães tratados com meloxicam 0,5 mg/kg e misoprostol 4 μ g/kg, apresentando úlceras na região antral.
- Figura - 11 Grupo meloxicam 1mg/kg. apresentanda úlcera na região antro-plórica
- Figura - 12 Grupo meloxicam 1mg/kg associado ao misoprostol 4 μ g/kg apresentandando úlcera na região antro-pilórica
- Figura - 13 Grupo meloxicam associado ao extrato 100mg/kg apresentando ulceração gastro-duodenal
- Figura - 14 Estômago de cães tratados com EE 100 mg/kg demonstrando excessiva produção de muco após procedimento do trânsito intestinal

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

- Tabela.1 Distribuição de lesões gástricas em cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses do município de Fortaleza, Ceará, nos meses de outubro e novembro de 2004.
- Tabela. 2 Localização das lesões gástricas em cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses do município de Fortaleza, Ceará.
- Tabela - 3 Classificação macroscópica das lesões gástricas de cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses do município de Fortaleza, Ceará.
- Tabela -. 4 Início da sintomatologia clínica em cães tratados com meloxicam e EE de *M. charantia*.
- Tabela - 5 Média do padrão celular sanguíneo (valor inicial vs valor final) dos cães tratados com meloxicam e EE de *M. charantia*.
- Tabela - 6 Valores médios (inicial vs final) de dosagens de uréia, creatinina, ALT e AST de cães tratados com meloxicam e EE de *M. charantia*.
- Tabela - 7 Valores médios do volume, pH, acidez total e atividade péptica em cães submetidos a ligadura pilórica.
- Tabela - 8 Efeito do EE de *M. charantia* sobre o trânsito gastrointestinal em camundongos, utilizando como marcador carvão ativado a 10%.
- Tabela - 9 Efeito do EE de *M. charantia* sobre parâmetros da secreção gástrica, após 6 horas da ligadura pilórica em ratos.
- Gráfico - 1 Atividade antioxidante do EE em diferentes concentrações e controles positivos no teste de DPPH

SUMÁRIO

	Pág.
INTRODUÇÃO	01
REVISÃO DE LITERATURA	03
1. O estômago do cão.....	03
1.1. Anatomia e fisiologia do estômago.....	03
1.2. Lesões gástricas.....	07
1.3. Úlceras pépticas.....	09
1.4. Tratamentos utilizados nas úlceras pépticas.....	10
2. Inflamação e drogas antiinflamatórias não esteróides.....	12
2.1. Eicosanóides	12
2.1.1. Biossíntese.....	12
2.1.2. Ações biológicas.....	13
2.1.3. Modulação farmacológica.....	14
3. Drogas antiinflamatórias não esteróides	15
3.1. Ações farmacológicas	18
3.2. Efeitos colaterais associados ao uso de DAINES	20
3.3. Meloxicam	22
4. Plantas medicinais.....	23
4.1. plantas medicinais com atividade gastroprotetora	25
5. <i>Momordica charantia</i>	27
5.1. Descrição botânica	28
5.2. Composição química	28
5.3. utilização de <i>Momordica charantia</i> na medicina popular	30
5.4. Estudos experimentais das atividades farmacológicas de <i>M. charantia</i>	31
JUSTIFICATIVA	39
OBJETIVOS	40
MATERIAL E MÉTODOS	41
Primeira etapa: Levantamento das lesões gástricas em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza-Ceará.....	41

Segunda etapa: Úlceras gástricas induzidas por meloxicam em cães.	42
Terceira etapa: Avaliação do efeito citoprotetor do extrato etanólico de <i>M. charantia</i> sobre lesões gástricas induzidas por meloxicam nas doses de 1 mg/kg e 0,5 mg/kg, em cães.	44
Quarta etapa: Avaliação da ação do EE de <i>M. charantia</i> sobre os parâmetros da secreção gástrica em cães.	46
Quinta etapa: Avaliação da atividade do EE de <i>M. charantia</i> sobre os parâmetros da secreção gástrica e trânsito gastrintestinal (<i>in vivo</i>) e de sua atividade antioxidante (<i>in vitro</i>).	48
RESULTADOS	51
Primeira etapa: Levantamento das lesões gástricas em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza-Ceará.	51
Segunda etapa: Úlceras gástricas induzidas por meloxicam em cães.	54
Terceira etapa: Avaliação do efeito citoprotetor do extrato etanólico de <i>M. charantia</i> sobre lesões gástricas induzidas por meloxicam nas doses de 1 mg/kg e 0,5 mg/kg, em cães.	59
Quarta etapa: Avaliação da ação do EE de <i>M. charantia</i> sobre os parâmetros da secreção gástrica em cães.	64
Quinta etapa: Avaliação da atividade do EE de <i>M. charantia</i> sobre os parâmetros da secreção gástrica e trânsito gastrintestinal (<i>in vivo</i>) e da atividade antioxidante (<i>in vitro</i>).	66
DISCUSSÃO	70
Primeira etapa: Levantamento das lesões gástricas em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza-Ceará.	70
Segunda etapa: Úlceras gástricas induzidas por meloxicam em cães.	72
Terceira etapa: Avaliação do efeito citoprotetor do extrato etanólico de <i>M. charantia</i> sobre lesões gástricas induzidas por meloxicam nas doses de 1 mg/kg e 0,5 mg/kg, em cães	75
Quarta etapa: Avaliação da ação do EE de <i>M. charantia</i> sobre os parâmetros da secreção gástrica em cães	77
Quinta etapa: Avaliação da atividade do EE de <i>M. charantia</i> sobre os parâmetros da secreção gástrica e trânsito gastrintestinal (<i>in vivo</i>) e da atividade antioxidante (<i>in vitro</i>).	78

CONCLUSÃO GERAL	81
PERSPECTIVAS	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
ANEXOS	98
ARTIGO 1; Lesões gástricas em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza, Ceará.....	98
ARTIGO 2: Inflamação e sua modulação por antionflamatórios não esteróides (AINES): Riscos e benefícios- Revisão.....	110
ARTIGO 3: Effects of <i>Momordica charantia</i> aerial parts extract on gastrointestinal parameters in murine models.....	128
ARTIGO 4: Antrum-pyloric ulcer induced by meloxican in dogs – Original article.....	140

INTRODUÇÃO

As úlceras gástricas são achados freqüentes na clínica veterinária, estando associadas a várias alterações sistêmicas e ocorrem pela incapacidade da barreira mucosa gástrica em se proteger, não apenas do ácido gástrico, mas também de ácidos biliares e outras substâncias lesivas. O estresse é um fator importante no desenvolvimento destas patologias e, conseqüentemente, animais internados, confinados em espaços limitados e debilitados são altamente susceptíveis a desenvolverem úlceras gástricas e gastrite aguda. Outros fatores fortemente associados à etiologia das gastropatias, inclui-se a utilização de drogas antiinflamatórias não esteróides (DAINEs) e infecções bacterianas (ANDRADE, 2001).

Estes múltiplos fatores envolvidos na etiologia das úlceras gástricas podem explicar o grande número de medicamentos disponíveis para o seu tratamento. Infelizmente, muitos destes agentes apresentam efeitos colaterais e nenhum único agente anti-ulcerogênico tem demonstrado possuir propriedade curativa, sem permitir que haja recidiva. Desta maneira, esforços têm sido direcionados para encontrar drogas apropriadamente gastroprotetoras. Extratos de plantas são as mais atrativas fontes de novas drogas e têm demonstrado resultados promissores para o tratamento de úlceras gástricas (LEITE et al, 2002., GURBUZ et al, 2005., HIRSCHMANN & YESILADA, 2005).

Várias espécies vegetais e diferentes compostos químicos são utilizados no tratamento dos distúrbios gastrointestinais. Triterpenóides, flavonóides e alcalóides são exemplos de substâncias dotadas de atividade protetora de mucosa gástrica. Estudos realizados com plantas utilizadas na medicina popular brasileira, como o boldo (*Plectantus barbatus*), a carqueja (*Baccharis trimera*), o gervão roxo (*Stachytapheta cayennensis*), a jurubeba (*Solanum paniculatum*) e a espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*), demonstraram atividade quanto à atuação no trato gastrintestinal, inibindo a secreção gástrica em ratos, protegendo a mucosa contra úlceras induzidas por indometacina, etanol e estresse por imobilização a frio (MATOS, 1995., LAPA et al, 2003).

Momordica charantia, também conhecida como melão-de-São Caetano é um planta nativa de países de clima tropical e sub-tropical. Pertencente à família das Curcubitáceas, tem sido amplamente estudada devido as suas várias propriedades terapêuticas. Dentre estas, já foram avaliadas as atividades anti-helmíntica, hipoglicemiante, anti-colesterolgênica, hipolipêmica, antiviral e anti-tumoral desta planta. No que concerne a sua ação citoprotetora (anti-ulcerogênica) poucos estudos têm sido conduzidos para comprovar esta atividade (RATES, 2001., LEITE et al, 2002).

O uso da fitoterapia não é tão bem desenvolvido na medicina veterinária e não têm sido observados grandes avanços nas pesquisas relacionadas ao uso da *M. charantia*. Uma vez que a validação de plantas medicinais constitui uma estratégia alternativa na procura de novos agentes terapêuticos, este trabalho tem por objetivo avaliar a ação gastroprotetora do Extrato Etanólico (EE), obtido das partes aéreas de *Momordica charantia* em cães, para que possa vir a servir como ferramenta farmacológica no combate as gastropatias induzidas por drogas anti-inflamatórias não esteróides (DAINEs).

REVISÃO DE LITERATURA

1- O estômago do cão

1.1- Anatomia e fisiologia do estômago

O estômago é uma dilatação do tubo digestivo e situa-se na parte cranial do abdômen, à esquerda da linha média, imediatamente caudal ao fígado. A curvatura maior é formada por uma superfície convexa voltada caudal e ventralmente, enquanto a curvatura menor possui uma superfície côncava e está voltada cranial e dorsalmente. Nesse órgão os alimentos são temporariamente armazenados e digeridos quimicamente por ação de várias enzimas. (ZORAN, 2001).

Nos monogástricos, o estômago divide-se em cinco regiões anatômicas, sendo estas: cárdia, piloro, antro, fundo e corpo. As demarcações entre estas regiões são arbitrárias. Cárdia é o ponto de entrada do segmento esofágico intra-abdominal no estômago; o fundo gástrico é uma grande bolsa de fundo cego, situada cranial e dorsalmente à esquerda da cárdia; o corpo é a porção média do estômago localizando-se entre o fundo e o antro; o antro é o terço distal e associado ao piloro (esfíncter anatômico), formam a porção distal do órgão (WILLARD., 1997).

Este órgão é constituído por três camadas de tecido, sendo uma camada serosa, uma muscular e uma mucosa. A túnica serosa é o revestimento externo, e está relacionada à cavidade celômica e, através dela, as estruturas vasculares e linfáticas ganham acesso ao órgão. Quais túnicas são, também, responsáveis pela suspensão gástrica. A túnica muscular é bem desenvolvida, e é responsável pelo "tônus" do órgão, tamanho da luz, e pelo deslocamento das partículas de alimentos ao longo do mesmo. Sua constituição é típica. Possui fibras nervosas que em conjunto com as células ganglionares, formam o plexo submucoso (GETTY, 1986).

A túnica mucosa é a camada mais interna, e reveste a luz do órgão. Esta é constituída de três outras camadas: o epitélio de revestimento, a lâmina própria e a camada muscular da mucosa. A camada muscular da mucosa é uma delgada

camada de músculo liso que separa a submucosa da mucosa. A contração desta camada é que toma evidentes as dobras ou pregas gástricas, A lâmina própria da mucosa possui uma celulosidade variada (linfócitos, macrófagos e plasmócitos), e, ainda, podem ser observados nesta região, folículos linfáticos esparsos e glândulas gástricas (DUN & EISENBER, 1991).

O epitélio da mucosa estomacal, inclusive o das fossetas gástricas, é um epitélio prismático ou colunar simples, e suas células de revestimento são mucosecretoras. Esta única camada de células é capaz de manter uma barreira que detém o ácido clorídrico e as enzimas digestivas contidas no lúmen e evita a perda de quantidades anormais de constituintes plasmáticos para a luz do estômago (GUILFORD et al, 1996).

Na mucosa gástrica existem vários tipos de glândulas responsáveis pela síntese dos constituintes do suco gástrico. Na região da cárdia há uma predominância de glândulas mucosas; já nas regiões de corpo e fundo os tipos celulares predominantes são as células parietais ou oxínticas, principais ou zimogênicas, células mucosas e endócrinas. A região do antro é composta por células mucosas e endócrinas como as células "G" produtoras de gastrina (ZATERKA et al, 1988). As células parietais são responsáveis pela produção de ácido clorídrico. As células principais são responsáveis pela síntese e secreção de enzimas gástricas como a pepsina, a renina, e a lipase gástrica, e ainda, sintetizam o pepsinogênio. As células mucosas do colo podem diferenciar-se em células superficiais de revestimento, ou células de revestimento glandular. O muco produzido por estas estruturas é menos viscoso que o produzido pelas células de revestimento, e tem a função de proteger a mucosa gástrica da atividade proteolítica e hidrolítica das proteases e do ácido clorídrico (ZATERKA et al, 1988).

A regulação da secreção gástrica é dividida em três fases: a) neuroendócrina que atua via liberação de neurotransmissores, tais como acetilcolina; b) endócrina via gastrina e somatostatina e c) parácrina, na qual fatores teciduais, como histamina e as prostaglandinas são liberadas localmente. Estímulos visuais, olfativos e gustativos estimulam a secreção gástrica (BOOTHE, 2001).

A acetilcolina e a gastrina estimulam a secreção ácida por mecanismo que aumenta o cálcio citosólico livre da célula parietal. Esses transmissores ligam-se a receptores específicos da membrana da célula, acoplados a fosfolipídeos que

catalizam a quebra dos fosfolipídeos de membrana em trifosfato de inositol (IP3) e diacilglicerol. O IP3 estimula a liberação de cálcio dos estoques intracelulares, que por sua vez, ativa a proteína quinase C (PKC) levando a fosforilação das proteínas responsáveis pela ativação da bomba de prótons, H⁺,K⁺-ATPase, com conseqüente secreção de íon H⁺ para o lúmen gástrico, em troca de K⁺ (potássio). A histamina, principal mediador da secreção do ácido gástrico, exerce sua ação por um mecanismo diferente. Ligando-se aos receptores histaminérgicos H₂ acoplados ao sistema adenilato ciclase via proteína G, a histamina estimula a conversão do trifosfato de adenosina intracelular em AMPc que ativa proteínas-quinase específicas (PKA), que também fosforilam proteínas envolvidas na ativação da bomba de prótons(GUILFORD & STRONBERG,1996).

Vários tipos de receptores farmacológicos foram identificados nas células parietais: os receptores para gastrina (tipo CCK3), acetilcolina (M3) e histamina (H₂), cuja ativação estimula a secreção ácida, e receptores para prostaglandinas do tipo E₂, cuja estimulação inibe a secreção ácida. Outros receptores para somatostatina, colecistoquinina (CCK), adenosina, secretina foram sugeridos como moduladores secundários da resposta secretória (YAKOTONI, 1995).

As secreções gástricas, inerentes ao órgão, são potencialmente lesivas para o mesmo, por isso, a integridade da parede do estômago deve ser preservada. O processo de preservação da mucosa é realizado através da ação da barreira da mucosa gástrica. A função essencial, desta barreira, é evitar a rápida difusão de íons hidrogênio do lúmem para o interstício, mantendo uma alta concentração de ácido no lúmem, ao mesmo tempo em que evita a autodigestão, pela ativação da enzima pepsina. A barreira mucosa gástrica é conceituada fisiologicamente e para maior compreensão de suas atividades, pode-se descrevê-la, como sendo constituída por três componentes: o pré-epitelial, o epitelial, e o pós-epitelial (SULLIVAN,1998).

O componente pré-epitelial é o primeiro, e consiste na associação da camada de muco que recobre a superfície epitelial da célula com o bicarbonato secretado para o lúmem. O bicarbonato é retido na camada de muco, conferindo, assim, alcalinidade à mesma, neutralizando os íons de hidrogênio que se movimentam em direção à célula, criando, assim, um gradiente de pH necessário para manter neutra a superfície das células epiteliais. (SULLIVAN, 1998).

A proteção epitelial é dada pelos fosfolipídeos anfóteros que aumentam a hidrofobicidade das membranas biológicas tornando-as resistentes aos agentes agressores. Os componentes sulfidrílicos não-protéicos, como, por exemplo, a glutathiona, também são importantes na proteção epitelial contra radicais livres. A atividade do componente epitelial refere-se à resistência das células epiteliais ao ácido gástrico. Quando o ácido atinge a membrana mucosa, a porção apical da célula resiste à difusão do ácido, para seu interior, e, caso o ácido penetre na célula, este é excretado pelas membranas basolaterais, as quais, quando lesionadas, são rapidamente substituídas por outras por meio do processo de restituição (FORSELL, 1988).

A proteção pós-epitelial é representada pelo fluxo sangüíneo que suplementa nutrientes e oxigênio, remove íons hidrogênio e outros agentes nocivos. As prostaglandinas (PGs) são responsáveis pelo controle do fluxo sangüíneo da mucosa gástrica (FORSELL, 1988).

A alteração desta barreira resulta na proteção ineficiente da mucosa, e quando os fatores agressores superam os fatores protetores, ocorre o estabelecimento de lesões gástricas (FORSELL, 1988).

O esvaziamento gástrico é uma das mais importantes funções motoras do trato gastrintestinal. Ele regula a velocidade de absorção de nutrientes e drogas por controlar as inter-relações complexas de mecanismos miogênicos neurais e hormonais. O esvaziamento gástrico de líquidos e sólido é controlado por diferentes partes do estômago. A pressão fúndica intraluminal controla o esvaziamento de líquidos, enquanto as contrações da região antral controlam o esvaziamento de sólidos. A porção proximal do estômago tem uma particular habilidade de manter a contração muscular tônica (tono gástrico). O tônio gástrico pode ser substancialmente reduzido (relaxamento gástrico) por ingestão de alimentos ou perfusão de nutrientes, sugerindo que o estômago mantém a contração tônica durante o jejum. Estudos têm demonstrado que o bloqueio vagal produz relaxamento gástrico. Em humanos, a atropina reduz o esvaziamento gástrico proximal, enquanto que o agonista muscarínico betanecol tende a estimular a contratibilidade proximal do estômago. A excitação vagal é provavelmente mediada pela via muscarínica colinérgica. Esta conclusão é suportada por investigações que demonstram uma

gradual despolarização e consequente contração tônica das fibras musculares fúndicas em resposta a estimulação neural colinérgica (WASH & MAYER, 1993).

A gastrina é um potente estimulante do esvaziamento gástrico, enquanto a colecistocina, o fator liberador de corticotropina, a calcitonina, o peptídeo inibidor gástrico e a secretina, são inibitórios (LAPA et al, 2003).

1.2- Lesões gástricas

As alterações gástricas são achadas freqüentes em pequenos animais, e como as manifestações clínicas destas enfermidades são constituídas por sinais inespecíficos, o diagnóstico das gastropatias representa um grande desafio para os clínicos. Conseqüentemente, o termo gastrite foi erroneamente empregado por leigos e profissionais, como sinônimo de sintomas dispépticos, e de sinais clínicos anormais compatíveis às alterações gástricas (BENEVENTOS & FERREIRA, 2002).

Atualmente, o termo gastrite é definido como sendo um grupo heterogêneo de alterações macro e microscópicas da mucosa gástrica, decorrentes de lesões de várias origens, normalmente associadas à resposta inflamatória aguda ou crônica, ou mesmo mista. Em cães, atualmente admite-se que a classificação das gastropatias só pode ser realizada por meio da visualização das mesmas, sendo assim, para o diagnóstico fidedigno das gastrites em animais, é imprescindível que se realize um exame gastroscópico (FORSYTH, 1998).

A introdução da gastroscopia em cães, assim como em seres humanos, permitiu a correção de muitos estigmas impostos pela precariedade dos meios diagnósticos. O procedimento gastroscópico deve ser realizado após jejum sólido de 24 horas (LECOINDRE, 1999). A anestesia é fundamental para o exame, sendo que o tipo de procedimento anestésico depende, fundamentalmente, do estado geral do animal. A anestesia inalatória é a técnica mais recomendada, devido ao fato da endoscopia gastrintestinal estimular a regurgitação. É necessário manter a insuflação do "cuff" endotraqueal para se evitar a ocorrência de falsa via e comprometimento do trato respiratório. O animal deve ser posicionado em decúbito lateral esquerdo, pois esta posição propicia a liberação do piloro e do ângulo duodeno-piloro, aliviados do peso da víscera (GUILFORD, 1990., LECOINDRE, 1999).

O procedimento endoscópico deve seguir uma seqüência organizada e precisa, de tal forma que não se deixe nenhuma região sem ser explorada; é preciso, ainda, evitar as pressões e os movimentos forçados, pois o revestimento mucoso do trato gastrointestinal é frágil, podendo ser facilmente lesado. Inicialmente o conteúdo gástrico é inspecionado quanto à presença do lago mucoso e de seu aspecto. A superfície da mucosa deve ser inspecionada quanto a sua coloração, aspecto geral, presença de vasos, tipo de pregueado e motilidade estomacal (SIVERSTEIN & TYTIGAT, 1998. TAMS, 1999).

Os achados endoscópicos freqüentemente incluem: eritema, irritabilidade, granulação, erosão e ulceração da mucosa. As lesões da mucosa podem ser classificadas de várias formas, para tal, podem ser utilizados sistemas modificados, como fizeram MEDDINGS em 1995, que quantificaram a gravidade, de acordo com o número de lesões. Após a avaliação endoscópica completa da mucosa, esta pode e deve ser, biopsiada (REIMER et al, 1999).

A biópsia gástrica é considerada um complemento da gastroscopia, sendo imprescindível para a determinação do diagnóstico, devendo ser realizada na presença ou não de alteração gástrica. Existe a necessidade de se retirar fragmentos de múltiplos sítios, pois as alterações podem apresentar distribuição multifocal e infiltrado variável (JERGENS, 1995).

A finalidade da biópsia é a de confirmar a natureza das lesões e excluir enfermidades que apresentem as mesmas características endoscópicas. O procedimento permite a identificação da bactéria, caso ela exista, e possibilita a avaliação do tipo e da intensidade da inflamação da mucosa gástrica, a presença ou não de atrofia, metaplasia, displasia, neoplasia, e ainda, a elaboração correta da classificação do tipo de lesão. A gastroscopia em cães é considerada como um procedimento relativamente simples, que oferece poucas dificuldades. Os maiores problemas estão relacionado às restrições impostas pelo tamanho dos animais e pela presença de lesões, como edema, úlceras e neoplasias que podem dificultar as manobras endoscópicas (LECOINDRE, 1999., MAGALHÃES & CARVALHAES, 2000).

Os exames gastroscópicos são indicados para animais que se apresentam com sinais de vômitos crônicos, hematemese, melena, anemia crônica, diarreia crônica, assim como, para avaliar animais com suspeitas de gastrite crônica,

úlceras, corpos estranhos, neoplasias, obstruções pilóricas, suspeita de perfurações, de doenças hepáticas e infecciosas agudas, sendo contra indicado apenas em animais com vômito agudo. As complicações referentes aos exames gastroscópicos são raras, podendo ocorrer, com maior freqüência, se o endoscopista for inexperiente, ou se a integridade da mucosa estiver comprometida (TAMS, 1999).

As complicações mais freqüentes são perfurações; principalmente na retirada de corpos estranhos, ou na presença de úlceras. Nestas ocasiões as perfurações, podem ainda levar a lacerações em grandes vasos, e em órgãos adjacentes. Outras complicações freqüentes são as relacionadas com os procedimentos anestésicos, e a distensão prolongada do estômago, que pode provocar hipotensão e bradicardia, devido à interferência no retomo venoso ao coração, estimulação vagal, e ao comprometimento dos músculos respiratórios. Frente ao panorama atual da gastroenterologia canina, e aos avanços diagnósticos, as explorações mais detalhadas sobre o comportamento das enfermidades gástricas nestes animais se fazem extremamente necessárias (JERGENS et al, 1995., GUILFORD, 1990).

A verdadeira causa das alterações gástricas são raramente determinadas em pequenos animais. A maioria está relacionada a distúrbios sistêmicos como as nefropatias, as hepatopatias, exposição a drogas irritantes ou ulcerogênicas (antiinflamatórios não esteróides (DAINEs), antibióticos e antineoplásicos) e, em menor grau, as infecções fúngicas. Na ausência das alterações descritas, a etiologia das gastropatias normalmente é associada à alergia ou a intolerância alimentar, a parasitoses, ou a reações a antígenos bacterianos (SIMPSON et al, 2000).

1.3- Úlceras pépticas

As úlceras pépticas são definidas como lesões erosivas e circunscritas na mucosa gástrica ou duodenal, podendo ser agudas ou crônicas, superficiais ou profundas, encontradas em qualquer região gástrica, sendo mais freqüentes no fundo e corpo gástrico. Acomete principalmente animais adultos a idosos e não há predisposição racial. A formação de úlceras indica a ocorrência de um desequilíbrio entre as substâncias corrosivas existentes no conteúdo gástrico e os mecanismos de proteção da mucosa, representados, principalmente, pela secreção do muco gástrico, tornando as células epiteliais de revestimento mais susceptíveis à lesão

pelo ácido clorídrico e a pepsina. Em cães, a ulceração gástrica pode estar associada a mastocitomas, patologias renais e hepáticas, neoplasias pancreáticas, estresse, distúrbios metabólicos e a administração de drogas antiinflamatórias não esteróides (DAINEs) (CHANG & YUNG. 2002)

O efeito ulceratogênico das DAINEs é atribuído, principalmente, a inibição da biossíntese de PGs citoprotetoras (PGE e PGI₂) por inibição da via da cicloxigenase, resultando no aumento na síntese de leucotrienos e outros produtos da via da lipoxigenase. As DAINEs também provocam aderência de neutrófilos ao endotélio da microcirculação gástrica. Os neutrófilos causam danos à mucosa gástrica através da produção de radicais livres, liberação de muco e obstrução do fluxo sanguíneo nos capilares (CHAN & YUNG 2002).

A patogênese das úlceras duodenais induzidas pelo uso de DAINEs é complexa e envolve danos tópicos e sistêmicos, principalmente devido a supressão da síntese de PGs. Outros fatores como secreção biliar e circulação entero-hepática das DAINEs também podem ser fatores envolvidos nas lesões intestinais. Isto é parcialmente devido à longa exposição do trato gastrintestinal a droga e pelo refluxo da bile que pode causar dano à mucosa pela quebra da barreira mucosa gástrica. Por outro lado, injúrias produzidas por aderência de neutrófilos a microcirculação intestinal e a produção de radicais livres, são os primeiros eventos que levam a injúria intestinal produzida por DAINEs (VILLEGAS et al, 2001).

O estresse está envolvido na patogenia de ulcerações gástricas. Em situações estressantes ocorre aumento da síntese de HCl e pepsina, decréscimo na produção de muco, hipotensão e isquemia da mucosa gástrica e alterações na síntese de PGs. Alguns desses eventos, se não todos, parecem ser controlados pelo sistema nervoso central (BOUSTA et al, 2000., GUILFORD, 1990)

1.4- Tratamentos utilizados para úlceras pépticas

O tratamento das gastrites e úlceras pépticas é realizado através do uso de drogas sintéticas que bloqueiam a secreção de HCl ou de seus efeitos. As drogas utilizadas para esses fins são: os antagonistas muscarínicos do tipo M₁, os antagonistas histaminérgicos tipo H₂, os inibidores da bomba de prótons (H⁺;K⁺-ATPase) e as prostaglandinas (PGF₂ e PGF₁) (SPINOSA, 1999, BHOTE, 2001).

Os antagonistas muscarínicos reduzem a liberação do HCl e retardam o esvaziamento gástrico. Os antagonistas H₂ foram desenvolvidos para bloquear os efeitos da histamina sobre a secreção de HCl, sem a ocorrência de efeitos nos receptores H₁. A ranitidina e a cimetidina são exemplos de antagonistas histaminérgicos muito utilizados no tratamento de úlceras gástricas e duodenais. O bloqueio exercido por essas drogas interfere parcialmente na secreção gástrica induzida pela gastrina e acetilcolina. Um dos problemas devido ao uso prolongado dessas drogas é a maior concentração de gastrina por redução do feedback negativo que o HCl exerce sobre ela. Além disso, os tratamentos prolongados provocam efeitos colaterais como dores musculares, erupção cutânea, vômitos, diarreias ou constipação, prurido, perda da libido e ginecomastia. Esses dois últimos sintomas são decorrentes da utilização da cimetidina, pois essa droga se liga também a receptores androgênicos (SPINOSA, 1999).

Os inibidores da bomba de prótons são agentes que bloqueiam reversivelmente a H⁺;K⁺-ATPase, localizada nas membranas das células parietais que são responsáveis pela secreção de HCl. Essa bomba troca íons H⁺ por K⁺. Os principais representantes dessa classe de drogas são o omeprasol, o lansoprazol e o pantoprazol (RANG et al, 1999).

As principais prostaglandinas (PGs) sintetizadas na mucosa gástrica são as PGE₂ e PGI₂ que atuam como citoprotetoras por inibirem a síntese de HCl e estimularem a produção de muco pelas células da mucosa gástrica. O misoprostol (Cytotec®) é um análogo sintético da PGE₁ utilizado na terapêutica dos estados de hipersecreção gástrica. Essa droga tem como efeitos colaterais o aumento da motilidade uterina e intestinal (LEE, 2000).

Quando a bactéria *H. pylori* está envolvida na patogenia das ulcerações gástricas torna-se necessário, além da terapia padrão, a adoção de uma antibioticoterapia. Tem sido relatada a utilização de terapias combinadas, utilizando inibidores da bomba de prótons ou antagonistas H₂, associados a antibióticos, como amoxicilina e eritromicina, metronidazol e claritromicina ou amoxicilina e metronidazol (CHAN & IEUNG, 2002).

2- Inflamação e drogas antiinflamatórias não esteróides

A inflamação é um processo dependente da interação de vários mediadores que, agindo em conjunto, induzem modificações morfológicas e funcionais peculiares ao processo, tais como eritema, rubor, edema, dor e perda da função. Esses mediadores pró-inflamatórios são tanto de origem tissular, como, por exemplo, os eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), fator de ativação plaquetária, aminas vasoativas (histamina e serotonina), citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-8, TNF- α IFN- α), óxido nítrico, como de origem plasmática, representado pelos componentes do sistema complemento, coagulação, fibrinolítico e cininas (ROCHA, 2001, CARVALHO et al, 2002).

2.1- Eicosanóides

Dentre os mediadores químicos da inflamação, os eicosanóides, em particular as prostaglandinas (PGs), têm um papel de destaque, uma vez que são o principal sítio de ação das DAINES. Por conseguinte, será feita uma breve descrição desses mediadores pró-inflamatórios, enfocando sua biossíntese, principais ações biológicas e modulação farmacológica.

2.1.1- Biossíntese

Os eicosanóides não estão localizados ou armazenados em compartimentos teciduais, ou seja, eles são prontamente produzidos a partir de fosfolídeos. Por conseguinte, sua liberação, por diferentes tipos celulares, reflete o aumento imediato na sua síntese, a partir de precursores de ácidos graxos disponíveis (TASAKA, 1999). O ácido araquidônico é um ácido graxo essencial, sendo incorporado por ligação éster a fosfolípidios de membranas celulares e pode estar contido em outros lipídios complexos, como os triglicerídeos. Os fosfolípidios celulares liberam ácido araquidônico em resposta à enzima fosfolipase A₂ e outras acidolases. Estas enzimas são ativadas por uma série de estímulos fisiológicos, farmacológicos e patológicos. Após a liberação, o ácido araquidônico é submetido a rápido catabolismo oxidativo, através de duas vias enzimáticas distintas envolvendo as enzimas ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase. A lise do ácido araquidônico pela COX origina as prostaglandinas, prostacilinas e tromboxanos, ao passo que a

lipoxigenase está envolvida na biossíntese dos leucotrienos (NEWCOMBE, 1988., TASAKA, 1999, BOOTHE, 2001).

A síntese das prostaglandinas começa com os eventos de oxigenação e ciclização do ácido araquidônico, que são catalisados pela enzima COX. O produto imediato destes eventos é a síntese de endoperóxidos, altamente instáveis como, por exemplo: PGG₂, que se transforma imediatamente em PGH₂. Os endoperóxidos sofrem biotransformações originando diferentes tipos de prostaglandinas (PGD₂, PGE₂ e PGF_{2α}). Ademais, o endoperóxido PGH₂, origina ainda outros mediadores pró-inflamatórios, tais como tromboxano A₂ e prostaciclina, que são altamente ativas, mas possuem estruturas que diferem um pouco das prostaglandinas (VANE, 1971, VILLEGAS et al, 2004).

Por volta da década de 1980, foi descoberta a existência de dois tipos de COX, denominadas de COX-1 e COX-2. Assim, os mediadores originários da lise do ácido araquidônico pela COX-1 (enzima constitutiva), expressa em muitos tecidos, estão representados principalmente pelas prostaglandinas envolvidas na fisiologia renal, gastrintestinal e cardiovascular e do trato reprodutor. Por outro lado, a atividade da COX-2 (enzima induzida), presente em células inflamatórias, leva à síntese de prostaglandinas relacionadas ao processo inflamatório (GRISWOLD & ADAMS, 1996, CROWFORD, 1997).

O metabolismo do ácido araquidônico, através da via enzimática das lipoxigenases, em especial a 5-lipoxigenase, a exemplo do observado com a via da COX, leva à síntese de um fator instável, denominado leucotrieno A₄ (LTA₄). Esse eicosanóide, tanto pode ser convertido em LTB₄, como dá origem aos cisteinil-leucotrienos (LTC₄, LTD₄, LTE₄ e LTF₄) (BOOTHE, 2001).

2.1.2- Ações Biológicas

Os prostanóides, em especial as prostaglandinas, encontram-se intrinsecamente implicados na dinâmica do processo inflamatório, que cursa com eventos vasculares e celulares que, por sua vez, predis põem o surgimento dos sinais clássicos da inflamação. A fase vascular caracteriza-se, inicialmente, por dilatação arteriolar, especialmente desencadeada via PGI₂, PGD₂ e PGE₂, que proporciona aumento no fluxo do sangue, seguido de estase sangüínea, aumento na

permeabilidade venular pós-capilar e, por último, exsudação plasmática, carreando para os tecidos componentes dos sistemas complemento, da coagulação, fibrinolítico e das cininas. Concomitante há a ativação dos eventos celulares com a participação efetiva das células polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos), mononucleares (monócitos, macrófagos, linfócitos, mastócitos) e seus respectivos mediadores pró-inflamatórios (TASAKA, 1999, BOOTHE, 2001).

No tocante ao envolvimento de prostaglandinas na dor inflamatória, sabe-se que este processo é iniciado com a sensibilização de nociceptores, pelas PGI_2 , PGE_1 e PGE_2 , tornando-os mais responsivos aos agentes álgicos endógenos, como bradicinina e histamina. Nesse sentido, tem sido referido que a PGI_2 relaciona-se com a hiperalgesia imediata e de curta duração, enquanto a PGE_2 com a dor de ação prolongada, que pode persistir por um período de até seis horas (PAPICH, 1997).

No decorrer dos processos inflamatórios, certos agentes deletérios como as endotoxinas bacterianas fazem com que os macrófagos liberem o pirógeno endógeno, interleucina-1 que, por sua vez, é capaz de estimular a síntese de PGE_2 , que causa a elevação do ponto de ajuste da temperatura corpórea (FELDMAN & McMAHON, 2000, BOOTHE, 2001).

2.1.3- Modulação Farmacológica

Há dois grandes grupos de antiinflamatórios em uso clínico, denominados drogas antiinflamatórias esteróides, representados pelos glicocorticóides, e drogas antiinflamatórias não-esteróides (DAINEs), que agem inibindo a síntese de prostanóides, por mecanismos distintos (RANG et al, 1996a, BOOTHE, 2001).

Em decorrência da estreita correlação entre os mediadores pró-inflamatórios, seja de origem celular ou plasmática, torna-se difícil conter a evolução da inflamação pelo simples uso de antagonistas específicos de um ou outro destes agentes ativos. Contudo, do ponto de vista clínico, em decorrência da importância dos eicosanóides na dinâmica desse processo, os sinais e sintomas da inflamação são melhores modulados por fármacos que interferem na síntese destes mediadores pró-inflamatórios, como as DAINEs e os glicocorticóides (CONLON, 1988., RANG et al, 1996a, TASAKA, 1999, ROCHA, 2001).

Os glicocorticóides atuam inibindo a gênese dos eicosanóides, através da indução da síntese de uma proteína específica, denominada lipocortina que, por sua vez, inibe a enzima fosfolipase- A_2 , bloqueando a liberação do ácido araquidônico dos fosfolipídios da membrana celular. Os glicocorticóides bloqueiam não somente a síntese de prostanóides, como fazem as DAINEs, mas também são capazes de inibir outros mediadores e fenômenos da inflamação, possuindo, portanto, uma potente atividade antiinflamatória (JOHNSTON & BUDSBERG, 1997, ELLEN, 1999).

3. Drogas antiinflamatórias não-esteróides

Em 1899, Felix Hoffman, sintetizou o ácido acetilsalicílico, o primeiro fármaco antiinflamatório não-esteróide, denominado aspirina. Esse fármaco foi proposto inicialmente para tratamento da febre e enfermidade reumática (VANE et al, 1971). Desde a descoberta de John Vane, no início da década de 1970, de que substâncias à base de ácido acetil salicílico bloqueiam a conversão enzimática do ácido araquidônico em prostaglandinas e tromboxanos, uma grande variedade de drogas antiinflamatórias não-esteróides tem sido sintetizada, para uso clínico, tanto na medicina humana, como na veterinária (HIGGINS & LEES, 1984, ROCHA, 2001).

As DAINEs podem ser divididos em ácidos carboxílicos, no qual enquadram-se os ácidos salicílicos (ex. aspirina, ác. salicílico, diflunisal), ácidos acéticos (diclofenaco, etodolaco, indometacina, sulindaco.), ácidos propiônicos (ibuprofeno, flurbiprofeno, cetoprofeno, naproxeno, carprofeno), ácidos fenâmicos (ácido flufenâmico, ácido meclofenâmico, ácido tolfenâmico) e ácidos aminonicotínicos (flunixinina meglumina); ácidos enólicos formado pelas subclasses pirazonas (oxifembutazona, fenilbutazona, dipirona) e oxicanos (tenoxicam, piroxicam, meloxicam) e miscelânea (nimesulida, paracetamol e DMSO). Vale salientar que devido à elevada toxicidade de alguns antiinflamatórios como, por exemplo, indometacina e diclofenaco, seu uso, em pequenos animais, tem sido restrito (ROCHA, 2001).

A maioria desses fármacos inibe ambas as ciclooxigenases (COX-1 e COX-2); muito embora varie quanto ao grau de inibição de cada uma delas. Com a descoberta da COX-2, isoforma induzida e expressa predominantemente durante o processo inflamatório, uma nova perspectiva terapêutica emergiu para o desenvolvimento de drogas mais seletivas e com menores efeitos adversos. O

conjunto desses agentes originou uma nova geração de antiinflamatórios (inibidores seletivos da COX-2), denominados de Coxibes (CHOITSO, 1998, FITZGERALD & PATRONO, 2001).

Este fato, inicialmente, contribuiu para uma verdadeira revolução na terapia antiinflamatória, uma vez que o potencial tóxico de uma DAINÉ é determinado pela relação COX-1: COX-2. Para a avaliação das DAINÉs é utilizado um índice de especificidade relativa entre as isoformas da COX, expresso como o índice IC_{50} para COX-2/COX-1. De acordo com este critério, quanto menor o valor do quociente relativo ou razão de COX-2/COX-1, maior será a seletividade da droga sobre a COX-2 (CRYER & DUBOIS 1998). A descoberta de duas distintas formas da COX levou a primeira possibilidade racional do uso de DAINÉs com perfil maior de segurança (GRISWOLD & ADAMS, 1996., FROLICH, 1997., MARNETT & KALGUTKAR, 1999).

A primeira geração propriamente dita dos inibidores específicos da COX-2 é representada pelo nimesulide, etodalaco e meloxicam. A descoberta da especificidade destes produtos foi na realidade constatada após a comercialização, sendo decorrente, principalmente, de observações clínicas e experimentais da reduzida incidência de efeitos colaterais gastrintestinais, sendo posteriormente constatada por estudos *in vitro*. O nimesulide é considerado exemplo aberrante das DAINÉs, com boa potência *in vivo* em modelos inflamatórios, mas com fraca inibição *in vitro* de preparações da COX. O nimesulide, além de exibir especificidade de ação sobre a COX-2, apresenta adicionalmente outros efeitos que intensificam sua atividade antiinflamatória, como a inibição da ativação de neutrófilos e propriedades antioxidantes. Baseando-se em estudos *in vitro*, inicialmente sugeriu-se que o meloxicam inibia seletivamente a COX-2. No entanto, quando testado *in vivo* em seres humanos e animais, sua especificidade para a COX-2 foi somente cerca de dez vezes maior do que aquela para a COX-1, apresentando ainda inibição plaquetária (PANARA et al, 1999). A modificação molecular destes produtos, notadamente do nimesulide, visando o aumento de sua seletividade sobre a COX-2, originou estruturas sem um grupamento carboxílico e com a presença de grupos sulfonamida ou de sulfona, originando os chamados inibidores específicos de segunda geração. Este grupo inclui o celecoxibe, rofecoxibe, valdecoxibe,

parecoxibe (pró-droga do valdecoxibe), APHS [*o*-(*acetoxyphenyl*)*hept-2-ynyl sulfide*] e etoricoxibe (KULKARNI et al, 2000).

O aparecimento de compostos seletivos COX-2 foi muito rápido e esses fármacos foram recebidos com entusiasmo, em virtude de serem mais seguros, demonstrando pouco potencial ulcerogênico, quando comparadas com DAINES não seletivos. Porém estudos posteriores em animais demonstraram que a COX-2 parece exercer um papel importante na fisiologia. Conseqüentemente, o potencial terapêutico e o perfil de segurança de inibidores seletivos COX-2 foram revistos (RICKETTS et al, 1998., BARNETT et al, 2000).

O papel protetor da enzima COX-2 na mucosa gástrica é sustentado pelos efeitos prejudiciais observados em estudos em animais após inibição de COX-2, principalmente através de três observações: 1) interferência com a resposta adaptativa da mucosa gástrica a meios irritantes; 2) agravamento de lesões gástricas induzidas por indometacina ou por reperfusão isquêmica; 3) por retardar a cicatrização de úlceras crônicas (LI et al, 2002).

Diferente do papel protetor observado no estômago, inibidores seletivos COX-2 não retardam a cicatrização de úlceras duodenais, onde óxido nítrico (NO) aparentemente parece ser o principal responsável na defesa da mucosa (CORUZZI et al, 2004).

Estudos sugerem que COX-1 e COX-2 podem contribuir para a proteção da mucosa gástrica, embora em diferentes condições. Todavia, diferenças significantes nas propriedades ulcerogênicas tem sido encontradas entre DAINES tradicionais e COX-2 seletivos. PGs derivadas de COX-2 não exercem papel importante na manutenção da integridade da mucosa sob condições normais, mas parecem ganhar importância na presença de uma injúria, por atuar como segunda linha de defesa para reparo e cicatrização de úlceras (CORUZZI et al, 2004).

Em paralelo com esses novos estudos, as plaquetas passaram a ser consideradas importantes no mecanismo de defesa da mucosa gástrica, por sua habilidade em liberar fatores pró-angiogênese com o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF). Este fato tem levado a novas estratégias baseadas na adição de doadores de NO em DAINES padrão. O efeito benéfico da adição de NO as DAINES pode ser atribuído a sua habilidade em causar um aumento nos níveis séricos VEGF, representando uma alternativa atrativa para DAINES convencionais e

seletivas COX-2 por facilitar a angiogênese, e com isto, uma melhor cicatrização e cura de gastropatias induzidas por anti-inflamatórios (LI et al, 2002).

Estudos têm demonstrado que o retardo na cicatrização de úlceras não é observado após a administração do composto PD138387, um inibidor seletivo COX-2, que também inibe a atividade da 5-lipooxigenase, sugerindo que a supressão desta enzima pode contrapor-se ao retardo na cicatrização causado por inibidores seletivos COX-2 (LI et al, 2002).

3.1- Ações Farmacológicas

Os anti-inflamatórios não-esteróides constituem um grupo heterogêneo de compostos, que possuem funções terapêuticas em comum, ou seja, são analgésicos, antipiréticos e anti-inflamatórios. As DAINEs, ao inibirem a síntese das prostaglandinas, (PGI_2 , PGE_1 e PGE_2), diminuem a vasodilatação, causam efeitos inibitórios nos nociceptores, centro termoregulador hipotalâmico e modulam os sinais e sintomas da inflamação ((FELDMAN & McMAHON, 2000).

Estas ações farmacológicas são particularmente importantes nas desordens músculo-esqueléticas, que geralmente cursam com dor. Por conseguinte, estes anti-inflamatórios são utilizados para o alívio sintomático da dor e inflamação, associados às doenças artríticas. Entretanto, o uso de DAINEs nas terapias de degenerações articulares deve ser bastante cauteloso, haja visto que algumas delas, como ácido acetil-salicílico, fenilbutazona, naproxeno, ibuprofeno, indometacina, apesar de demonstrarem uma potente atividade anti-inflamatória, podem agravar o quadro clínico, por aumentarem a lesão articular (BUDSBERG, 1999., WALLACE, 2001).

No tocante ao efeito analgésico das DAINEs, sabe-se que as prostaglandinas da série E, em especial PGE_1 e PGE_2 , são capazes de sensibilizar os terminais nervosos nociceptivos aferentes aos mediadores algícos endógenos, como bradicinina, histamina e 5-hidroxitriptamina. Como as DAINEs inibem a biossíntese desses prostanóides, eles são bastante eficazes na dor oriunda de inflamação (FELDMAN & McMAHON, 2000).

A febre pode resultar tanto da exposição dos animais a microorganismos, como de lesão tissular, reações antígeno-anticorpo, rejeição de enxerto, câncer ou

outros estados patológicos. Sabe-se que durante o processo inflamatório ocorre a liberação de interleucina-1 por macrófagos, estimulando a gênese de PGE₂ que, por sua vez, age diretamente no centro termorregulador, elevando o ponto de ajuste da temperatura, produzindo a resposta febril. Portanto, o efeito antipirético das DAINES pode ser explicado pelo seu bloqueio na biossíntese dessa prostaglandina (TASAKA, 1999., BOOTHE, 2001).

CHANDRASEKHARAN et al (2002), descreveram uma terceira isoforma de COX (COX-3), produzida através da COX-1, que é expressa principalmente no córtex cerebral de cães. Essa nova isoforma é seletivamente inibida por substâncias analgésicas e antipiréticas como o acetaminofen e a dipirona e, potencialmente inibida por algumas DAINES. Portanto, a inibição de COX-3 pode representar o mecanismo central primário pelo qual essas substâncias diminuem a dor e possivelmente a febre.

Além dessas três ações farmacológicas clássicas, as DAINES também desempenham atividades antitrombótica e antiendotóxica. A ação antitrombótica é explicada pela inibição da agregação plaquetária, em decorrência da modulação da síntese de tromboxanos, em especial TXA₂. Dessa forma, as DAINES alteram a dinâmica da hemostasia, podendo, muitas vezes, trazer complicações hemorrágicas. A atividade antiendotóxica das DAINES decorre da diminuição na síntese de determinados prostanóides, como prostaciclina e tromboxanos, envolvidos nas alterações cardiovasculares e metabólicas (TASAKA, 1999., BOOTHE, 2001).

Informações obtidas de diversos estudos epidemiológicos humanos, de modelos animais e de experimentos *in vitro* de cultura de células, evidenciam a participação da COX-2 no desenvolvimento de processos neoplásicos, abrindo a perspectiva do uso dos inibidores específicos da COX-2 na prevenção e no tratamento de diversos tipos de câncer. Estudos epidemiológicos revelaram que a aspirina é capaz de reduzir de 40% a 50% a incidência de câncer de cólon (WILLIAMS et al, 1997., SANDLER et al, 2003). Diversos outras DAINES, incluindo os inibidores específicos da COX-2, têm mostrado excelentes resultados na prevenção de vários tipos de câncer, incluindo os de pâncreas, fígado, esôfago, intestino, estômago, pulmão, mama, próstata, dentre outros. A base molecular para o desenvolvimento da atividade quimioprotetora das DAINES nos processos neoplásicos encontra-se principalmente relacionada com a elevada expressão e

produção de COX-2 pelo tecido tumoral, como acontece no adenocarcinoma de esôfago e em neoplasias colonretais (WU , 2000., BARON et.al, 2003).

Um dos mecanismos propostos para atividade antineoplásica das DAINES seria a inibição da ligação do ativador de proliferação do peroxissomo (PPARd) com o DNA da célula, impedindo a ativação dos genes responsáveis pelo desenvolvimento, metabolismo, crescimento e diferenciação celular. Um outro mecanismo seria o da capacidade das DAINES de induzir apoptose das células cancerosas, pela inibição da função do PPARd. Além disso, as DAINES, inibindo a COX-2, estariam também impedindo a formação de PGE₂ no tecido tumoral, prevenindo a estimulação do Fator de Crescimento do Endotélio Vascular (VEGF - *Vascular Endothelial Growth Factor*), que induz a angiogênese, estimulando indiretamente o crescimento e expansão da célula neoplásica. A expressão aumentada de COX-2 e a regulação negativa de PPARd, com a modulação subsequente nas concentrações de PGE₂ e 15desoxiD PGJ₂ (JANEWAY et al, 2001., CARVALHO, 2002). PGJ₂, pode influenciar o desenvolvimento de câncer de mama, e sua progressão para metástase ((WU, 2000). Este dado sugere, de maneira indireta, que possa ocorrer uma possível participação da COX-3, como fonte de 15desoxiD PGJ₂. No entanto, esta é uma observação apenas especulativa (JANEWAY et al, 2001., CARVALHO, 2002).

3.2- Efeitos colaterais associados ao uso de DAINES

Logo, as DAINES, ao inibirem a gênese desses importantes prostanóides, induzem uma diminuição no 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 (VANE & BOTTING, 1995., LOBETTI & JOUBERT., 2000., COELHO et al, 2001).

As DAINES apresentam outros efeitos indesejados, tais como inibição da agregação plaquetária e prolongamento da gestação, que também estão relacionados, pelo menos em parte, com a capacidade destes anti-inflamatórios em bloquear a gênese de prostanóides. A função plaquetária pode ser comprometida em decorrência da ação inibitória das DAINES na síntese de TXA₂ que, por sua vez, é um importante mediador dos processos de agregação plaquetária e coagulação

sangüínea. No tocante ao efeito das DAINEs sobre o prolongamento da gestação, sabe-se que determinadas prostaglandinas, em especial a $PGF_{2\alpha}$, são potentes substâncias uterotróficas. Por conseguinte, a modulação na síntese deste prostanóide, pelas DAINEs, pode interferir nesta função reprodutiva (DONNELLY, 1997., FELDMAN & McMAHON, 2000).

As ações deletérias no trato gastrointestinal induzidas por estes fármacos podem resultar em irritação local, iniciada pelas propriedades ácidas da aspirina e muitas outras DAINEs por terem uma constante de dissociação baixa, que varia de um composto a outro. Estes ácidos fracos permanecem em sua forma lipofílica não ionizada no meio altamente ácido da luz gástrica. Estas condições favorecem a migração destas drogas através do muco gástrico até a superfície das células epiteliais e ali se associam a sua forma ionizada, o que resulta no acoplamento de ions hidrogênio. As DAINEs podem também causar danos tópicos por diminuição da hidrofobicidade do muco gástrico, que permite a passagem do ácido clorídrico e da pepsina até as células epiteliais, lesionando-as. A injúria tópica pode ainda ocorrer como resultado de mecanismos indiretos, através da secreção biliar e o posterior refluxo duodeno-gástrico de metabólitos ativos excretados na bile que ao entrarem no duodeno causam lesões na mucosa por suas propriedades ácidas. Em virtude disto, o uso de preparações com cobertura entérica e administração de DAINEs por via retal ou parenteral, com fins de prevenir a injúria tópica, não tem trazido nenhum resultado benéfico (VANE, 1995., WOLFE & SOLL, 1988., TANAKA et al, 2001).

A injúria sistêmica é o principal responsável pelos danos causados a mucosa gastroduodenal e isto decorre da inibição da biossíntese de PGI_2 e PGE_2 que, por sua vez, inibem a secreção de ácido clorídrico (HCl), promovem a secreção de muco citoprotetor, aumentam a secreção de bicarbonato, aumentam o fluxo sangüíneo e mantêm a integridade endotelial, estando, portanto, todas estas ações das prostaglandinas envolvidas na citoproteção gástrica. A inibição na biossíntese destas prostaglandinas é a principal causa dos efeitos deletérios como gastrite, ulceração, hemorragias e perfuração gastrointestinal, comumente observados com o uso das DAINEs (KONTUREK et al, 1981., WALLACE, 2001., ALENCAR et al, 2003). Outras complicações sérias, porém menos conhecidas, incluem a esofagite medicamentosa, as ulcerações e estenoses no intestino delgado, as estenoses

colônicas e as exacerbações de enfermidades inflamatórias intestinais (LICHTENSTEIN et al, 1995., VILLEGAS et al, 2001).

A injúria na mucosa gastroduodenal causada pelo uso de DAINES é rápida e em pouco tempo são produzidos danos ultraestruturais ao epitélio gástrico. No entanto, ocorre uma adaptação da mucosa em resposta a estes danos. Nenhum segmento do estômago é resistente a injúria por DAINES, porém o sítio mais freqüentemente afetado é o antro (HUNG, 2000).

Os fatores que incrementam os riscos de complicações gastrintestinais incluem idades avançadas, antecedentes de úlceras, uso concomitante de corticóides e anticoagulante em altas doses, enfermidades sistêmicas sérias e infecção por *Helicobacter pylori*. A presença do *H. pylori* como fator de risco, é bastante controverso, uma vez que este microorganismo aumenta a síntese de prostaglandinas na mucosa gastrointestinal. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a infecção por *H. pylori* é um co-fator para as úlceras por DAINES. Outras investigações, no entanto, revelam uma menor incidência de úlceras gastroduodenais em pacientes que fazem uso de DAINES. (BARKIN, 1998).

3.3- Meloxicam

O meloxicam é um moderno derivado enolcarboxamídico, relacionado com os oxicanos (piroxicam, tenoxicam e sudoxicam), que desenvolve uma atividade inibitória seletiva sobre a COX-2 na cascata biossintética das prostaglandinas (ENGELHARDT et al, 1996c., DOIG, 2000). Este bloqueio seletivo sobre a enzima COX-2 confere-lhe um duplo benefício terapêutico ao conseguir, por um lado, uma notável atividade antiinflamatória e analgésica e, por outro, uma boa tolerância com mínimos efeitos deletérios no trato gastrintestinal (ENGELHARDT et al, 1996c., ANDRADE et al, 2001). Estudos clínicos em humanos têm demonstrado que os pacientes tratados com meloxicam apresentam menos efeitos adversos gastrintestinais que àqueles tratados com DAINES não seletivas para COX-2, como, indometacina, naproxeno e aspirina, por exemplo. Na espécie humana, o meloxicam parece não afetar a COX-1. Por outro lado, na espécie canina, um estudo realizado por RICKETTS et al (1998) demonstraram que o meloxicam, em linhagem celular de histiocitoma canino (DH82), *in vitro*, apresenta um efeito inibitório predominante sobre a enzima COX-2, mas, também, é capaz de produzir um bloqueio considerável

sobre COX-1. ALENCAR et al, 2003, observaram que em cães submetidos a tratamento com meloxicam 1,0 mg/kg, todos os animais apresentaram sintomas gastrintestinais, como vômito e diarreia sanguinolenta, a partir do 4º dia de tratamento. Na necrópsia, 100% dos animais apresentaram, hemorragias, hiperemia, escavações e úlceras gástricas profundas; bem como hiperemia e escavações na mucosa duodenal.

O meloxicam possui boa absorção digestiva e uma ótima biodisponibilidade (89%), após uma única dose oral. As características farmacocinéticas mais destacadas são sua prolongada absorção, suas concentrações séricas sustentadas e sua longa meia-vida de eliminação, em torno de 20 horas, permitindo sua administração em uma única dose diária. Após a absorção digestiva, difunde-se facilmente até o sangue e tecidos inflamados, possui uma elevada ligação às proteínas plasmáticas, em torno de 99%, sendo seus metabólitos excretados na urina e fezes (BUSCH et al, 1998., BOOTHE, 2001).

A terapia antiinflamatória teve uma evolução significativa a partir da descoberta do seu mecanismo de ação (JOHN VANE, 1971). No final dos anos 80, com a descoberta da existência de duas isoformas de ciclooxigenase (COX-1 e COX-2), que determinam diferentes funções no organismo, os pesquisadores abriram novos horizontes para o estabelecimento de uma conduta terapêutica mais eficaz e com menor incidência de efeitos colaterais. Há uma grande variedade de DAINES no mercado e há, ainda, um fluxo contínuo de pesquisas, buscando novos medicamentos desta natureza. Este fato significa que nenhuma dessas substâncias, pelo menos até o presente momento, tem sido ideal no controle ou modificação dos sinais da inflamação, sem causar efeitos deletérios no organismo.

4. Plantas medicinais

Define-se por planta medicinal aquela que contém um ou mais princípios ativos que conferem atividade terapêutica (MARTINS, 1992). O uso de plantas medicinais vem crescendo substancialmente nos últimos anos, haja vista a facilidade de acesso, o baixo custo e sua compatibilidade cultural, principalmente na região nordeste (NOGUEIRA et al, 1996). Dados da Organização Mundial de Saúde

mostram que cerca de 80% da população mundial faz uso de algum tipo de erva para recuperação da saúde (MARTINS, 1992).

A venda de medicamentos oriundos de plantas tem aumentado consideravelmente nos últimos dez anos nos países industrializados. Esta tendência de crescimento do uso de plantas medicinais para tratar vários problemas de saúde, pode ser devido ao surgimento de novas doenças, que não têm tratamento apropriado. A crença que medicamentos a base de plantas são inócuos, em contraste com medicamentos convencionais, remove a idéia de que sendo um medicamento natural, o mesmo é benéfico. Atenção especial tem sido dada a movimentos ecológicos dão ao uso de plantas medicinais e a crença de que medicamentos oriundos de plantas são naturalmente superiores às drogas sintéticas. A possibilidade de produção e conservação de plantas medicinais geneticamente melhoradas permite introduzir no mercado plantas que são ricas em compostos ativos desejados (CAPASSO et al, 2000).

O desenvolvimento de métodos modernos de processamento e preservação do material "in natura" das plantas medicinais (desidratação em pacotes a vácuo, liofilização, etc), auxiliam a manter sua qualidade por longo tempo. Entretanto, vasto número de medicamentos naturais, não tem sido submetido a rigorosos testes científicos, sendo sua qualidade extremamente variável, como também os compostos destes medicamentos não são rigorosamente comprovados. Diante disto, vários produtos naturais comercialmente disponíveis, têm sido testados quanto a eficácia e toxicidade, desafiando a eficiência e segurança da fitoterapia (RATES, 2001).

Em vários continentes, como Ásia e África, plantas medicinais são comumente usadas, porém, algumas plantas devem ser obrigatoriamente usadas com cautela, porque podem ser tóxicos para o fígado (alcalóides, pirolizidina), rins (saponinas, terpanos) e outros tecidos. É também conhecido que algumas plantas produzem substâncias tóxicas (viscotoxinas, lectinas, glicosídeos e cianogénicos), tornando desaconselháveis seu consumo para animais (CHIFUNDERA, 2001).

Plantas medicinais também podem ser potencialmente tóxicas quando elas retardam ou substituem uma forma mais efetiva de tratamento ou quando comprometem a eficácia da medicina convencional (CAPASSO et al, 2000).

O grande uso de fitoterápicos nos países desenvolvidos resulta da insatisfação com a medicina convencional. Existe ainda a crença que sendo “naturais”, estes produtos são certamente menos prejudiciais. Seus efeitos não são geralmente devidos a sua origem natural, mas pelas características farmacológicas e taxas de seus constituintes ativos. A análise química de seus constituintes é de suma importância para a padronização de fitoterápicos. Efeitos tóxicos podem ser atribuídos a vários fatores, incluindo toxicidade dos constituintes, contaminação das preparações por pesticidas, microorganismos, metais pesados (FERNANDES, 1987., CAPASSO et al, 2000).

As plantas sintetizam compostos químicos que podem provocar reações nos organismos, esses são os princípios ativos. Alguns destes compostos químicos têm sido extremamente úteis no tratamento de várias doenças em animais e humanos (NWUDE & IBRAHIM, 1980., PROPENGA, 2000).

O custo para desenvolver medicamentos sintéticos e semi-sintéticos é muito elevado tornando-os menos acessíveis à população, principalmente porque na maioria das vezes as matérias primas utilizadas na fabricação desses medicamentos são importadas. Além disso, com relação aos aspectos ambientais, as plantas medicinais têm a vantagem de serem biodegradáveis e seu suprimento é auto sustentável devido à diversidade da flora medicinal. Neste contexto, a fitoterapia vem progressivamente despertando o interesse na área da pesquisa (NWUDE & IBRAHIM, 1980; CALIXTO, 1996., HAMMOND et al, 1997., MATOS, 1997).

As formas de uso de plantas medicinais podem variar desde o uso de chás, preparados com plantas frescas, até o uso de pó, gotas, cápsulas e outros tipos de fitoterápicos (NOGUEIRA et al, 1996). Os métodos, períodos e quantidades tomadas podem ser largamente diferentes: plantas digestivas e diuréticas são usadas após a refeição; cataplasmas e massagens são aplicadas logo após a preparação; sedativos e laxativos são tomados geralmente antes de dormir; tônico e depurativos pela manhã, antes do café. Algumas plantas fitoterápicas também estão associadas com rituais (VÁLQUEZ et al, 1997).

4.1- Plantas com atividade gastroprotetora

Um grande número de espécies demonstra possuir atividade gastroprotetora e são freqüentemente usadas no tratamento de distúrbios

gastrintestinais. Triterpenóides, flavonóides e alcalóides são exemplos de substâncias dotadas de atividade protetora da mucosa gástrica. (GURBUZ et al, 2005., HIRSCHMANN et al, 2005)

GONZALES et al (1999), avaliando sete plantas medicinais da Bolívia usadas para tratamento de distúrbios estomacais, observaram a presença de saponinas, flavonóides e taninas na composição destas plantas, atribuindo a sua atividade gastroprotetora principalmente pela presença destes compostos polifenóis. Quercetin, um flavonóide presente no extrato etanólico de *Bidens pilosa*, foi em parte responsável pela atividade anti-ulcerogênica exercida por esta planta, tendo sido observado em ratos tratados diminuição do ácido gástrico e pepsina, bem como aumento da produção de muco (ALVAREZ et al, 1999).

A rutina e rhinax, flavonóides sintéticos oriundos de plantas, apresentam importante ação anti-lipoperoxidante e também parecem ser fortes sequestradores de radicais hidroxil e superóxido. Ambos radicais são envolvidos na injúria tecidual, através da iniciação de peroxidação lipídica e também na interrupção da matriz intestinal. Substâncias que são capazes de impedir sua formação ou capturar os radicais livres formados são conseqüentemente potenciais agentes anti-ulcerogênicos (DHULEY & NAIK, 1998., LA CASA et al, 1999., KUSHIMA et al, 2005).

O extrato etanólico de *Acorus calamus* produziu significativo efeito anti-secretório, anti-ulcerogênico e citoprotetor, com diminuição do volume e secreção gástricos, usando como modelo ligadura pilórica em ratos, sugerindo uma ação anticolinérgica e aumento das prostaglandinas endógenas, provavelmente pela presença de terpenos em sua composição (RAFATULLAH et al, 1994).

Voacanga africana, também exerce efeito gastroprotetor pelo mecanismo de aumento das prostaglandinas endógenas, porém não foi elucidado qual o componente presente nesta planta responsável por esta ação (TAN et al, 2000).

O stress está envolvido no desenvolvimento de úlcera gástrica, pelo aumento na liberação de ácido e pepsina, diminuição da secreção mucosa, hipotensão seguida de danos da mucosa gástrica e inibição da síntese de prostaglandinas. Algum destes fatores parece ser controlado pelo sistema nervoso central. *Atropa belladonna*, *Gelsemium sempervirens* e *Poumon histamine* em baixas

doses exerce efeito protetor de alterações gástricas, por suas ações ansiolíticas (BOUSTA et al, 2000).

AKAH et al, 1998, estudando os efeitos anti-ulcerogênicos das plantas *Diodia sarmentosa*, *Cassia nigricans*, *Ficus exasperata* e *Synclisia scabrida*, reportaram diminuição do volume da secreção gástrica, diminuição do pH e diminuição do trânsito intestinal. NAOMESI et al, 1994, observaram que o extrato aquoso de *Taverniera abyssinnica* exerceu efeito espasmolítico, inibindo a histamina, diminuindo o espasmo intestinal.

5- Momordica charantia; uma revisão.

Planta de origem muito discutida entre os pesquisadores. Alguns acreditam que a espécie tem origem na Ásia, de onde passou para África e, de lá, para o Brasil. Outros, no entanto, sustentam que a planta é nativa do Brasil. *M. charantia* é encontrada em toda a América tropical e na África, especialmente em áreas recentemente desmatadas (YESILADA et al, 1999).

As cucurbitáceas compreendem grande número de espécies, muitas delas edulas, outras medicinais e outras tóxicas. A espécie *M. charantia*, popularmente chamada de melão-de-são-Caetano, melãozinho, é considerada planta invasora em todos os países de clima tropical e/ou subtropical. Apresenta propriedade purgativa, emenagoga, hipoglicemiante e anti-helmíntica (COSTA et al, 1992., BELOIN et al, 2005).

A presença de substâncias amargas é uma característica química da família, relacionada com a riqueza em alcalóides, esteróides e saponinas que apresenta. O sabor amargo é devido ao alcalóide momordicina, não encontrado em outros membros das cucurbitáceas (NOGUEIRA et al, 1996).

Os frutos são comestíveis, sendo cultivados para este fim na China e no sul da África. Durante a estocagem do fruto para amadurecimento, ocorre um aumento nas taxas de respiração e produção de etileno do fruto imaturo, demonstrando comportar-se com o clima. O fruto maduro tem altas taxas de produção de etileno, comparado com os frutos maduros de outras cucurbitáceas (ZONG et al, 1995., MORTON, 1967)

As sementes constituem um dos componentes do “curry”, podendo ser consumidas cruas e em saladas. Os brotos novos substituem o espinafre, depois de fervidos (CONCEIÇÃO, 1982., GROVER & YADAV, 2004).

5.1- Descrição Botânica

M. charantia é uma planta trepadeira, herbácea, muito ramificada, com folhas membranáceas, sub-orbiculares, com cinco a sete lobos, gavinhas simples, delicadas, longas, pubescentes. Observadas ao estereomicroscópio, as folhas apresentam nervuras salientes. O pecíolo é cilíndrico, com protuberâncias discretas, observáveis sob os aumentos de estereomicroscópio, mas não a vista desarmada (VÁLQUEZ et al, 1997., GROVER & YADAV, 2004).

Os frutos são ovóides, alaranjados, com projeções do epicarpo. Eles atingem 10 cm de comprimento e não têm amido quando maduros. Em seu interior encontram-se diversas sementes de formato lenticular, recobertas por uma película vermelha, muito tênue (JORGE et al, 1992).

5.2- Composição Química

Dentre os componentes encontrados em *M. charantia*, são citados: glicosídeos, saponinas, alcalóides, óleos, triterpenes, proteínas e esteróides.

Momordica charantia contém proteínas originalmente denominadas de momordin 1 e 2 e subsequentemente indicada com uma variedade de nomes (MAP, momorcarins, α e β mormocarina). Estas proteínas são estudadas devido ao seu efeito inibidor da síntese de proteínas e atividade abortiva. A inibição da síntese se dá por alteração nos ribossomos, ocasionando a quebra do DNA das proteínas (VALBONESI et al., 1999., JIRATCHARIYAKUL et al, 2001).

Aminograma: Porcentagens do total de aminoácidos, considerados em grupos, após hidrólise ácida, em *Momordica charantia* "in natura".

Aminoácidos	Frutos (%)	Partes vegetativas (%)
Cistina	1,8	0,9
Lisina,taurina, histidina,arginina, asparina.	16,5	14,7
Glicina.Ácido aspartático, serina.	22,4	21,2
Ácidoglutâmico, tireonina.	25,0	28,7
Alanina, prolina.	8,5	5,2
Tirosina, triptofano.	9,2	12,8
Fenilalanina, metionina.	14,1	15,6
Leucina, isoleucina.	2,5	0,9

Fonte: JORGE et al,1992.

Teores de vitaminas encontradas em *Momordica charantia*

Vitaminas	Frutos (mg/100g)	Partes vegetativas (mg/100g)
Vitamina B1	0,18	0,13
Vitamina B2	0,20	0,48
Vitamina C	13,0	20,0
Vitamina PP	3,72	4,5
Vitamina E	18,7	28,3
Beta-caroteno	0,56	2,67

Fonte: JORGE et al. 1992.

Análise do fruto inteiro demonstra que ele contém proteínas, gorduras, carboidratos, materia mineral (cálcio, fósforo, ferro, cobre, potássio). Várias vitaminas (riboflavina, tiamina, ácido ascorbotico, ascorbegin). Aminoácidos livres estão também presentes no fruto, incluindo ácido glutâmico, alanina, fenil-alanina, prolina, ácido y-aminobutírico, serina, teronina, ácido pipecólico. Fruto verde contém

luteolin. A presença de aminoácidos livres indica que o fruto contém grande quantidade de enzimas proteolíticas (ZAFAR & NEERJA, 1991).

BEGUM et al. (1997), isolaram cinco compostos de frutos frescos de *M. charantia* e elucidaram suas estruturas através de estudos espectroscópicos. Três pentaciclinas triterpenes: momordicin (13-hidroxi-28-metoxi-urs-11-en-3-one), momordicinin (13 β ,28-epoxi-urs-11-en-3-one) e momordicilin (24[1'-hidroxi,1'-metil-2'-penteniloxil]-ursan-3-one). Um esteroide: momordenol (3 β -hidroxi-stigmasta-5,14-dien-16-one) e um álcool monocíclico: momordol (1-hidroxi-1,2-dimetil-2-[8',10-dihidroxi-4',7'-dimetil-11'-hidroximetil-trideca]-3-etil-ciclohexe-5-en-4-one).

A presença de um agente citostático foi reportada por TUN et al (1985), Uma única dose desta proteína (50 μ g/kg), inibe completamente o crescimento de carcinoma ascítico.

Em 1978, JUNG e colaboradores isolaram lectinas tóxicas e não tóxicas de *M. charantia*. Ambas possuem uma única cadeia de polipeptídeos. A lectina momordin, inibe a biossíntese de proteínas e a momordica aglutina células do sangue do tipo "O" em humanos.

Um glicosídeo de base protéica não nitrogenada foi extraído por DUTTA et al (1981). Denominado de vicina, pode produzir anemia hemolítica aguda em indivíduos susceptíveis. Novos cinco tipos de glicosídeos triterpenes (goiaglicosídeos a, b, c, d, e, f) e saponinas triterpenes (Goiasaponinas I, II e III), foram elucidados através de bases químicas e físico-químicas por MURAKAMI et al (2001) de frutos frescos de *M. charantia*.

5.3-Utilizações de *Momordica charantia* na medicina popular

As folhas e os frutos são vermífogos e úteis na cura do gogo das aves domésticas. A haste é antifebril, sendo indicada nas febres palustres. O suco misturado com azeite de amêndoas doces é usado contra queimaduras. O suco das folhas aplica-se nas sarnas. As folhas, em infusão (20:1000), são boas nas leucorréias e menstruação difíceis, e nas cólicas produzidas pelos vermes. O fruto maduro, em infusão (20:1000), é usado contra as hemorróidas. A polpa das sementes, raspada e bem machucada, e misturada com vaselina, fornece um unguento bom para provocar supuração nos casos de tumores, furúnculos,

carbúnculos, etc. A planta toda, em banhos, é indicada para dartros, eczemas etc (MARQUESI & MOREIRA, 1996., VÁLQUEZ et al, 1997., BELOIN et al, 2005).

A planta inteira é tomada oralmente como vermífugo e para febre. O talo é tomado oralmente para febre e malária. Cataplasma preparada de folhas frescas é aplicada externamente para tratamento de lepra, especialmente para reduzir a dor. O fruto seco é usado como inseticida. O fruto é consumido para tratar resfriado, também como purgativo e abortante. Extrato etanólico da planta inteira é tomado oralmente para cólica. Extrato de água quente da fruta é usado externamente para tratar ferimento. O suco da fruta misturado com óleo de rícinus em partes iguais é tomado oralmente como anti-helmíntico. Extrato de água quente da raiz é tomado como purgativo e para induzir aborto e em altas doses como emético. Oralmente tem sido usado como anti-helmíntico (CONCEIÇÃO, 1982., YESILADA et al, 1999).

Seu uso é contra-indicado para gestantes, e crianças. Há controvérsias quanto ao uso prolongado devido á sua toxicidade. *M. charantia* pode causar aborto, hemorragias uterinas, inibição da fertilidade e esterilidade, depressão vômitos e diarréia. Alguns autores descrevem atividade hipoglicemiante como efeito colateral, pois a erva causa uma queda drástica da taxa de glicose sangüínea em apenas algumas horas (MARTINS, 1992., BELOIN et al, 2005).

Os frutos, folhas e raízes tem sido usados para um grande número de doenças, como acidez estomacal, constipação e verminose. Um importante uso desta planta tem sido no diabetes mellitus. Extratos dos frutos são também utilizados em doenças do baço, fígado, reumatismo, gota etc (ZAFAR & NEERJA, 1991).

5.4- Estudos Experimentais das atividades farmacológicas de *M. charantia*

Atividade anti-helmíntica de *M. charantia*

Estudos, “in vitro”, realizados por BATISTA et al (1999), comparando a eficiência de *S. anthelmia* e *M. charantia*, demonstraram que *M. charantia* na concentração de 50% foi efetiva na eclosão de ovos, tendo os mesmos permanecidos, em sua grande maioria, nos estágios iniciais de desenvolvimento, enquanto na concentração de 0,08% foi observada quantidade significativamente maior de larvas do que ovos nos estágios iniciais de desenvolvimento. A dose inibidora de 50% (DL₅₀) da eclosão de ovos foi de 0,101 mg/mL de *M. charantia*

(solução por fervura). O teste de motilidade de larva mostrou de *M. charantia* foi mais efetiva que *S. anthelmia* nas concentrações de 6,25 e 12,5%, não tendo se verificado um efeito dose-dependente em relação a *M. charantia*.

A. squamosa, *M. charantia*, *C. papaya*, *H. courbaril*, *A. Asativum* e *M. acuminata* foram testadas para sua habilidade em reduzir carga parasitária de *Syphacia obvelata* e *Aspiculuris tetraptera* em ratos (AMORIM et al, 1991). *Momordica charantia* mostrou-se efetiva contra *Ascaridia galli*, demonstrando ser mais eficaz que o hexahidrato de piperazina (LAL et al, 1976).

VIEIRA et al (1999) avaliaram a eficácia anti-helmíntica de nove plantas sobre *H. contortus* em caprinos. Entre as plantas testadas, apenas *A. squamosa* (30,4%) e *M. charantia* (17,6%) foram efetivas em reduzir o número de parasitos adultos.

GIRÃO et al (1998), avaliando plantas medicinais, com efeito anti-helmíntico em caprinos, encontraram como melhores resultados *in vitro* na inibição de eclosão de ovos, a batata-de-purga, melão de São Caetano e bucha-paulista, nas dosagens de 3 a 5 g destas plantas.

Teste de atividade anti-helmíntica com extratos de éter de petróleo, acetato de etila, clorofórmico e metanólico de *M. charantia* sobre ovos de *H. contortus*, foram realizados por BEVILAQUA et al. (2001) tendo sido observado que o extrato acetato de etila nas concentrações de 10 e 100mg mL⁻¹ apresentou resultados superiores aos demais extratos. A inibição da eclosão de ovos de *H. contortus*, pelo extrato acetato de etila nas referidas concentrações foi de 17,4 e 100%.

Estudos *in vitro* com extratos de *Cucurbita pepo*, *Calotropis gigantea*, *Juglans regia*, *M. charantia*, *Musa paradisiaca* e *Scindapsus officinalis*, demonstraram efeito significativo sobre a motilidade de *H. contortus* em caprinos (AKHTAR et al, 2000).

Atividade hipoglicemiante

Momordica charantia é muito usada como remédio caseiro para diabetes. Extratos da polpa do fruto, folhas, sementes e a planta inteira têm demonstrado

efeito hipoglicemiante em vários modelos animais (CACICK, 1994., GROVER et al, 2002).

Um estudo preliminar de KARUNANAYAKE et al (1984), *M. charantia* demonstrou atividade hipoglicemiante, como também atividade anti-hiperglicemiante em animais de laboratório. Polipeptídeo-P isolado de frutos e sementes demonstrou potente efeito hipoglicemiante quando administrado por via subcutânea em humanos (KHANNA et al, 1981). Extrato etanólico na dose de 250mg/kg PO, diminuiu significativamente o açúcar sangüíneo, como também a taxa de glicose em ratos não diabéticos (CHANDRASEKAR et al, 1989).

Administração oral de extrato acetônico do fruto de *M. charantia* por 15 dias em ratos com diabetes induzida por alloxan, baixou o açúcar sangüíneo e as taxas de colesterol para valores normais e manteve a taxa de açúcar sangüíneo normal após 15 dias de descontinuação do tratamento (SITASAWAD et al, 2000). SHIBIB et al (1993) demonstraram que o extrato etanólico (200mg/kg) teve efeito anti-hiperglicemiante e hipoglicemiante em ratos normais e diabéticos, com decréscimos de 23% e 27 % no açúcar sangüíneo, respectivamente. Isto ocorreu possivelmente devido à inibição da glicose-6-fosfatase e frutose-1,6-bifosfatase no fígado e a estimulação de células vermelhas e ativação da glicose-6-fosfatase desidrogenase hepática.

Charantin, um polipeptídeo semelhante à insulina isolado de *M. charantia* baixou rapidamente o açúcar sangüíneo em coelhos. Charantin (50mg/kg) administrado oralmente baixou a glicose sangüínea em 42%, com queda média de 28% durante 5 horas (LOLITKAR & RAO, 1966). Suco aquoso do fruto exerceu efeito anti-hiperglicemiante e antioxidante no pâncreas de camundongos com diabetes induzida por estreptozotocin (SITASSAWAD et al, 2000). Suplementação oral (0,5, 1 e 3%) com pó de *M. charantia* por 14 dias com e sem 0,5% de colesterol e 0,15% de bile ácida na dieta , resultou em um consistente decréscimo nos níveis de glicose sérica em ratos normais do grupo que recebeu 0,5% de colesterol, demonstrando que *M. charantia* exerce um efeito anti-aterogênico (JAYASOORIYA et al, 2000).

Ratos com diabetes induzida por estreptozotocin e alimentados com dieta contendo 0,5% de *M. charantia* por seis semanas, não se observaram efeito benéfico hipoglicemiante, nem preveniu diabetes, demonstrando anormalidades nos

níveis de proteínas, uréia e creatinina dos animais (PLATEL & SRINIVASAN, 1995). Em outro estudo, dieta com ração contendo 0,02, 0,1 e 0,5% de *M. charantia* por 8 semanas não afetou o açúcar sanguíneo, ingestão alimentar, crescimento e parâmetros hematológicos de ratos adultos normais. Particularmente, 0,5% na dieta causou um significativo efeito hipocolesterolêmico (PLATEL et al, 1993).

Tratamento com 400mg ao dia de extrato aquoso de *M. charantia* e *E. jambolana* por 15 dias, preveniu substancialmente hiperglicemia e hiperinsulinemia induzida por dieta rica em glicose em ratos (VIKRANT et al, 2001).

Experimentos em ratos demonstraram que dois importantes constituintes de *M. charantia*, ácido oleonólico 3-0-glucuronide e momordidin exercem efeito anti-hiperglicemiante, pela inibição do transporte de glicose no intestino delgado (MATSUDA et al., 1998). Administrações orais de diferentes extratos demonstram uma variação no efeito anti-hiperglicemiante, sem alterar a resposta de insulina, sugerindo um mecanismo de ação independente da absorção de glicose intestinal e provavelmente envolvendo um efeito extrapancreático (DAY et al, 1984). Extrato aquoso de frutos demonstra uma parcial estimulação da liberação de insulina de células beta isoladas de camundongos obesos e hiperglicêmicos (WELIHINGDA et al., 1982). Administração de extrato do fruto de *M. charantia* por dois meses em ratos com diabetes induzida (4mg/kg) retarda o desenvolvimento de catarata (SRIVASTAVA et al, 1988).

Atividade antiolesterolêmica e hipolipidêmica

Momordica charantia reduziu o colesterol total e triglicerídeos com ausência ou presença de colesterol na dieta. Estes resultados sugerem que o fruto seco de *M. charantia* pode ser utilizado como alimento saudável (JAYASSORIYA, 2000).

Os efeitos benéficos de flavonóides foram analisados para suas atividades biológicas. Os flavanóides exerceram uma potente atividade hipolipêmica e hipoglicêmica. Além disto, foi observado um aumento dos níveis de hemoglobina em ratos (ANILA et al, 2001).

NOGUCHI et al (2001), avaliaram os efeitos do óleo do melão de São Caetano no sangue e fígado de ratos, onde observaram a redução dos níveis de

colesterol livre, com tendência para um aumento no HDL colesterol, mas esta tendência não foi significativa para refletir no colesterol total. A dieta com melão de São Caetano também afetou os níveis de hidroperóxidos no plasma. Isto pode ser atribuído à baixa estabilidade oxidativa do óleo.

Extrato do fruto de *M. charantia* foi administrado cronicamente por dez semanas em ratos com diabetes induzida e normal, para verificar seu efeito no plasma e tecido lipídico. Os resultados demonstraram que houve um significativo no plasma de colesterol não esterificado, triglicerídeos e fosfolípidos nos ratos com diabetes induzida, acompanhado de uma diminuição de HDL-colesterol. Com tratamento com extrato por dez semanas, os níveis no plasma voltaram ao limite normal. Estes resultados sugerem que o extrato de *M. charantia* tem atividade hipolipidêmica (AHMED et al, 2001).

Extrato de *M. charantia* estimula a biossíntese de proteínas nos hepatócitos de ratos. A atividade de L-aspartato transaminase e adenosina trifosfatase foi pouco elevada nos animais tratados (ARABA, 2001).

Atividade anti-HIV

A proteína MRK29 isolada de *M. charantia* inibiu a transcriptase reversa do HIV-1. Na concentração de 0,175 mcg/ml reduziu em 82% a expressão da proteína p24 do centro do vírus em células infectadas com HIV. Esta proteína (MRK29) teve papel modulador nas células imunitárias, por causa do aumento em três vezes da atividade do fator de necrose tumoral (JIRATHARIYAKUL et al, 2001).

Uma variedade de lectinas foi testada “in vitro” para sua ação inibitória da transcriptase reversa e N-glicohidrolase do vírus da imunodeficiência humana tipo-1. Lectina de *M. charantia* foi hábil para inibir a transcriptase reversa do HIV-1 (WANG & NG, 2001).

ZHENG et al (1999), testando a ação do alfa-momocarín contra o vírus HIV-1, encontraram que o mesmo foi efetivo para inibir o HIV-1, pela redução da expressão do antígeno p24 o número antígeno positivo em células infectadas agudamente. Estes autores concluíram que o alfa-momocarín é o único componente do momocarín com atividade anti-HIV e marcadamente inibe a

replicação em linfócitos T infectados agudamente e não quando infectados cronicamente.

Atividade anti-tumoral

O efeito anticarcinogênico de extrato aquoso do fruto de *M. charantia*, foi estudado em modelo de câncer de pele em ratos e o possível mecanismo de ação foi também investigado por GANGULY et al (2000). Os resultados demonstraram um papel preventivo do extrato aquoso durante carcinogênese, o qual é mediado, possivelmente, por seu efeito modulador no sistema de enzimas de apresentação de biotransformação e detoxicação (glucationa-S-transferase, glucationa, peroxidase e catalase).

Outro estudo realizado por LEE et al (1998), demonstrou que momordin I exerce atividade citotóxica contra linhagens de células cancerígenas humanas, pelo efeito inibitório da interação proteína-DNA.

Extrato etanólico de *M. charantia* foi testado quanto ao seu efeito anti-mutagênico e quimiopreventivo em ratos com câncer de colon induzido. O tratamento com o extrato na dose 1,0g/kg inibiu de forma bastante significativa à formação de tumores, como também em tumores já implantados (CHIAMPANICHAYAKUL et al, 2001)

NG et al (1992), testando as atividades biológicas e características química de alfa e beta momorcarim (proteínas de *M. charantia*), observaram que estas exibiram atividades anti-tumoral, abortiva, inativação de ribossomos e atividade imunomoduladora.

Outras atividades

M. charantia foi examinada por AMORIM et al, (1991) para sua atividade antimalarial, tendo-se mostrado inefetiva, por via oral, nas doses de 20, 100 e 500mg/kg para baixar a parasitemia em camundongos. Extratos de partes aéreas de *M. charantia* foram testados “in vivo”, utilizando roedores infectados experimentalmente, tendo sido observado apenas moderada atividade anti-malarial (MUNOZ et al, 2000).

Dois compostos antivirais anti-HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), obtidos de *M. charantia*, MAP30 e GAP31 (proteína gelonium) foram testados, “in vitro” para toxicidade em espermatozoides humano, não tendo sido observados efeitos na viabilidade e motilidade nas células espermáticas, nas doses consideradas efetivas para inibir o vírus HIV e herpes vírus simples (SCHEREIBER et al, 1999). No entanto, NASEEM e colaboradores (1998), testando extratos de éter de petróleo, benzênico e alcoólico, nas doses de 25mg/100g/pv, por 35 dias em ratos, observaram que o extrato alcoólico foi mais potente com atividades anti-espermatogênica, anti-esteroidogênica e atividade androgênica que os demais extratos testados.

M. charantia também exerce efeito protetor de mucosa gástrica em modelos experimentais. MATSUDA et al (1999), utilizando etanol absoluto (1,5mL/rato) ou indometacin (30mg/kg/s.c) como indutores de lesões, e uma hora após estes procedimentos, administrando na ração momordin Ic (ácido oleonólico oligoglicosídeo), este exerceu efeito protetor na gastrite induzida, não permitindo o aparecimento de lesões na mucosa.

Em outro estudo, extrato do fruto seco demonstrou significativa atividade anti-ulcerogênica dose dependente, contra ulcerogênese induzida por etanol, tendo este mesmo efeito sido também observado com extrato etanólico (GURBUZ et al, 2000).

Momordin I acelera parcialmente o trânsito gastrintestinal por estimulação da síntese de receptores de 5-HT para 5-HT₂, os quais aumentam a síntese de prostaglandinas (LI et al, 2000). A inibição do esvaziamento gástrico por momordin é relativo à glicose sérica e em menor parcela, mediada pelo sistema nervoso central (MATSUDA et al, 1999). *M. charantia* também demonstrou atividade anti-*H. pylori*, podendo contribuir para sua atividade anti-úlceras (YESILADA et al, 1999)

Nos últimos anos, tem havido um crescente número de publicações sobre pesquisas com plantas medicinais além de instituições privadas e governamentais terem passado a financiar programas de pesquisa nesta área. Em 1993, o Programa Internacional de Cooperação para Biodiversidade (IPCB) foi lançado para patrocinar produtos naturais na América Latina e África, ligando Universidades, indústrias e governo, num programa multidisciplinar, para o desenvolvimento e

preservação do meio ambiente. Entretanto, o potencial do uso de plantas como fonte de drogas ainda é pouco explorado (CHIFUNDERA, 2001).

Novas drogas requerem um investimento ao redor de 100-300 milhões de dólares e no mínimo dez anos de trabalho, onde somente um em dez mil compostos testados é considerado promissor e somente um em quatro, são aprovados como uma droga nova (RATES, 2001).

Cinqüenta quilos de material bruto são necessários para produzir 500mg de composto puro para pesquisa biológica, toxicidade e avaliação *in vitro*; Estudos pré-clínicos e clínicos requerem 2 kg de compostos puros obtidos de 200 toneladas de material bruto (RATES, 2001).

Devido às quantidades requeridas, o uso de uma planta para fins medicinais deve se basear na preservação, reposição (replântio) e estabelecimento de prioridades em relação a necessidade do princípio farmacológico.

Neste contexto, *Momordica charantia*, facilmente encontrada em países de clima tropical e sub-tropical, de fácil plantio e com várias possibilidades de emprego de seus princípios ativos que poderão ser usados em uma diversidade de enfermidades, vem de encontro aos anseios para obtenção de novas drogas oriundas de plantas medicinais.

JUSTIFICATIVA

As enfermidades gástricas possuem alta incidência em cães e em humanos. O tratamento inclui remoção do agente desencadeante; reestabelecimento das condições necessárias ao reparo da mucosa gástrica, normalização do equilíbrio ácido-básico e hidrolítico, drogas anti-eméticas e anti-secretoras. No tocante as ulcerações, as terapias antiulcerativas são ineficazes na prevenção de úlceras induzidas por antiinflamatórios não esteróides, sendo apenas os análogos das prostaglandinas (misoprostol) usados para este fim. Porém, o misoprostol foi retirado do mercado, devido à desvirtuação do seu uso. Desta forma, faz-se necessário que pesquisas sejam realizadas para comprovar a eficácia de *Momordica charantia* na prevenção de gastrite e ulcerações gástricas para que a mesma possa ser utilizada como uma alternativa terapêutica de baixo custo para prevenção e/ou tratamento de gastropatias induzidas por DAINEs, em especial pelo meloxicam em cães.

OBJETIVOS

Geral

- Avaliar o efeito protetor do extrato etanólico de *Mormodica charantia* (Melão-de-São-Caetano) sobre as lesões gástricas induzidas por meloxicam em cães.

Específicos

1. Avaliar e quantificar a prevalência de lesões gástricas em cães errantes da cidade de Fortaleza, Ceará.
2. Propor um modelo de ulceração crônica em cães utilizando o meloxicam, DAINE inibidora seletiva COX-2.
3. Avaliar o efeito gastroprotetor do EE de *M. charantia* em ulceração induzida por DAINE, em especial, meloxicam.
4. Verificar o efeito do EE de *M. charantia* na secreção gástrica e nos eventos envolvidos na gastroproteção.
5. Elucidar os possíveis mecanismos de gastroproteção do EE de *M. charantia*.

MATERIAL E MÉTODOS

PRIMEIRA ETAPA: Prevalência das lesões gástricas em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza-Ceará

Animais

Os cães sem raça definida (SRD) foram apreendidos em diversos bairros da cidade de Fortaleza, Ceará, pela equipe de captura do canil do Centro de Zoonoses. Após a captura, os cães permaneceram em canis comunitários por um período de aproximadamente uma semana, sendo posteriormente destinados ao procedimento de eutanásia. O canil do Centro de Zoonoses da cidade de Fortaleza captura por mês, cerca de 1.200 cães errantes nos diferentes bairros da cidade.

Esta investigação foi conduzida durante os meses de outubro e novembro de 2004 e foram utilizados 257 cães, sendo 153 machos e 104 fêmeas. Os cães foram fornecidos para o estudo à medida que iam sendo sacrificados pelos profissionais do canil, não havendo interferência por parte dos pesquisadores. Cerca de 20 animais foram eutanasiados e necropsiados aleatoriamente a cada visita (N= 16) Para o procedimento de eutanásia foi utilizado tiopental sódico (25 mg/kg/pv), seguido de cloreto de potássio, ambos por via endovenosa.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Ceará.

Avaliação Macroscópica

Os animais destinados ao estudo foram encaminhados à sala de necrópsia, onde, procedeu-se à abertura da cavidade abdominal com o auxílio de bisturi e tesoura. Os estômagos foram removidos e abertos ao longo de sua curvatura maior, lavados em água corrente, enxugados e avaliados quanto à presença de lesões. A avaliação macroscópica baseou-se principalmente na observação dos seguintes achados: alteração na coloração da mucosa, presença de edema, perda de pregueamento, presença de nódulos, hemorragias, petéquias hemorrágicas e lesões superficiais ou profundas na mucosa. As lesões gástricas

foram agrupadas de acordo com a sua localização anatômica nas regiões cárdia, corpo, fundo, antro e piloro.

Análise estatística

O cálculo da amostra foi baseado em estudo de YAMASAKI et al (1998), que observaram prevalência de 5% para gastrites. A precisão absoluta e intervalo de confiança foram de 95%

SEGUNDA ETAPA: Uso do meloxicam para induzir úlceras gástricas em cães.

Animais Experimentais

Neste estudo, foram utilizados 15 cães adultos, machos, sem raça definida, com peso variando entre 8 e 16 kg, procedentes do canil da Prefeitura Municipal de Fortaleza, Ceará, Brasil. Os animais permaneceram em canis individuais, sendo alimentados à base de ração comercial e recebendo água tratada à vontade.

Exames clínico e laboratorial

O exame clínico foi realizado através de aferição da temperatura, coloração das mucosas, tempo de preenchimento capilar, ausculta pulmonar e cardíaca, palpação (abdominal e gânglios linfáticos superficiais), observação de secreções, excreções, apetite e comportamento. Após este procedimento, os animais foram avaliados através de exames laboratoriais que constaram de hemograma completo e provas de função renal (dosagem de uréia e creatinina). Após a triagem, os animais que não apresentaram alterações significativas nos parâmetros pesquisados, foram everminados, por administração única da associação de pamoato de pirantel, pamoato de oxantel e praziquantel nas doses de 14,5 9,5 e 2,5 mg/kg/PO, respectivamente. Em seguida, permaneceram em período de observação durante sete dias, para que se iniciasse o protocolo experimental.

Exame Gastroscópico

A inspeção endoscópica da mucosa gástrica foi realizada um dia antes do início do tratamento e no 5° e 10° dia de medicação, utilizando-se um gastroscópio de 1m com fonte Ferrari e lâmpada halógena de 250 watts. Para tal procedimento, os animais foram sedados através da associação de xilazina a 2% (0,2 mg/kg), quetamina a 5% (0,08 mg/kg) e midazolam (0,8 mg/kg) por via endovenosa.

Grupos Experimentais

Todos os cães sem lesões gástricas foram pesados e distribuídos em dois grupos: Os animais do **grupo I** (n = 5) receberam água destilada (veículo; controle negativo), por via oral (v.o) e os animais do **grupo II** (n = 10), foram tratados com 1mg/kg de meloxicam (v.o), sendo a dose total, por animal, diluída em 2mL de água destilada, através da maceração dos comprimidos.

Tempo de experimentação e formas de avaliação durante e após o término do tratamento

Os grupos experimentais receberam os diferentes tratamentos por 10 dias. Durante este período, alterações como: anorexia, vômito, mudanças na consistência das fezes e modificações de temperatura e “humor” foram anotadas diariamente. Ao final do tratamento, ou seja, no décimo dia, foram coletadas amostras de sangue, por venopunção jugular, para os procedimentos laboratoriais. Os animais eram pesados e, em seguida, eutanasiados de acordo com os padrões éticos da experimentação animal, utilizando-se tiopental sódico na dose de 50 mg/kg, por via endovenosa rápida.

Após o procedimento supracitado, o estômago e a porção inicial do duodeno eram removidos. O estômago era aberto ao longo da sua curvatura maior, lavado e observado quanto à presença de lesões, que foram descritas em relação ao número, tamanho e localização. A porção inicial do duodeno era incisada longitudinalmente e as lesões encontradas eram descritas macroscopicamente. Após as observações macroscópicas, fragmentos do estômago e do duodeno, foram coletados e acondicionados em frascos individuais contendo formol a 10%, para posterior análise histopatológica. Vale salientar que de cada peça foram preparadas três lâminas, que foram submetidas à coloração pela hematoxilina e eosina.

Análise estatística

Os valores foram expressos em média \pm S.E.M e avaliados por ANOVA, seguido pelo teste de Dunett's. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

TERCEIRA ETAPA: Avaliação do efeito citoprotetor do extrato etanólico de *M. charantia* sobre lesões gástricas induzidas por meloxicam nas doses de 1 mg/kg e 0,5 mg/kg, em cães.

Coleta da planta

Partes aéreas (caule e folhas) de *Momordica charantia* foram coletadas, pela manhã, no mês de julho de 2004 no Bairro Rodolfo Theóphilo, na cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil. A identificação botânica da planta foi realizada no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Ceará, onde foi depositada, recebendo o "voucher" de número 32441.

Preparo do extrato etanólico de *M. charantia*.

As partes aéreas foram mantidas em ambiente arejado e à sombra, para secagem. Posteriormente, o material foi submerso em hexano por um período de sete dias. Em seguida, a solução resultante foi filtrada e as partes aéreas remanescentes foram submersas, após a evaporação residual do hexano, em álcool etílico a 95° por igual período de tempo, ou seja, sete dias. A solução obtida, por filtração, foi submetida a evaporação utilizando-se um roto evaporador a 78,5° C obtendo-se o extrato etanólico (EE). O rendimento do extrato foi, em média, 16,36g/litro. Para a administração aos animais, o EE foi diluído em solução de NaCl a 0,9%, acrescida de 5% de Tween 20.

Animais Experimentais

Neste estudo, foram utilizados 39 cães adultos, machos, SRD, com peso variando entre 8 e 16 kg, procedentes do canil da Prefeitura Municipal de Fortaleza, Ceará, Brasil. Os animais permaneceram em canis individuais, sendo alimentados à base de ração comercial e recebendo água tratada à vontade.

Exames clínico e laboratorial

O exame clínico foi realizado através de aferição da temperatura, coloração das mucosas, tempo de preenchimento capilar, ausculta pulmonar e cardíaca, palpação (abdominal e gânglios linfáticos superficiais), observação de secreções, excreções, apetite e humor. Após este procedimento, os animais foram avaliados através de exames laboratoriais que constaram de hemograma completo e provas de função renal (dosagem de uréia e creatinina). Após a triagem, os animais clinicamente sadios, foram everminados, por administração única da associação de pamoato de pirantel, pamoato de oxantel e praziquantel nas doses de 14,5, 9,5 e 2,5 mg/kg/PO, respectivamente. Em seguida, permaneceram por um período de observação de sete dias, para que se iniciasse o protocolo experimental.

Grupos Experimentais

Os cães foram pesados e distribuídos de acordo com os tratamentos administrados em sete grupos de seis animais cada, à exceção do grupo I, composto por três cães. **Grupo I:** água destilada (controle); **grupo II:** 1mg/kg de meloxicam; **grupo III:** misoprostol 4 μ g/kg + meloxicam 1mg/kg (controle negativo); **grupo IV:** EE de *M. charantia* 100mg/kg + meloxicam 1mg/kg; **grupo V:** meloxicam 0,5mg/kg; **grupo VI** EE 100mg/kg + meloxicam 0,5mg/kg grupo e grupo **VII:** misoprostol 4 μ g/kg + meloxicam 0,5mg/kg. Todos os tratamentos foram administrados por via oral, com intervalo de administração de 8 horas, à exceção do meloxicam que foi administrado a cada 24 horas.

Tempo de experimentação e formas de avaliação durante e após o término do tratamento

Os cães do grupo III e VII foram pré-medicados por um período de três dias com misoprostol e os cães dos grupos IV e VI, com EE na dose 100mg/kg, por igual período. No quarto dia, estes grupos passaram a receber o meloxicam nas doses de 1mg/kg e/ou 0,5mg/kg, por 14 dias consecutivos. Durante este período, alterações como: anorexia, vômito, mudanças na consistência das fezes e modificações de temperatura e humor foram anotadas diariamente. Ao final do tratamento, ou seja, no décimo quinto dia, foram coletadas amostras de sangue, por

venopunção jugular, para os procedimentos laboratoriais. Os animais eram pesados e, em seguida, eutanasiados de acordo com os padrões éticos da experimentação animal, utilizando-se tiopental sódico na dose de 50 mg/kg, por via endovenosa rápida.

Após o procedimento supracitado, o estômago e a porção inicial do duodeno eram removidos. O estômago era aberto ao longo da sua curvatura maior, lavado e observado quanto à presença de lesões, que foram descritas em relação ao número, tamanho e localização. A porção inicial do duodeno era incisada longitudinalmente e as lesões encontradas eram descritas macroscopicamente. Após as observações macroscópicas, fragmentos do estômago e do duodeno, foram coletados e acondicionados em frascos individuais contendo formol a 10%, para posterior análise histopatológica. Vale salientar que de cada peça foram preparadas três lâminas, que foram submetidas à coloração pela hematoxilina e eosina.

QUARTA ETAPA: Avaliação da ação do EE de *M. charantia* sobre os parâmetros da secreção gástrica em cães.

Animais

Neste estudo, foram utilizados 20 cães adultos, machos, sem raça definida, com peso variando entre 8 e 16 kg, procedentes do canil da Prefeitura Municipal de Fortaleza, Ceará, Brasil. Os animais permaneceram em canis individuais, por três dias, sendo alimentados à base de ração comercial e recebendo água à vontade.

Grupos experimentais

Os cães foram distribuídos em quatro grupos de cinco animais cada, que receberam os seguintes tratamentos por via intraduodenal: **Grupo I** 10mL de solução fisiológica; **grupo II** 100 mg/kg do EE de *M. charantia*; **grupo III** 500 mg/kg do EE e **grupo IV** Ranitidina 5mg/kg.

Método da ligadura pilórica

Após um jejum alimentar de 16 horas, os cães foram anestesiados, por via endovenosa, com a associação de quetamina a 5%, cloridrato de xilazina a 2% e midazolam 15mg e submetidos ao procedimento cirúrgico da ligadura pilórica, realizado através de incisão mediana pré-umbilical, seguida da exposição do piloro, que foi laqueado através de ligadura simples, utilizando o fio cirúrgico algodão n° 3-0. Imediatamente após a ligadura, foram administrados, por via duodenal, os tratamentos. A parede abdominal e a pele foram suturadas e após seis horas, os animais foram submetidos ao procedimento de eutanásia, utilizando-se tiopental sódico (25 mg/kg, IV), seguido pela injeção de cloreto de potássio a 10% (IV).

Realizou-se a abertura da incisão cirúrgica, sendo o estômago removido após pinçamento do esôfago. Em seguida, os estômagos foram lavados, secados com papel de filtro e seccionados dentro de bequer, sobre placa de gelo. A mucosa gástrica foi lavada com 5 mL de água. O suco gástrico e o lavado foram recolhidos e centrifugados a 1500 rpm/30 minutos. Após a centrifugação, foram retirados 400 μ L do sobrenadante para determinação da atividade péptica. Estas amostras foram armazenadas e congeladas até a realização do teste de atividade péptica. O restante do suco gástrico foi utilizado para determinação do volume, pH e acidez total (VISSHER et al, 1954).

Determinação do volume

O sobrenadante do suco gástrico foi transferido para uma proveta e medido o volume.

Determinação da acidez livre (pH) e acidez total

A acidez livre foi determinada, utilizando-se um pHmetro e a acidez total através da titulação com NaOH 0,1N, utilizando fenolftaleína como indicador ácido-base.

Determinação da atividade péptica

Amostras de 0,2mL do suco gástrico foram descongeladas a temperatura ambiente e posteriormente incubadas com 1mL de solução de albumina (5 mg/mL

em HCl 0,06N) a 37°C por 10 minutos. A reação foi interrompida pela adição de 1mL de ácido tricloroacético a 10% e as amostras foram centrifugadas a 1500g por 20 minutos. Em seguida, alíquotas de 1mL do sobrenadante foram alcalinizadas pela adição de 5mL de carbonato de sódio 0,55M. As absorbâncias das amostras foram determinadas por leitura espectrofotométrica a 660nm. Os resultados foram interpolados na curva padrão de tirosina.

Análise estatística

Os valores foram expressos em média \pm S.E.M e avaliados por ANOVA, seguido pelo teste de Dunnett's. Valores $p < 0,05$ foram considerados significantes.

QUINTA ETAPA: Avaliação da atividade do EE de *M. charantia* sobre os parâmetros da secreção gástrica, trânsito gastrintestinal (*in vivo*) e da atividade antioxidante (*in vitro*).

Animais

Ratos albinos machos, com peso variando entre 240 e 300g foram utilizados no modelo da ligadura pilórica. Para a determinação da atividade sobre o trânsito gastrintestinal foram utilizados camundongos "Swiss" machos, com peso entre 25 a 35 g. Todos os animais foram mantidos em condições controladas de luz e temperatura, com acesso livre à comida e água. Antes da administração dos tratamentos, os animais foram submetidos a um jejum alimentar de 16 horas.

Provas biológicas

Atividade sobre o trânsito gastrintestinal

Os ratos (n= 42) foram pesados e divididos em sete grupos (n=06) e tratados da seguinte maneira: grupo I recebeu 0,3mL de solução fisiológica, V.O ; grupo II recebeu atropina 1mg/kg por via intramuscular (IM) e os grupos III, IV e V receberam, respectivamente, 100, 500 e 1.000 mg/kg, do extrato etanólico de *M. charantia*; por via oral. Os grupos VI e VII receberam o EE de *M. charantia* nas doses 500 e 1.000 mg/kg, respectivamente, via oral, associado a 1mg/kg de sulfato

de atropina (IM). Transcorridos uma hora dos tratamentos, procedeu-se à administração de carvão ativado a 10% em água, na dose de 0,1mL/10g de peso via oral. Após 30 minutos da administração do carvão ativado, os animais foram sacrificados com anestesia barbitúrica por via intraperitoneal, seguido pela injeção de cloreto de potássio intracardíaca. O estômago e o intestino delgado foram removidos. O comprimento total do intestino foi medido (centímetros), desde o piloro até a junção íleo-cecal, e, igualmente, foi medido a distância percorrida pelo carvão desde o piloro até a última porção do intestino que continha pelo menos 1 (um) cm contínuo de carvão. A percentagem de carvão ativado, percorrida no trato intestinal foi calculada em função do comprimento total do intestino x 100 (ARBOS et al, 1993)

Método da ligadura pilórica

Os ratos (n=20) foram divididos em quatro grupos (n=05) e foram submetidos a um jejum alimentar de 16 horas, com acesso livre a água com glicose à 5%, antes do procedimento cirúrgico. Os animais, foram previamente anestesiados com tiopental sódico a 2,5% via intraperitoneal (0,1mL/100g) e submetidos ao procedimento da ligadura pilórica. Para tanto, realizou-se uma incisão mediana pré-umbilical como via de acesso cirúrgico ao estômago. Em seguida, o piloro foi ligado e administrado-se, por via intraduodenal (ID) 0,3 mL/100g de água destilada ao grupo controle, 50 mg/kg de ranitidina ao grupo de referência e extrato etanólico nas doses de 100 e 500 mg/kg aos demais grupos. Em seguida, a incisão cirúrgica foi suturada e, transcorridas quatro horas pós-cirurgia, os animais foram sacrificados. Os estômagos foram então removidos, pinçando o esôfago para evitar perda de material. Após a remoção, foram lavados e enxutos com papel de filtro e mantidos resfriados, sendo, então, abertos ao longo da curvatura menor. A mucosa gástrica foi lavada com 2 mL de água destilada e o suco gástrico e o lavado recolhidos em tubos de ensaio e centrifugados a 1500 rpm / 30 minutos. Foram reservados 200uL do sobrenadante para determinação da atividade péptica (ANSON, 1938), sendo estas alíquotas mantidas a -4° C, até a realização do teste. O restante do suco gástrico foi imediatamente utilizado para a determinação do volume, pH e acidez total (VISSHER et al, 1954).

Teste “in vitro”**Avaliação da atividade antioxidante**

A atividade antioxidante do EE de *M. charantia* foi avaliada pelo método da atividade seqüestradora de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazil). Dez miligramas do EE foram diluídos em 1mL de álcool metílico e alíquotas de 0,1mL foram adicionados a 3,9 mL de DPPH. A absorbância foi medida em ondas de 515 nm em intervalos de tempo de um até 60 minutos do início da reação. O índice de inibição dos radicais livres foi calculado em percentual.

Análise estatística

Os valores foram expressos em média \pm S.E.M e avaliados por ANOVA, seguido pelo teste de Dunnett's. Valores $P < 0,05$ foram considerados significantes.

RESULTADOS

PRIMEIRA ETAPA: Levantamento das lesões gástricas em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza-Ceará

Na avaliação macroscópica da mucosa gástrica dos 257 cães observou-se a presença de lesões em 63 animais, representando 24,51%. Levando-se em consideração o sexo, 61% dos que apresentaram gastropatias são machos, enquanto que as fêmeas representaram 39% (Tab. 1).

A localização mais freqüente das lesões foi na região do corpo (42), seguida pela região antral (14) e fundo do estômago (7) (Tab. 2). Não foram encontradas lesões na região pilórica. Estas lesões apresentaram-se de formas diversificadas, porém as úlceras gástricas (Fig.1) e as petéquias (Fig.2) foram as lesões mais encontradas, com percentuais de 15,5% (n= 21) e 5,7 % (n= 15), respectivamente. Outras alterações foram observadas, tais como, coloração alterada da mucosa; perda de pregas da mucosa (Fig. 2); descamação de mucosa; hemorragias; nódulos e lacerações (Tab. 3).

Tabela 1 - Distribuição de lesões gástricas em cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses do município de Fortaleza, Ceará, nos meses de outubro e novembro de 2004.

Sexo	Lesões				Total
	Presença		Ausência		
	N	%	N	%	
Macho	38	61%	126	65%	165
Fêmea	25	39%	68	35%	90
Total	63	100%	194	100%	257

Tabela 2 - Localização das lesões gástricas em cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses do município de Fortaleza, Ceará.

Localização das lesões				
Sexo \ Locais	Antro Nº	Corpo Nº	Fundo Nº	Total Nº
Macho	10	24	4	38
Fêmea	4	18	3	25
Total	14	42	7	63

Tabela 3 - Classificação macroscópica das lesões gástricas de cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses do município de Fortaleza, Ceará.

	Macho	Fêmea	Total
Achados macroscópicos	N	N	N
Coloração alterada da mucosa gástrica	3	3	6
Perda de pregas da mucosa gástrica	1	0	1
Descamação da mucosa gástrica	2	0	2
Petéquias hemorrágicas	2	2	4
Petéquias	6	7	13
Hemorragia	1	2	3
Úlceras	15	6	21
Nódulos	5	3	8
Lacerações	3	2	5
Total	38	25	63

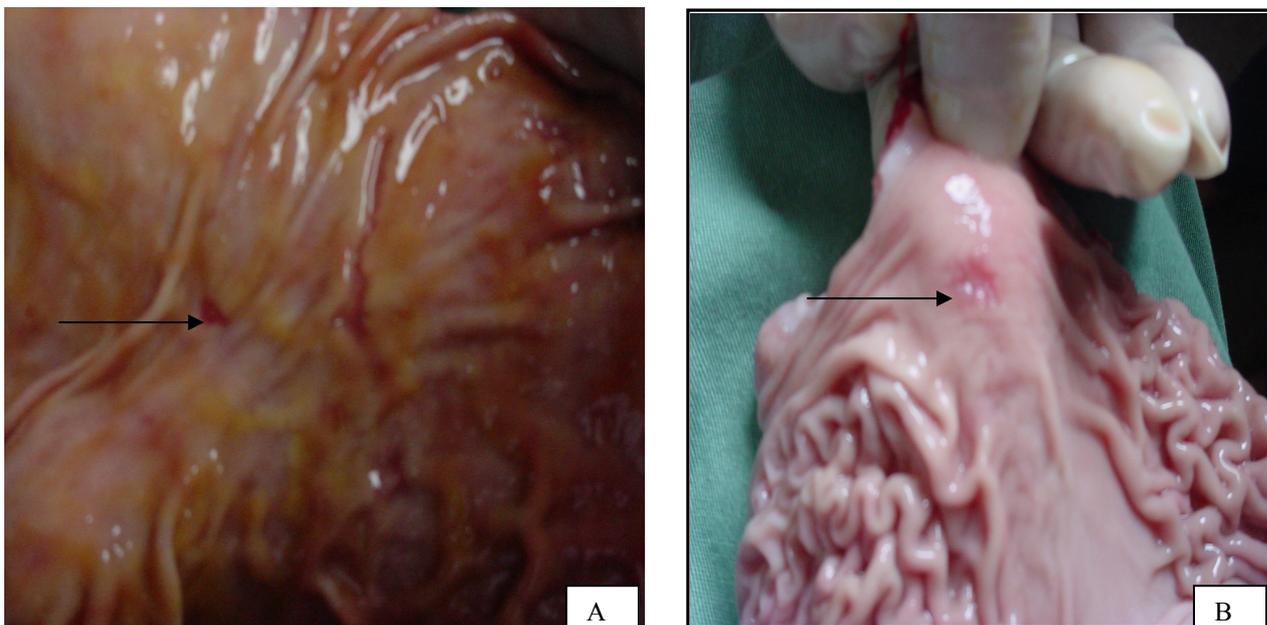


Figura 1 – Visão macroscópica de estômago de cães apresentando úlceras na região do corpo (A) e do cárdia (B).

Fonte: Alencar 2004

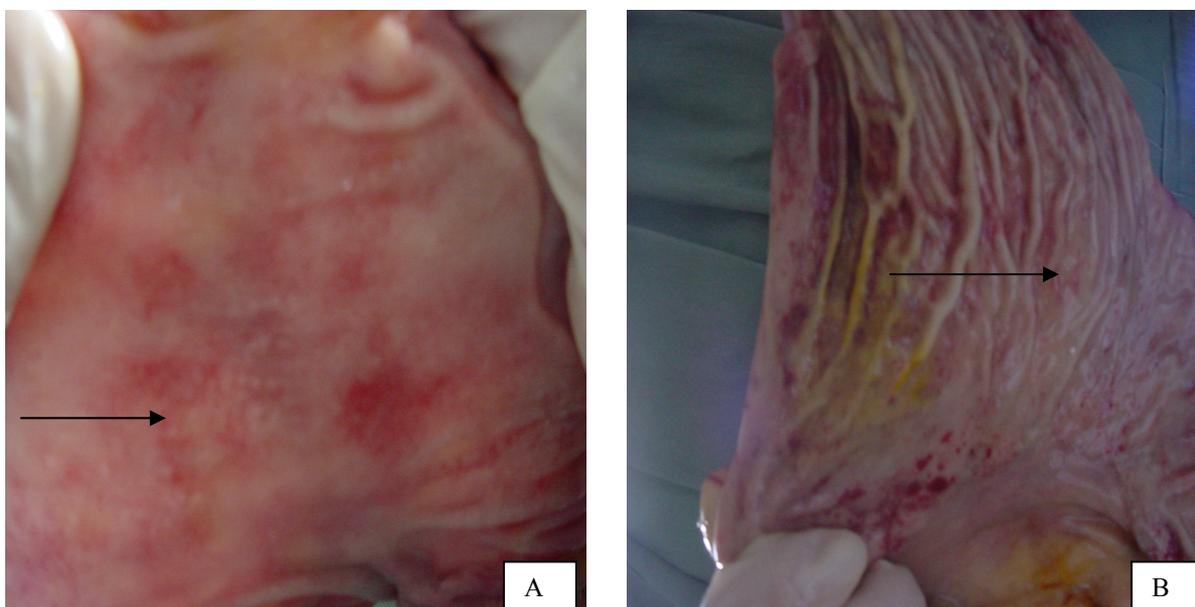


Figura 2 – Visão macroscópica do estômago de cães, apresentando petéquias difusas no corpo (A) perda do pregueamento da mucosa (B).

Fonte: Alencar 2004

SEGUNDA ETAPA: Úlceras gástricas induzidas por meloxicam em cães

No grupo controle, constituído pelos animais que receberam água destilada, não foram verificadas alterações clínicas, laboratoriais, macroscópicas ou histopatológicas dignas de notas.

No grupo teste, tratado com meloxicam 1mg/kg, todos os cães apresentaram sintomas gastrintestinais. Estes sintomas iniciavam-se pelo aparecimento de diarréia sanguinolenta observada, em média a partir do 5^o dia após o início do tratamento. O vômito, por sua vez, manifestou-se por volta do 7^o dia, com a permanência deste quadro clínico até o término do experimento.

Na segunda avaliação endoscópica realizada no 5^o dia da administração do meloxicam, observou-se em 80% dos cães a presença de úlceras antro-pilóricas e hiperemia e em 20% dos animais detectaram-se a presença de sangue (Fig. 3) por todo o estômago, hiperemia e edema de mucosa e de antro, com placas de sangue coagulado. Nos animais em que foi possível a observação do duodeno, as lesões encontradas foram petéquias, áreas hemorrágicas e úlceras na porção inicial do duodeno. No décimo dia, todos os animais apresentaram ulcerações graves na região antro-pilórica (Fig. 4).

No tocante ao quadro hematológico, todos os animais do grupo teste, apresentaram alterações significativas ($p < 0,05$) tais como eritropenia e leucocitose com neutrofilia. Foi ainda observado em 30% dos animais linfopenia relativa. Em relação aos parâmetros renais, 60% (n=06) dos animais do grupo teste apresentaram elevação sérica de uréia. Ademais, 20% dos cães tiveram um aumento de creatinina (Tab-4).

À necrópsia, todos os animais tratados com meloxicam, apresentaram úlceras gástricas severas (Fig.5), localizadas na região antro-pilórica. O número e o tamanho das úlceras foram variados. Observou-se, além de duodenite em todos os animais, presença de úlcera duodenal em 40% dos cães (Fig.6) .

Quanto à avaliação histopatológica, todos os animais apresentaram lesões do tipo ulcerativa (Fig.7). As principais alterações microscópicas encontradas no estômago foram as seguintes: ulcerações com destruição das camadas mucosa, muscular da mucosa e submucosa. As camadas musculares mais profundas não apresentaram lesões. Observaram-se áreas de necrose e exsudação granulocitária

na superfície e linfócitos e macrófagos mais profundamente. Nas áreas ulceradas foi evidente o preenchimento da área lesada por tecido conjuntivo.

No duodeno, por sua vez, observou-se uma enterite severa (Fig.8), caracterizada por intensa metaplasia intestinal, destruição do epitélio superficial, destruição e erosão da mucosa, e intenso infiltrado celular linfocitário e de polimorfonucleares (PMN).

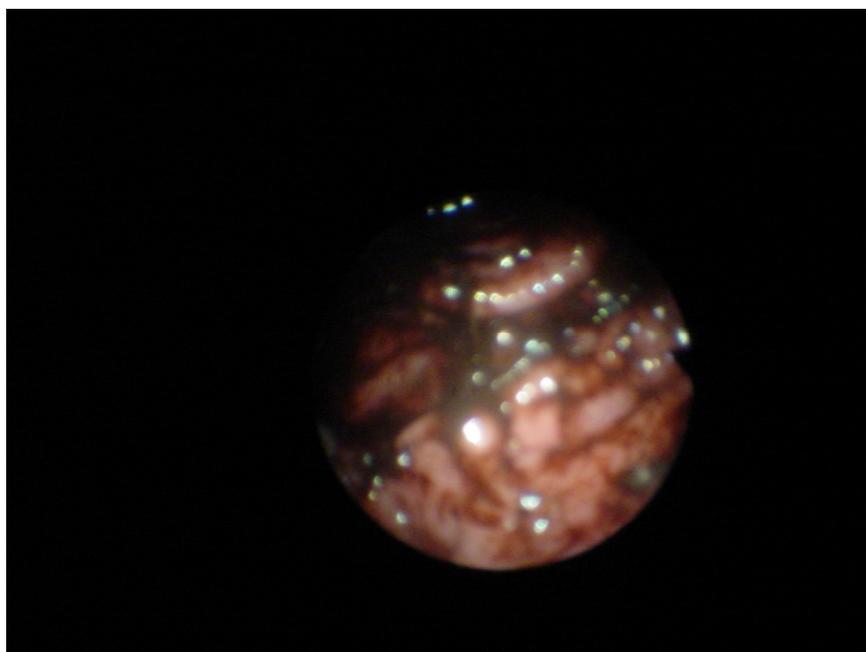


Figura 3 - Visão endoscópica de estômago de cão tratado com meloxicam 1 mg/kg apresentando hemorragia difusa por todo o corpo

Fonte: Alencar 2005

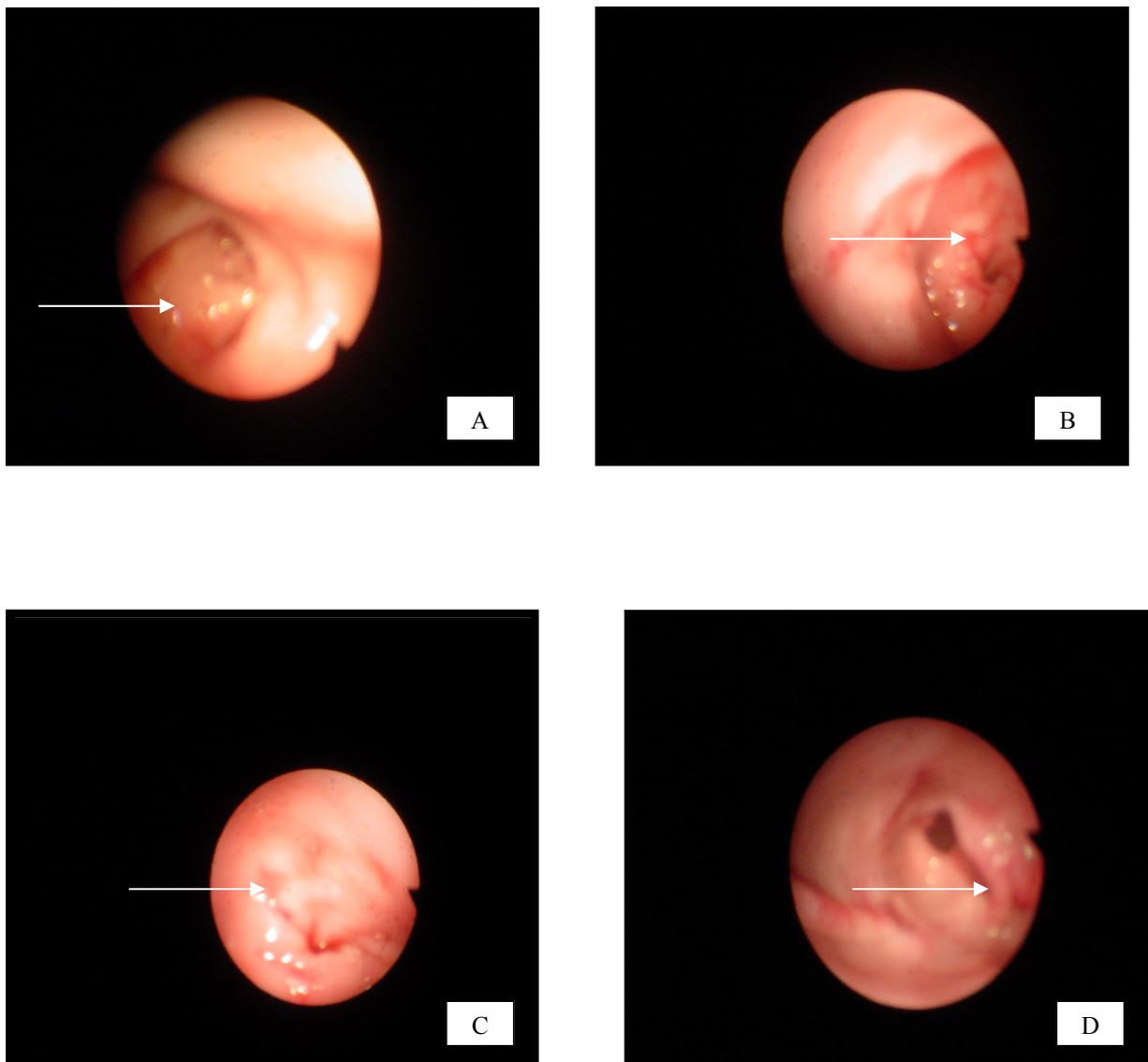


Figura.-4: Visão endoscópica de estômagos de cães tratados com meloxicam 1mg/kg, apresentando úlceras antrais (setas) no 10° dia do início do tratamento (A, B, C e D).

Fonte: Alencar 2005

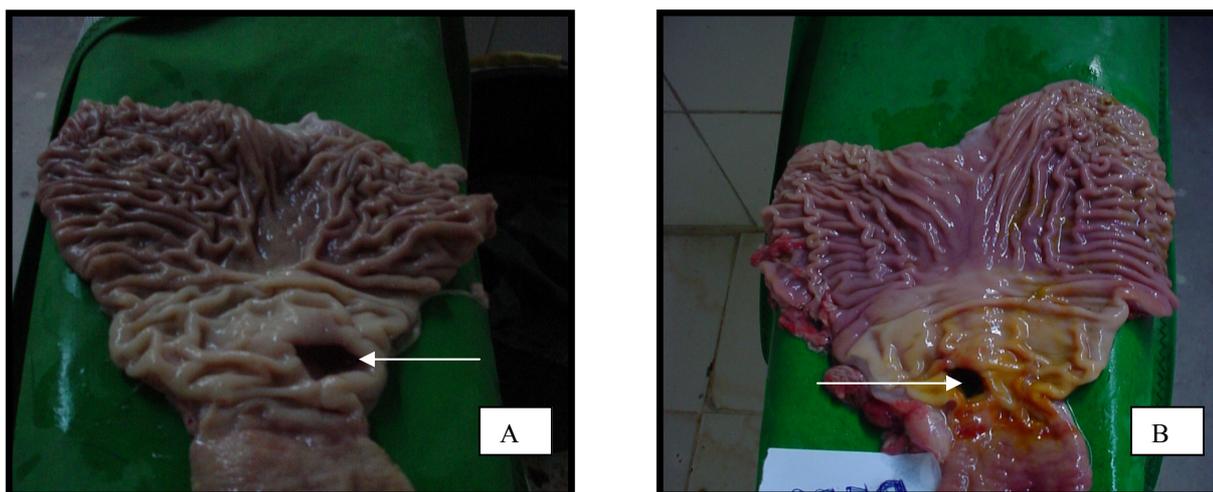


Figura 5 – Visão macroscópica de úlcera antrais (A), perforadas (B) em cão tratado com meloxicam 1 mg/Kg (setas).

Fonte: Alencar 2005

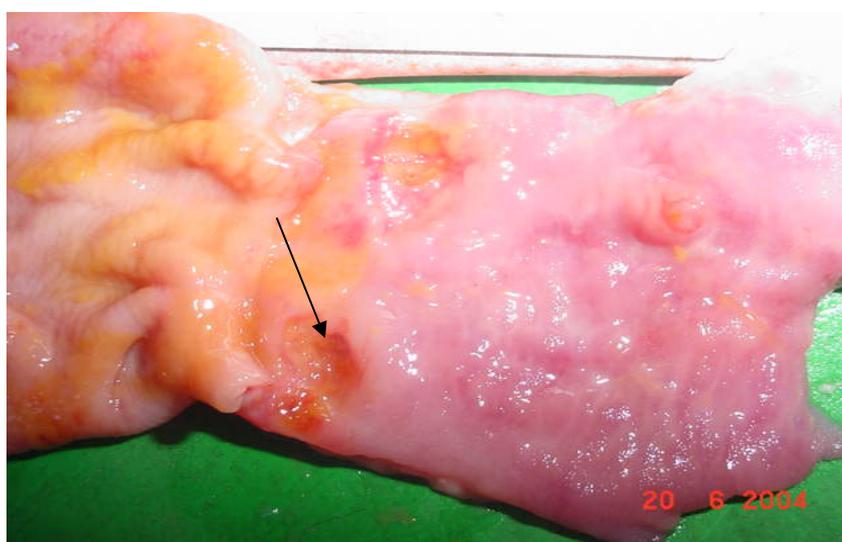


Figura 7 – Visão macroscópica de úlcera duodenal (seta) em cão tratado com meloxicam 1 mg/Kg.

Fonte: Alencar 2005

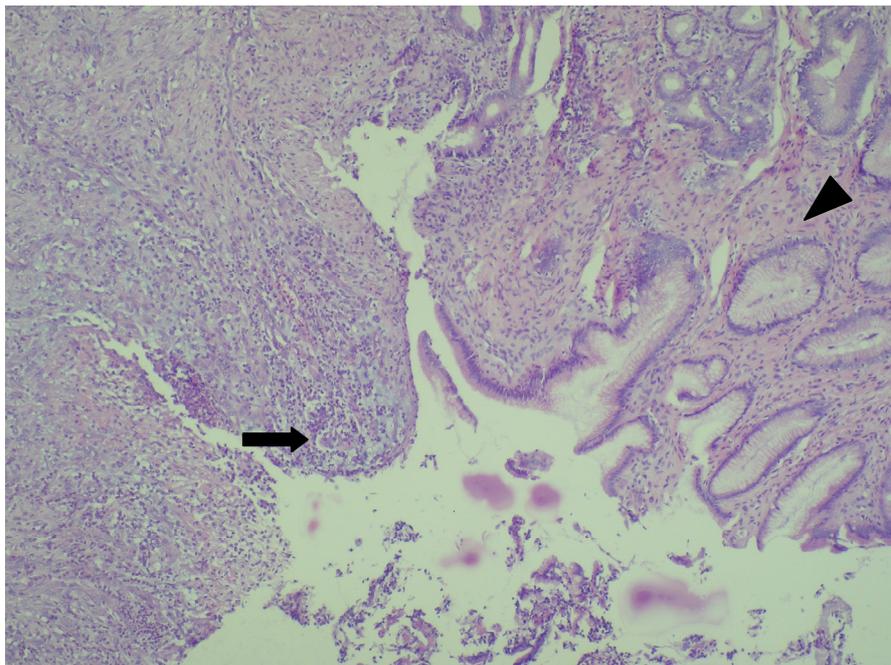


Figura 7 – Visão microscópica da região pilórica da mucosa do estômago de cão tratado com meloxicam 1mg/kg: Margem da úlcera (seta) e remanescente da mucosa (cabeça de seta). Lúmen com *debris* celular. H & E, 20x.

Fonte: Alencar 2005

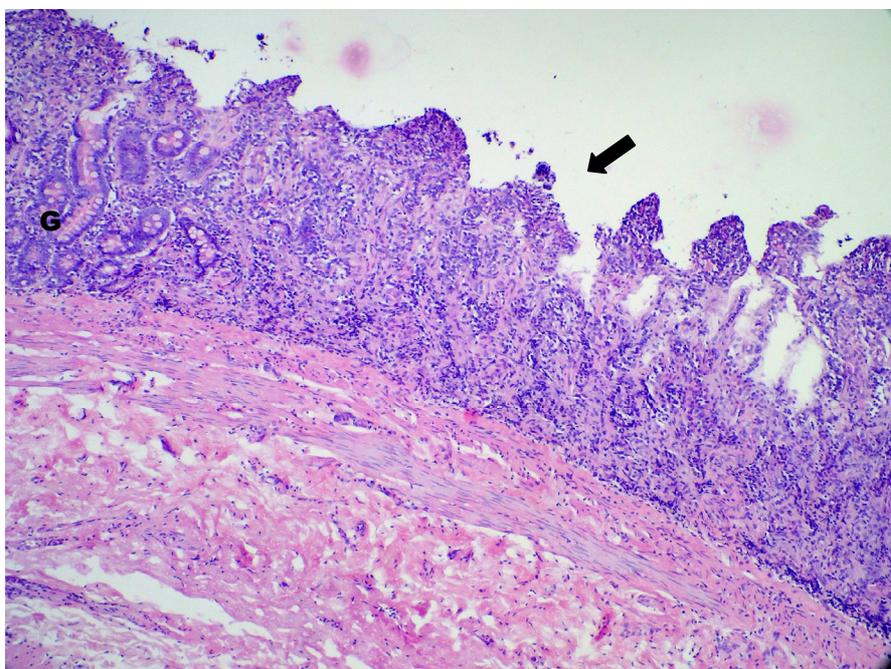


Figura 8 – Visão microscópica do duodeno de cão tratado com meloxicam 1mg/kg: Destruição das criptas e vilosidades da mucosa. Remanescentes do epitélio contendo células necróticas, fibrina e células inflamatórias (seta). Glândulas da submucosa (G). H & E, 20x.

Fonte: Alencar 2005

TERCEIRA ETAPA: Avaliação do efeito citoprotetor do extrato etanólico de *momordica charantia* sobre lesões gástricas induzidas por meloxicam, em cães.

Sintomatologia clínica: Em todos os grupos tratados foi observada sintomatologia gastrointestinal, tais como anorexia, diarreia e vômito. No entanto, no grupo tratado com meloxicam 0,5mg/kg, três animais apresentaram apenas anorexia. Os referidos sintomas iniciavam-se em média à partir do quarto dia e permaneciam até o término do tratamento, conforme abaixo discriminado (Tabela-4)

Tabela 4 - Início da sintomatologia clínica em cães tratados com H₂O, meloxicam e EE de *M. charantia*

GRUPOS	ANOREXIA	DIARRÉIA	VÔMITO
grupo I(H ₂ O)	ausente	ausente	ausente
grupo II (meloxicam 1mg)	5 ^o dia	6 ^o dia	9 ^o dia
Grupo III (misoprostol+ meloxicam 1 mg)	4 ^o dia	5 ^o dia	6 ^o dia
grupo IV (EE 100mg + meloxicam 1mg)	3 ^o dia	3 ^o dia	7 ^o dia
grupo V (meloxicam 0,5 mg)	3 ^o dia	5 ^o dia	9 ^o dia
grupo VI (EE 100 mg + meloxicam 0,5 mg)	6 ^o dia	6 ^o dia	5 ^o dia
grupo VII (misoprostol 4mg + meloxicam 0,5mg)	4 ^o dia	4 ^o dia	10 ^o dia

Exames laboratoriais: No tocante ao padrão celular sanguíneo, todos os animais tratados apresentaram, após os tratamentos, eritopenia e leucocitose com linfopenia. Em relação às plaquetas, não foram observadas diferenças entre os valores iniciais e finais dos grupos.

Tabela 5 - Média do padrão celular sanguíneo (valor inicial X valor final) dos cães tratados com H₂O, meloxicam e EE de *M. charantia*.

GRUPOS	He-I (x10 ⁶)	He-F (x10 ⁶)	Ht-I (%)	Ht-F (%)	Hg-I (%)	Hg-F (%)	Leuc-I (x10 ⁴)	Leuc-F (x10 ⁴)	Plaq-I (x10 ⁵)	Plaq.F (x10 ⁵)
II	6,4	3,1	38,5	23,5	21,7	6,7	12,3	6,2	3,8	4,2
III	6,2	2,7	44,2	18,3	14,1	18,2	9,6	3,9	2,1	1,7
IV	5,9	3,1	37,7	24,4	11,6	6,4	8,6	4,6	2,2	2,2
V	6,2 ⁶	4,1	42,3	27,9	14,2	9,1	11,1	2,0	1,6	1,8
VI)	5,2	4,1	35,6	23,9	12,3	9,3	1,3	3,2	1,6	1,9
VII	5,6	3,7	33,1	27,5	11,6	8,6	8,7	1,8	1,8	1,7

He= hemácias; Ht= hematócrito; Hg= hemoglobina; Leuc= leucócito; plaq= plaquetas I= valor inicial; F= valor final.

Os parâmetros bioquímicos sofreram alterações, principalmente na dosagem sérica de uréia, ALT e AST. A média dos grupos está representada na tabela abaixo

Tabela 6 - Valores médios (inicial vs final) de dosagens de uréia, creatinina, ALT e AST de cães tratados com meloxicam e EE de *M. charantia*

Grupos	Uréia-I (mg/dL)	Uréia-F (mg/dL)	Creatinina-I (mg/dL)	Creatinina-F (mg/dL)	AST-I (U/L)	AST-F (U/L)	ALT-I (U/L)	ALT-F (U/L)
II	32	70	0,8	0,9	25	37	25	18
III	37	121	0,8	1,22	21	43	26	17
IV	22	56	0,6	0,7	15	33	36	15
V	33	37	0,7	0,7	31	41	29	10
VI	33	43	0,9	1,2	27	31	34	15
VII	22	45	0,8	0,9	32	27	29	20

Macroscopia: Dos animais tratados com a associação do EE 100mg/kg + meloxicam 0,5 mg/kg, apenas dois cães apresentaram lesões ulcerativas superficiais no estômago e duodeno (Fig-09). No entanto quando o meloxicam nesta mesma dose foi associado ao misoprostol, todos os cães apresentaram lesões (Fig.10). Nos demais grupos foram observadas úlceras em 100% dos animais, independente dos tratamentos (Fig.11, 12 e 13).

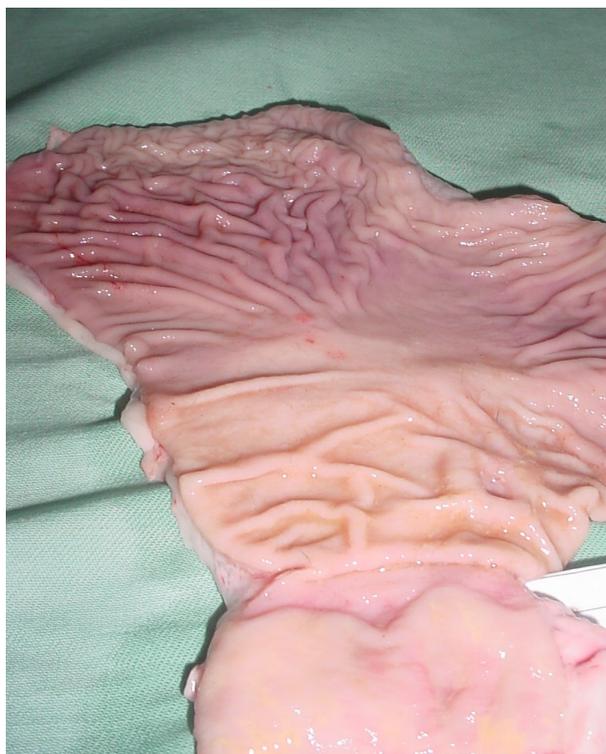


Figura 9 - Visão macroscópica do estômago sem lesão de cão tratado com meloxicam 0,5mg/kg , associado ao EE de *M. charantia* na dose de 100mg/kg.

Fonte: Alencar 2005

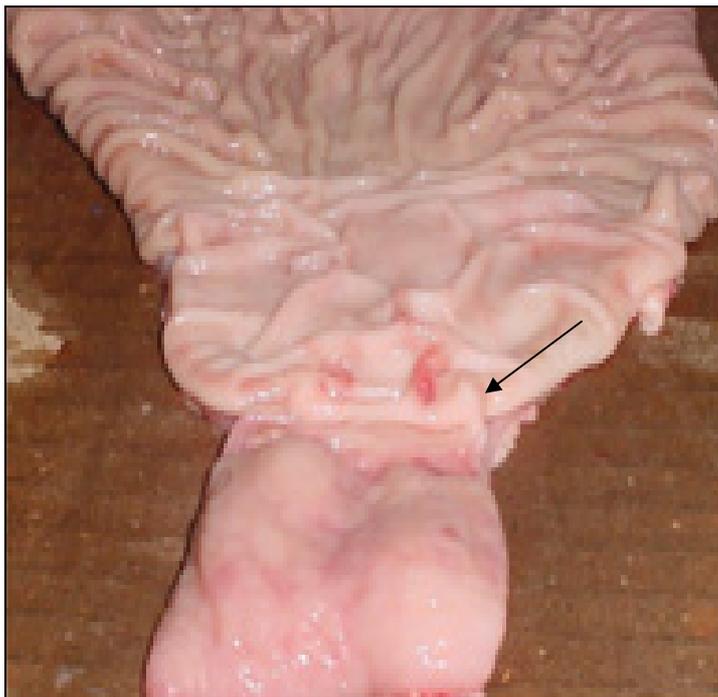


Figura 10 - Visão macroscópica de estômago de cão tratado com meloxicam 0,5 mg/kg e misoprostol 4 μ g/kg, apresentando úlceras na região antral (seta)

Fonte: Alencar 2005.

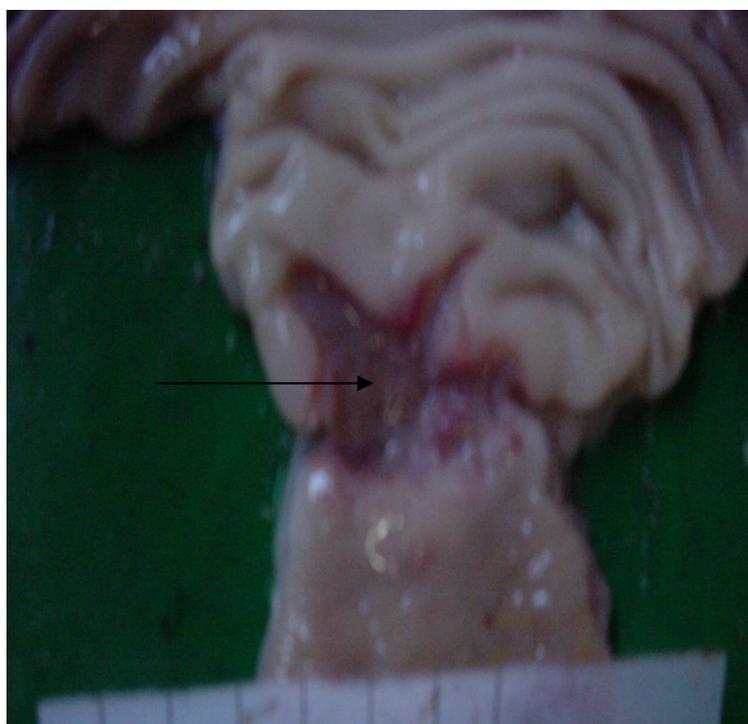


Figura 11- Visão macroscópica de estômago de cão tratado com meloxicam 1mg/kg. apresentando úlcera profunda na região antro-plórica (seta).

Fonte: Alencar 2005.



Figura 12 - Grupo meloxicam 1mg/kg
misoprostol 4 μ g/kg apresentando úlcera
perfurada na região antro-pilórica

Fonte: Alencar 2005.



Figura 13 - Grupo meloxicam 1mg/kg e EEE 100
mg/kg apresentando ulceração gastro-duodenal

Fonte: Alencar 2005.

QUARTA ETAPA: Avaliação da ação do EE de *M. charantia* sobre os parâmetros da secreção gástrica em cães.

Modelo da ligadura pilórica: Não houve diferenças entre os grupos quanto ao volume secretado. O pH nos grupos tratados com EE nas doses de 100 e 500mg, não diferiu do grupo controle. No grupo tratado com ranitidina, foi observado aumento do pH, em relação ao controle. No entanto, em relação à acidez total e atividade péptica, os grupos tratados com EE, elevaram estes parâmetros tanto em relação ao grupo controle e ranitidina, que não diferenciaram entre si (Tabela 7). Observou-se ainda uma excessiva produção de muco em todos os cães tratados com o EE de *M. charantia* no modelo do trânsito GI (dados não apresentados) (Fig-14).

Tabela 7- Valores médios do volume, pH, acidez total e atividade péptica em cães submetidos à ligadura pilórica.

Grupos	Volume total (mL)	PH mEq [H ⁺]. mL ⁻¹	Acidez total mEq [H ⁺]. mL ⁻¹	Atividade Péptica µg tirosina. mL ⁻¹
EE 500mg/kg	15,2	3,6	0,167675	160
EE 100mg/Kg	17,5	3,4	0,159496	139
Ranitidina	12,6	5,9	0,037949	55
salina	17,9	3,5	0,015928	75



Figura 14 - Estômago de cães tratados com EE 100 mg/kg demonstrando excessiva produção de muco após procedimento do trânsito intestinal.

Fonte: Alencar, 2005.

QUINTA ETAPA: Avaliação da atividade do EE de *M. charantia* sobre os parâmetros da secreção gástrica e trânsito gastrointestinal (*in vivo*) e da atividade antioxidante (*in vitro*).

Atividade sobre o trânsito gastrointestinal

Os animais que receberam apenas água destilada, apresentaram um percentual percorrido de carvão ativado de 96%, 71, não diferenciando significativamente dos resultados obtidos nos grupos tratados com atropina (65,61 EE 100mg (76,15%) e EE 1.000mg (85,67%) e EE 1.000mg associado a atropina (85,08%). O EE de *M. charantia*, na dose de 500mg, associado ou não à atropina, apresentou valores significativamente maiores ($p < 0,05$), em relação aos demais grupos com percentuais de 88,93% e 92,83%, respectivamente (Tabela-8).

Modelo da ligadura pilórica

Nos animais do grupo I (controle), após 6 horas da ligadura pilórica, o volume de suco gástrico secretado foi de $3,68 \pm 0,7$ mL, com pH de $3,11 \pm 0,3$, acidez total de $0,040 \pm 0,028$ mEq $[H^+]$. mL⁻¹ e atividade péptica de $96,2 \pm 1,71$ μ g tirosina. mL⁻¹. A administração do EE de *M. charantia* na dose de 100mg, aumentou o volume do suco gástrico para $6,1 \pm 1,56$ mL, com diminuição do pH para $2,79 \pm 0,12$ e aumento da acidez total e atividade péptica para $0,150 \pm 0,072$ mEq $[H^+]$. mL⁻¹ e $155,6 \pm 5,33$ μ g tirosina. mL⁻¹, respectivamente, em relação ao grupo controle negativo. O volume secretado pelos grupos EE 500 mg e ranitidina, apresentaram valores muito próximos entre si, $4,72 \pm 0,93$ mL e $4,46 \pm 0,54$ mL, respectivamente. Ocorreu um aumento do pH nestes dois grupos, em relação ao grupo controle ($3,70 \pm 1,01$ EE 500 mg e $3,53 \pm 0,15$ ranitidina). No entanto, a ranitidina diminuiu a acidez total em relação ao grupo controle ($0,019 \pm 0,002$ mEq $[H^+]$. mL⁻¹), fato não observado com o extrato na dose de 500 mg ($0,175 \pm 0,097$ mEq $[H^+]$. mL⁻¹). Em relação a atividade péptica, todos os grupos apresentaram diferenças significativamente maiores ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle negativo (ranitidina $150,8 \pm 8,83$; EE 100mg $155,6 \pm 5,33$ e EE 500 mg $154,6 \pm 7,45$ μ g tirosina. mL⁻¹) (Tabela-9).

Tabela 8 - Efeito do EE de *M. charantia* sobre o trânsito gastrointestinal em camundongos, utilizando como marcador carvão ativado a 10%.

Grupos	Tratamento	Média (%)
I	Água destilada 0,5 mL	71,96
II	Atropina 1 mg/Kg/pv	65,61
III	EE 100 mg/Kg/pv	76,15
IV	EE 500 mg/Kg/pv	88,93
V	EE 1000 mg/Kg/pv	85,67
VI	EE 500 mg + Atropina	92,83*
VII	EE 1000 mg + Atropina	85,08*

* Diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$)

Tabela 9 - Efeito do EE de *M. charantia* sobre parâmetros da secreção gástrica, após 6 horas da ligadura pilórica em ratos.

Grupos	Volume (mL)	PH ([H])	Acidez total (mEq [H ⁺]. mL ⁻¹)	Atividade péptica (μ g tirosina. mL ⁻¹)
Controle	3,68 \pm 0.76	3,11 \pm 0,39	0,040 \pm 0.028	96,20 \pm 1.71
Ranitidina	4,46 \pm 0.54	3,53 \pm 0,152	0,019 \pm 0.002	150,08 \pm 8.83*
EE 100 mg	6,10 \pm 1.56	2,79 \pm 0.121	0,150 \pm 0.072	155,60 \pm 5.33 *
EE 500 mg	4,72 \pm 0.93	3,70 \pm 1.01	0,175 \pm 0.097	154,60 \pm 7.45*

* Diferença significativa em relação ao grupo controle ($p < 0,05$)

Atividade antioxidante

Os resultados demonstram que a maior concentração do EE (20mg/1mL=2%) foi a mais eficiente tendo um IV (Índice de varredura) de 73,87%, e a IC₅₀ foi correspondente a 1,11% (11,1mg/mL). Ademais, observou-se que os controle apresentaram um IV de aproximadamente 91% na concentração de 0,5%, enquanto que o extrato na concentração de 0,5% demonstrou um IV de apenas 35,03%, sendo 2,6 vezes menor quando comparado aos controles na mesma concentração (Tabela-10, Gráfico-1).

Tabela 10 - Índice de estabilidade do EE of *Mormodica charantia* determinado pelo método DPPH

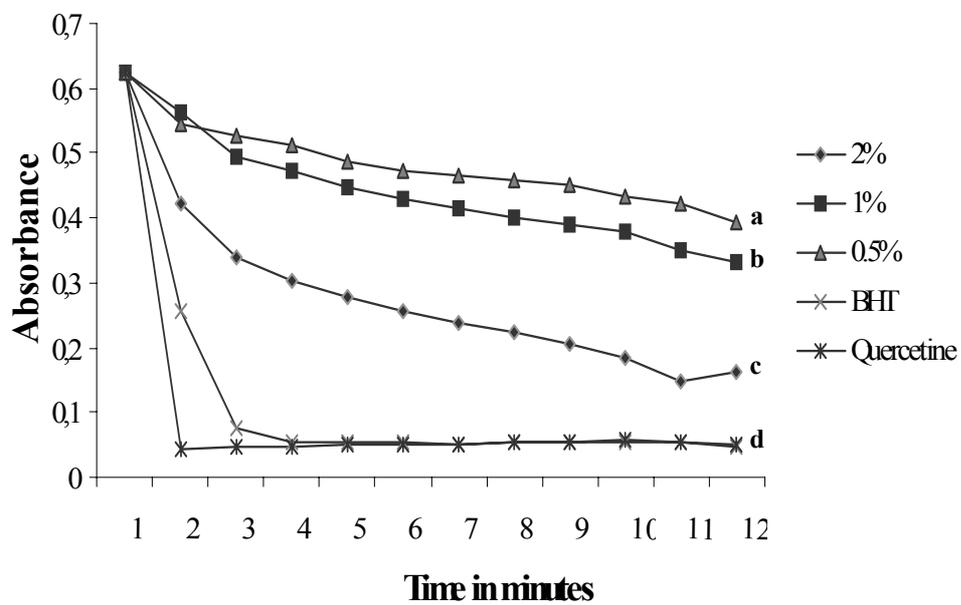
Amostras(%)	Índice de estabilidade (I%)
Extrato etanólico ^A (%)	
2	73.87 ^a
1	45.39 ^b
0.5	35.03 ^c
1,11 ^B	50.00 ^d
BHT 0,5% (controle positivo)	90.89 ^e
Quercetine 0.5% (controle positivo)	90.32 ^e

^A Percentagens do referente a concentração (w/v)

^B IC₅₀ valores de DPPH (percentagens em w/v)

Diferentes letras diferenças estatisticamente significantes $P < 0.001$

Gráfico 1 - Atividade anaoxidante do EE em diferentes concentrações e controles positivos no teste de DPPH. Diferentes letras diferencas estatisticamente significantes $P<0.001$.



DISCUSSÃO

PRIMEIRA ETAPA: Levantamento das lesões gástricas em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza-Ceará.

As patologias gástricas possuem alta prevalência em cães e são induzidas por vários fatores: indiscrições alimentares, infecções bacterianas e virais, parasitos, drogas antiinflamatórios esteróides e DAINEs, produtos químicos, neoplasias ou doenças paraneoplásicas, doenças metabólicas e estresse (TAMS, 1999, ALENCAR, et al, 2003)

Em 25% dos cães foi verificada a existência de algum tipo de gastropatia, independente do sexo. Corroborando com os resultados encontrados pelo presente trabalho, YAMASAKI et al (1998) utilizando a técnica de endoscopia, encontraram prevalência de 20% de lesões gástricas em cães clinicamente saudáveis e 25% dos cães com doença primária gastrintestinal. Neste trabalho, as lesões, em sua maioria, estavam localizadas na região do corpo do estômago, estando provavelmente associadas com as células parietais que secretam pepsina e ácido clorídrico.

Embora sejam escassas as referências a este tipo de prevalência na literatura, é sabido que as gastropatias são mais comuns do que é relatado, podendo resultar de qualquer condição que cause um desequilíbrio entre os mecanismos de defesa da mucosa (FELIX, 1986). Dentre esses, a privação alimentar por um longo período é importante, uma vez que acarreta uma maior produção de ácido gástrico e, favorece o aparecimento de lesões gástricas (FORSELL, 1988). Este pode ser um dos fatores que contribuiu para o elevado índice de lesões gástricas encontradas nos animais não domiciliados.

O estresse é outro fator importante no desenvolvimento de lesões gástricas, pois contribui para o aumento da liberação de ácido e pepsina, decréscimo na secreção do muco, alteração nos esteróides e catecolaminas, hipotensão seguida por dano isquêmico na mucosa gástrica e alterações na síntese de prostaglandinas. Alguns destes eventos são controlados pelo sistema nervoso central (MURAKAMI et al, 1985, RAINSFORD et al, 2003).

WILLARD et al (2003) utilizando a investigação endoscópica, relataram que 48,5% dos cães que participavam de corridas apresentavam gastrite, ulceração,

erosão ou hemorragia. Estas lesões foram verificadas após cinco dias do início das competições, demonstrando a importância do estresse na etiologia das gastropatias nessa espécie.

As úlceras foram às lesões encontradas com mais frequência (15,5%), acometendo 21 cães. A ulceração gástrica na espécie canina parece ser muito mais comum do que se supunha antes do uso amplo da endoscopia como ferramenta de investigação direta da mucosa gástrica (LEICONDRE, 1994). As lesões ulcerativas são consideradas benignas, ocorrendo no local em que o epitélio da mucosa foi exposto a ação do ácido gástrico e da pepsina. O excesso de produção de ácido gástrico ou um defeito na função da barreira mucosa pode levar a falência nos mecanismos de defesa, resultando no aparecimento de ulcerações (SANYAL et al, 1983, KORE, 1990). Estas lesões são raramente primárias, podendo refletir uma variedade de etiologias, tais como: enfermidades sistêmicas, estresse, uso de medicamentos ulcerogênicos, particularmente as DAINes, radicais livres derivados do oxigênio e presença de *Helicobacter pylori* (MURAKAMI et al, 1985., VANISREE et al, 1996., BOUSTA et al, 2000., CRAWFORD, 2000., RAINSFORD et al, 2003).

Embora este trabalho não tenha tido por objetivo pesquisar a etiologia das gastropatias, pode-se supor que as lesões encontradas nos animais foram de etiologia associada principalmente ao estresse, uma vez que, na sua maioria, estes cães não tinham domicílios, e após a apreensão passaram por um período de confinamento de aproximadamente uma semana. Vale salientar que durante esta fase, os cães permaneceram em canis comunitários, com superlotação e pouca oferta de alimentos.

Uma outra hipótese para a causa destas patologias seria a presença de bactérias do gênero *Helicobacter*. *H. pylori* tem sido investigada como possível causadora de gastrite e ulcerações em cães e gatos, assim como em humanos. Bactérias semelhantes a *Helicobacter* foram identificadas em diferentes estudos, com índice de variação entre 61 a 80% de cães com sintomas de vômitos e de 67 a 86% dos animais sadios (EATON et al, 1996., CORNETTA , 1998., PEACOCK, 1999).

Os resultados apresentados indicam a relevância do assunto pesquisado e a contribuição para os médicos veterinários que devem levar em consideração a

possibilidade da presença de lesões gástricas em cães domiciliados, antes da indicação de tratamento que possa exacerbar danos à mucosa gástrica.

SEGUNDA ETAPA: Úlceras gástricas induzidas por meloxicam em cães

A idéia para este estudo baseou-se no fato de não ter sido encontrada na literatura pesquisada, descrição de modelos experimentais de ulceração gástrica, utilizando-se DAINES com ação seletiva sobre a enzima ciclooxigenase-2.

A presente investigação claramente demonstra que o meloxicam, na dose utilizada, é capaz de induzir 100% de ulceração antro-pilórica. Daí a importância do uso desta droga como ferramenta farmacológica na indução de ulceração gástrica, induzida por anti-inflamatório não esteróide seletivo COX-2. O meloxicam é um derivado enolcarboxâmico, relacionado com os oxicanos (piroxicam, tenoxicam e sudoxicam), que desenvolve uma atividade inibitória seletiva sobre a COX-2 na cascata biossintética das prostaglandinas (ENGELHARDT et al, 1996c., ENGELHARDT et al.1996d.,VILLEGAS et al, 2004). Estudos clínicos em humanos têm demonstrado que os pacientes tratados com meloxicam apresentam menos efeitos adversos gastrintestinais que àqueles tratados com DAINES não seletivas para COX-2, como, indometacina, naproxeno e aspirina, por exemplo. Na espécie humana, ao contrário da espécie canina, o meloxicam parece não afetar significativamente a atividade da COX-1 (VILLEGAS, 2004)

Em estudos prévios, onde se avaliou a margem de segurança do meloxicam em cães, observou-se na dose de 1mg/kg/pv, severos efeitos colaterais, principalmente os relacionados ao trato gastrintestinal (ALENCAR et al, 2002., ALENCAR et al, 2003). Assim, em virtude dos resultados obtidos e dando continuidade a este estudo, realizou-se a presente investigação onde reavaliou-se os efeitos deletérios do meloxicam sobre o trato gastrintestinal, séries sanguíneas e sistema renal, com o intuito de padronizar um modelo experimental crônico de ulceração antro-pilórica por DAINES COX-2 seletiva. A simplicidade do modelo estabelecido neste estudo, associado à facilidade de execução e reprodutibilidade, justificam sua adoção para o estudo da ação deletéria, sobre a mucosa gástrica, de DAINES.

O protocolo terapêutico do meloxicam alterou, de modo significativo, as séries branca e vermelha, caracterizadas por eritropenia, leucocitose, neutrofilia e

linfopenia. Anemia, secundária à irritação e ulceração gástrica, é achado freqüente em cães tratados com DAINES (BOOTHE, 2001). Quanto ao aumento no número de leucócitos, tem sido referido que um quadro de leucocitose com neutrofilia, com desvio à esquerda, pode ocorrer diante de infecções, inflamação imunomediada, necrose tissular e severa hemólise (SILVEIRA, 1988). Uma vez que as lesões gástricas e duodenais foram muito extensas fica justificada as alterações no padrão celular sangüíneo, observadas nos cães tratados com o meloxicam nesta concentração.

Observaram-se alterações na taxa de uréia e creatinina. Dessa forma, 80% dos cães tratados com meloxicam (1,0 mg/kg) apresentaram um aumento significativo nos níveis de uréia, enquanto 30% tiveram, associado a elevação da taxa de uréia, alterações consideráveis na taxa de creatinina. As DAINES, ao inibirem a gênese de importantes prostanóides vasodilatadores como, por exemplo: PGI₂ e PGE₂, induzem uma diminuição no fluxo sangüíneo renal e na taxa de filtração glomerular, podendo causar uma insuficiência renal aguda. Ademais, o uso prolongado de DAINES tem sido associado com necrose papilar e insuficiência renal crônica (KORE, 1990; KHAN *et al*, 1988; LOBETTI & JOUBERT, 2000). As determinações dos níveis séricos de uréia e creatinina são testes de triagem utilizados na avaliação da função renal (ETTINGER & FELDMAN, 1997; COELHO *et. al.*, 2001).

É importante destacar que as alterações observadas na série celular sanguínea e função renal podem ser utilizadas para avaliação sistêmica dos efeitos deletérios provocados pelo meloxicam, nesta nossa proposta de modelo de ulceração.

Não foram observadas alterações nas taxas das transaminases (ALT e AST).

O meloxicam induziu úlceras em 100% dos cães, sendo todas as úlceras situadas na região antro-pilórica. LEICONDRÉ (1999) refere que as úlceras resultantes da terapia antiinflamatória, observada por endoscopia, encontram-se especialmente na região antro-pilórica, sob a forma de erosões múltiplas com pontos hemorrágicos adjacentes. Estando estas evidências, portanto, em acordo com os resultados desta investigação com meloxicam. A avaliação clínica da especificidade das DAINES para COX-1 ou COX-2, pode ser baseado no emprego de técnicas que

permitem observar a toxicidade clínica, como, por exemplo, a endoscopia para visualização de úlceras gastroduodenais, ou na observação de efeitos terapêuticos de doses anti-inflamatórias do agente (KULKARNI et al, 2000). O uso da inspeção da mucosa gástrica por endoscopia no presente estudo, revelou que as lesões iniciaram-se já no quinto dia do início do tratamento, indicando que o meloxicam, na dose utilizada, é precocemente deletério à mucosa e, que esta ação deletéria tende a aumentar de acordo com o tempo de utilização.

Dados recentes evidenciam que a síntese de prostaciclina, em humanos, ocorre primariamente via COX-2. A prostaciclina é um potente vasodilatador e anti-agregante plaquetário. WALLACE (2001), postulou que a supressão de COX-2 pode acarretar distúrbios na micro-circulação gastrintestinal que ocorrem após a administração de drogas inibidoras seletivas COX-2. Ademais, a aderência de neutrófilos observadas após a administração de DAINES, pode ser devido à supressão de COX-2. A administração de um inibidor seletivo COX-2 (celocoxibe), causou significativa aderência de neutrófilos ao endotélio vascular de vênulas mesentéricas pós-capilar, em ratos, com similar magnitude observada após a administração de DAINES convencionais (WALLACE, 2001).

É importante destacar que em experimentos mais recentes, utilizou-se um análogo da prostaglandina (misoprostol) e não observamos um efeito citoprotetor nos cães tratados com meloxicam (1mg/kg/pv). Dessa forma, fazendo-se uma associação destes dados com os resultados descritos por WALLACE (2001), podemos supor que as ações deletérias do meloxicam podem estar associadas a uma relevante supressão da COX-2, com conseqüente supressão na produção de prostaciclina.

RAINSFORD et al (2003), testando várias DAINES inibidoras seletivas sobre COX-1 (Indometacina, Naproxeno e aspirina) em suínos, sob condições semelhantes às empregadas no presente estudo, observaram que todos os animais apresentaram úlceras ou lesões superficiais da mucosa, localizadas no fundo e antro do estômago, porém, apenas a indometacina foi capaz de induzir úlceras no ceco. O meloxicam na dose de 1mg/kg/pv, em cães neste estudo, não só levou ao desenvolvimento de úlceras localizadas apenas na região antro-pilórica, como também foi capaz de causar duodenite em todos os animais. Foi também observado úlceras duodenais em 20% dos cães. A presença de úlceras duodenais, pode ter

ocorrido pela circulação entero-hepática deste fármaco ou pela supressão excessiva da COX-2. A inibição de COX-2 em colite experimental em ratos, resultou numa marcada exacerbação da injúria colônica levando à perfuração intestinal e a morte (VILLEGAS et al, 2001). Recentemente, um importante papel tem sido sugerido para COX-2 na reação da mucosa intestinal para antígenos luminal, que podem, parcialmente, explicar os danos intestinais causados por inibidores COX-2.

Os achados observados na presente investigação podem ser considerados importantes para o estudo da fisiopatologia gastrintestinal associada à utilização de DAINES, podendo, este modelo de ulceração, ser empregado para investigar importantes fatores clínicos implicados no desenvolvimento de úlceras gastro-duodenais em outras espécies animais, incluindo o homem. Este estudo abre também perspectivas para que outras drogas possam ser avaliadas quanto a sua atividade citoprotetora e/ou anti-ulcerogênica frente a um modelo crônico de ulceração.

TERCEIRA ETAPA: Avaliação do efeito citoprotetor do extrato etanólico de *momordica charantia* sobre lesões gástricas induzidas por meloxicam, em cães.

Momordica charantia, tem sido testada como agente citoprotetor em modelos agudos de ulceração em ratos e camundongos (LEITE et al, 2004., GURBUZ et al 2000), tendo sido efetiva na prevenção destas lesões nos modelos utilizados. No entanto não foi realizado, até a presente data, nenhum experimento com *M. charantia*, utilizando a espécie canina como modelo. Ademais, também não foi encontrado na literatura, qualquer referência relativa a indução de ulceração crônica utilizando um antiinflamatório seletivo COX-2.

Neste estudo, foi utilizado o meloxicam (DAINE inibidora seletiva COX-2), como droga indutora de lesões gástricas crônicas em cães. Inicialmente utilizou-se o meloxicam na dose de 1mg/kg para indução das lesões. Porém, foi verificado que, embora o grupo de cães tratados com a associação do meloxicam e misoprostol (citotec) ou EE de *M. charantia* na dose de 100mg, estes tratamentos não foram capazes de prevenir o aparecimento de lesões ulcerativas graves nos cães desses grupos. Uma vez que o misoprostol, droga de referência na proteção gastrintestinal de lesões induzidas por DAINES (RANG et al, 2001), não demonstrou nenhuma

ação preventiva, não sendo possível concluir que o EE não possuía atividade citoprotetora.

Foi, então, realizado um novo experimento com o objetivo de verificar se o meloxicam na dose de 0,5mg/kg, seria capaz de induzir lesões gástricas em cães, partindo-se da premissa que a dose de 1mg/kg estaria sendo extremamente agressiva à mucosa gástrica, não permitindo que as drogas testadas exercessem suas atividades farmacológicas. Uma outra hipótese formulada seria a de que o meloxicam não atuasse na espécie canina, via prostaglandinas, como a maioria das DAINEs (SIMON, 1999),

Os resultados obtidos demonstraram que o meloxicam na dose de 0,5 mg/kg induziu ulcerações gástricas em 100% dos animais do grupo. Quando comparado com a dose de 1mg/kg, os sintomas clínicos e as lesões gastroduodenais foram mais brandos.

Uma vez confirmado o poder ulcerativo do meloxicam na dose de 0,5mg/kg, o experimento foi repetido, utilizando-se a mesma metodologia utilizada com a dose de 1mg/kg.

Os resultados obtidos demonstraram que o misoprostol não foi capaz de proteger a mucosa gástrica, provavelmente pelo fato do meloxicam produzir injúria à mucosa por mecanismo não diretamente relacionados ao bloqueio na gênese das prostaglandinas.

No grupo tratado com o EE 100mg/kg, dois cães não apresentaram sintomatologia clínica e nem ulcerações gástricas. Ademais, um cão sintomático apresentou apenas ulcerações superficiais no duodeno, com integridade da mucosa gástrica. Em outro experimento realizado, onde utilizamos o método da ligadura pilórica em cães, foi observado um excesso de produção de muco nos animais tratados com EE nas doses de 100 e 500mg/kg. LEITE et al (2004), utilizando a dose de 100mg/kg de *M. charantia* em camundongos, observaram aumento do teor de proteínas do muco em todos os modelos utilizados (etanol, indometacina, ácido acetil salicílico, e agente necrosante), este aumento foi acompanhado de hipertrofia das células mucosas. Baseado nos achados de LEITE et al, 2004 e na citoproteção conferida neste experimento pelo EE, podemos hipotetizar que o extrato EE de *M. charantia* exerce sua atividade citoprotetora, atuando através da estimulação das células produtoras de muco, ativando a gênese das PGs. A secreção local de PGs

da série E₂ é um importante mecanismo de defesa, promovendo o aumento da produção de muco, bicarbonato, fluxo sanguíneo e reepitelização (WALLACE,2001)

Embora conferindo citoproteção, o EE não foi capaz de minimizar as alterações observadas na série celular sanguínea, porém não produziu alterações na função renal. No sistema renal, as prostaglandinas, em especial PGI₂ e PGE₂, em decorrência de sua atividade vasodilatadora, apresentam fundamental importância no fluxo sanguíneo, e, por conseguinte, em sua homeostasia (Rocha, 2001).

QUARTA ETAPA: Avaliação da ação do EE de *M. charantia* sobre os parâmetros da secreção gástrica em cães.

Para este estudo da avaliação da ação do EE de *M. charantia* sobre os parâmetros da secreção gástrica em cães, utilizamos o modelo da ligadura pilórica. Este modelo ideal por inferir o mecanismo pelo qual uma droga funciona como agente anti-ulcerogênico. (GOEL & BHATTACHARYA, 1991).

Foram avaliadas as alterações no volume, pH, acidez e atividade péptica em cães não tratados (controle), tratados com ranitidina e EE nas doses de 100 e 500mg/kg. No presente estudo, nós encontramos que EE de *M. charantia* nas doses utilizadas não induziu mudanças significativas em relação ao volume e ao pH, quando comparados ao grupo controle. No entanto, observou-se que estas doses induziram um aumento significativo da acidez total e a atividade péptica, em relação ao grupo controle e ao grupo ranitidina.

O alto nível de acidez e de atividade péptica, encontrados nos grupos que receberam EE demonstra que nestas circunstâncias, somente uma excelente proteção na superfície da mucosa pode evitar a ação digestiva da secreção péptica. De acordo com os achados de LEITE et al. (2002) o EE de *M. charantia* na dose de 100mg, elevou significativamente o teor de proteínas totais do muco gástrico, com hipertrofia das células mucosas, conferindo gastroproteção relacionada a citoproteção produzida pelo extrato. Segundo LI et al. (2000), a estimulação da síntese de 5-HT₍₂₎ pelo EE obtido de frutos de *M. charantia*, ocorre, possivelmente através dos receptores 5-HT_(2C) e 5HT_(2B), os quais, por seu turno, aumentam a síntese de prostaglandinas (PGs). O aumento da síntese de PGs conseqüentemente

leva ao aumento na produção do muco, bicarbonato e aumento do fluxo sangüíneo, conferindo citoproteção.

O aumento significativo da acidez total e de atividade péptica encontrados nos grupos que receberam EE indica que ação citoprotetora de *M. charantia*, pode estar relacionada a outros mecanismos não relacionados à neutralização ácida ou ação anti-secretora.

QUINTA ETAPA: Avaliação da atividade do EE de *M. charantia* sobre os parâmetros da secreção gástrica e trânsito gastrintestinal (*in vivo*) e da atividade antioxidante (*in vitro*).

Neste estudo, o extrato etanólico de *M. charantia* obtido de partes aéreas, foi testado para verificar sua ação sobre a secreção gástrica e trânsito gastrintestinal. Os resultados obtidos no grupo de animais tratados com a dose de 500mg/kg mostram que o EE de *M. charantia*, produziu um aumento do trânsito intestinal, não dose dependente, uma vez que esta dose, foi à única que apresentou diferenças significativamente maiores em relação ao grupo controle. Ademais, sua ação sobre o aumento no trânsito intestinal parece não sofrer ação da atropina, pois a associação desta droga às doses de 500 e 1000 mg não interferiu na ação pró-cinética do EE. A atropina é um antagonista competitivo das ações da acetilcolina (ACh) e outros agonistas muscarínicos, compete com estes agonistas por um local de ligação comum no receptor muscarínico. Como o antagonismo da atropina é competitivo, pode ser anulado se a concentração da ACh ou agonistas colinérgicos nos locais receptores do órgão efector for aumentado suficientemente (LEE et al, 2005a, LEE et al, 2005b). Baseado nos resultados obtidos que demonstraram que o efeito pró-cinético do EE não foi abolido pela associação do sulfato de atropina, podemos supor que ele não exerça ação antagonista nos recptores muscarínicos, elevando a concentração da acetilcolina. LI et al. (2000), postularam que momordin Ic, acelera o trânsito intestinal por estimulação da síntese de 5-HT (5-hidroxitriptamina). Os receptores 5-HT₄ estão presentes nos terminais nervosos colinérgicos do tubo digestivo e sua ativação provoca aumento da liberação de acetilcolina e estimulação peristáltica. Embora não se tenha utilizado, neste estudo, o EE fracionado, podemos supor que o mecanismo pelo qual o EE provocou

aumento o aumento da atividade do trânsito GI, possa está relacionado à presença de momordin Ic.

Neste estudo nós demonstramos a atividade pró-cinética de *M. charantia*, sugerindo que este extrato tem potencial para ser utilizado no tratamento nas desordens de motilidade do trato intestinal. Este achado é particularmente importante em virtude da cisaprida, que foi muito usada no tratamento de distúrbios da motilidade gastrintestinal nos anos 90, foi recentemente removida do mercado, devido a efeitos cardiovasculares. Entretanto, estudos são necessários para isolar o componente efetivo desta atividade, para elucidar o mecanismo de ação e avaliar o potencial do EE de *M. charantia*, como agente terapêutico para tratamento de desordens da motilidade gastrintestinal.

O modelo da ligadura pilórica é um modelo ideal por inferir o mecanismo pelo qual uma droga funciona como agente anti-ulcerogênico. Úlceras gástricas induzidas por ligadura pilórica ocorrem pelo aumento de ácido e pepsina devido a obstrução pilórica e subsequente digestão da mucosa. Uma grande quantidade de muco é secretada durante o dano superficial e provém um favorável micro-envolvimento no reparo. Portanto, o cálculo estimativo da secreção ácida, secreção péptica e do muco é uma valiosa parte do estudo para clarear o mecanismo de ação de droga sob teste (GOEL & BHATTACHARYA, 1991).

No presente estudo, nós encontramos que EE de *M. charantia* não induziu mudanças significativas em relação ao volume e ao pH, porém, observou-se que na dose de 500mg o pH produzido pelo EE (3,7) foi superior ao da ranitidina (3,53) e ao do grupo controle (3,11). No tocante a acidez total e a atividade péptica, as doses de 100 e 500mg do EE induziu aumento significativo destes valores em relação ao grupo controle. Este fato pode ser explicado pelos resultados obtidos no teste do trânsito intestinal, onde o EE parece exercer uma ação agonista, com aumento de liberação da acetilcolina. O aumento da liberação de ACh estimula a secreção de todos os tipos celulares secretores nas glândulas gástricas, incluindo a secreção de pepsinogênio pelas células pépticas, de ácido clorídrico pelas células parietais e de muco pelas células mucosas.

Embora, neste estudo, o EE de *M. charantia* tenha induzido o aumento dos fatores agressores da mucosa gástrica (ácido e pepsina), LEITE et al (2004) e GURBUZ et al (2000), demonstraram que o EE desta planta, obtidos de partes

aéreas e frutos, possui atividade anti-ulcerogênica em vários modelos de ulceração. A ação citoprotetora de *M. charantia*, pode estar relacionada a outros mecanismos não relacionados à neutralização ácida ou ação anti-secretora. O alto nível de acidez total e de atividade péptica encontrados nos grupos que receberam EE demonstra que nestas circunstâncias, somente uma excelente proteção na superfície da mucosa pode evitar a ação digestiva da secreção péptica. De acordo com os achados de LEITE et al. (2004) o EE de *M. charantia* na dose de 100mg, elevou significativamente o teor de proteínas totais do muco gástrico, com hipertrofia das células mucosas, conferindo gastroproteção relacionada a citoproteção produzida pelo extrato. Segundo LI et al. (2000), a estimulação da síntese de 5-HT₍₂₎ pelo EE obtido de frutos de *M. charantia*, ocorre, possivelmente através dos receptores 5-HT_(2C) e 5HT_(2B), os quais, por seu turno, aumentam a síntese de prostaglandinas (PGs). O aumento da síntese de PGs conseqüentemente leva ao aumento na produção do muco, bicarbonato e aumento do fluxo sanguíneo, conferindo citoproteção.

Uma vez que o EE não aboliu os fatores agressores da mucosa gástrica, resolvemos verificar se sua ação citoprotetora estava relacionada a alguma atividade antioxidante. No entanto, o EE demonstrou possuir baixa atividade. Um grande variedade de modelos experimentais utilizando DAINes na indução de lesões gastrintestinais, demonstram que estas lesões podem ser reduzidas por agentes que facilitem a captura de radicais livres (VAANANEN et al, 1991., WALLACE et al, 1994., VILLEGAS et al, 2001).

CONCLUSÃO GERAL

Os experimentos realizados neste trabalho de tese permitiram estabelecer as seguintes conclusões:

1. As gastropatias são freqüentes em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza. Outros levantamentos devem ser realizados com a finalidade de contribuir para a saúde pública, uma vez que, as lesões ulcerativas observadas, podem ter como agente etiológico a bactéria *Helicobacter pilory*.

2. Foi possível estabelecer um modelo crônico de ulceração antro-pilórica induzida por DAINE COX-2 seletiva (meloxicam).

3. O EE de *M. charantia* na dose de 100 mg/kg, exerceu efeito gastroprotetor em cães, quando se utilizou o meloxicam na dose de 0,5 mg/kg na indução de úlceras gástricas.

4. EE de *M. charantia* dose de 500mg/Kg, exerce uma ação pró-cinética sobre o trânsito gastrintestinal.

5. A ação citoprotetora do EE de *M. charantia* pode estar associada a outros mecanismos não relacionados a simples neutralização ácida, ação anti-secretora ou atividade antioxidante.

PERSPECTIVAS

M. charantia demonstrou ter uma ação pró-cinética sobre o trânsito gastrintestinal, abrindo uma nova perspectiva para sua utilização nas desordens de motilidade do trato intestinal. O baixo índice de lesões observadas nos estômagos dos cães tratados com o EE de *M. charantia* associado ao meloxicam (0,5mg), demonstra que o referido extrato possui propriedade gastroprotetora em lesões induzidas por DAINEs.

Os resultados obtidos neste estudo são bastante promissores, porém, novas pesquisas devem ser realizadas para abordar outros esquemas de dosagens do EE de *M. charantia* no modelo de ulceração empregado, bem como isolar os constituintes que possam estar associados a sua ação pró-cinética e gastroprotetora. Embora tenha sido observado que o mecanismo de gastroproteção exercido por *M. charantia* não se encontra relacionado à neutralização ácida, atividade anti-secretora ou antioxidante, outros estudos devem ser realizados para confirmar a hipótese de que este mecanismo esteja relacionado ao aumento da síntese das prostaglandinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, I.; LAKHANI, M. S.; GILLET, M.; JOHN, A ;RAZA, H. Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of anti-diabetic *Momordica charantia* (Karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes Research and Clinical practice**, v. 51. p.155-161, 2001.

AKHTAR, M. S., IQBAL. Z., KHAN, M. N., LATEEF, M. Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the Indo-Pakistan subcontinent. **Small Ruminant Research** v. 28, p. 99-107, 2000.

ALENCAR, M. M. A., PINTO, M.T., OLIVEIRA, D.M., PINHO, W.A P., CÂNDIDO, I.A., VIRGÍNIO, C.G., COELHO, H. S. M. ROCHA, M. F. G. Avaliação da atividade farmacológica do meloxicam sobre a função renal em cães. **Ciência Animal**, v.12, p.25-33, 2002.

ALENCAR, M. M. A., PINTO, M.T., OLIVEIRA, D.M., PINHO, W.A P., CÂNDIDO, I.A., VIRGÍNIO, C.G., COELHO, H. S. M. ROCHA, M. F. G. Margem de segurança do meloxicam: efeitos deletérios nas células sanguíneas e trato-gastrintestinal. **Ciência Rural**, v.38, p. 625-532, 2003.

AMORIM, A., BORBA, H. R., AMANO, L. M. Ação anti-helmíntica de plantas IV. Influência da casca do caule do cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers; Bignoniaceae) na eliminação de *Vampirolepis nana* e de oxiurídeos em camundongos. **Revista Brasileira de Farmacologia**. v. 72, p. 53-54, 1991.

ANILA, L.; VIJAYALAKSHMI, N. R. Beneficial effects of flavanoids from *sesamum indicum*, *Emblica officinalis* and *Momordica charantia*. **Phytotherapy research**, v.14, p.592-595, 2001.

ANSON, M.L. The estimation e pepsin, tripsin, papin and catepsin with hemoglobin. **Journal General Physiological**. v.22, p.78, 1938.

ARABA, B. G. Stimulation of protein biosynthesis in rat hepatocytes by extracts of *Momordica charantia*. **Phytotherapy Research**, v. 15. p, 95-98, 2001.

ARBOS, J. A., ZEGRI, A., LOPEZ-SORIANO, F. R.F., ARGILES, J. M. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. **Archive International of Physiology, Bioquimic and Biophysic**, v.101, p. 113-115, 1993.

BARKIN, J. The relation between *Helicobacter pylori* and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. v. 105, p. 22-27, 1998.

BARNETT, K., BELL, C. J., McKAIGHT, W., DICAY, M., SHARKEY, K, A, WALLACE, J.L. Role of cyclooxygenase-2 in modulating gastric acid secretion in normal and inflamed rat stomach. **Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.279, p.1392-1397, 2000.

BARON JA, COLE BF, SANDLER RS et.al - A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. **New Engl Jounal Medical**, v, 348, p. 891-899, 2003.

BEGUM, S.; AHMED, M.; SIDDIQUI, B. S.; KHAN, SAIFY, S. Z.; ARF, M. Triterpenes, a sterol and a monocyclic alcohol from *Momordica charantia*. **Phytochemistry**, v. 44, p.1313-1320, 1997.

BELOIN, N., GBASSOR,M., AKPAGANA, K., HUDSON,J., SOUSSA, K., KOUMAGLO, K., ARNASON,J.T. Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* in Togo and realltion to its phytochemistry and bilogical activity. **Journal of Ethnopaharcology**, v 96, p. 49-55, 2005.

BENEVENTOS, S. & FERREIRA, A. R. Estudo histológico das gastropatias em caninas e felinas. *Revista Brasileria de Medicina Veterinária*, v.24, p. 81-84, 2002.

BOOTHE, D.M. Anti-inflammatory drugs. IN: BOOTHE, D.M. **Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1st ed., 281-311, 2001.

BOUSTA, D.; SOLIMANI, R.; JARMOUNI, I.; BELON, P.; FALLA, J.; FROMENT, N.; YOUNOS, C. Neutropic, immunological and effects of low doses of *Atropa belladona L.*, *gelsemium sempervirens L.* and *poumon histamine* in streessed mice. **Journal of Ethnopharmacologycoly**. v. 74, p. 205-215, 2000.

BUSCH, U., SCHMID, J., HEINZEL, G., SCHMAUS, H., BAIERL, J., HUBER, C., ROTH, W. Pharmacokinetics of meloxicam in animals and the relevance to humans. *Drugs Metab. Dispos.*, v.26,p. 576-584 1998.

CAKICI, I.; HURMOGLU, C.;TUNCTAN, B.;ABACIOLGLO, N.; KANZIK, I.; SENER, B.; Hypoglycemic effect of *Momordica charantia* extracts in normoglycemic or cyproheptadine-induced hiperglycemic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.44, p. 117-121,1994.

CALIXTO, J. B. Fitofármacos no Brasil : agora ou nunca!. **Ciência Hoje**, v.21, p. 26-30, 1996.

CAPASSO, R., IZZO, A .A., PINTO, L., BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. Phytotherapy and quality of herbal medicines. **Fitoterapia**, v. 71, p.558-565, 2000.

CARVALHO, W. A - Analgésicos, Antipiréticos e Antiinflamatórios, IN: Silva P **Farmacologia**. 6ª Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

CHANDRASEKAR, B.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE,, S.K. Blood sugar lowerung potentiality of selectes Cucurbitaceae plants of India origin. **Indian Journal of Medical Researche**, v. 90, p. 300-305, 1989.

CHANDRASEKHARAN NV, DAI H, ROOS KL, EVANSON NK, TOMSIK J, ELTON TS, SIMMONS DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proctology National Academy Science** , v. 15, n.99, p.13926-31 ,2002.

CHANG, F. K. I., YUNG, W. K. Peptic-ulcer disease. **The Lancet**, v. 360, n. 21, 2002.

CHIAMPANICHAYAKUL, S.; KATAOKA, K.; ARIMUCHI, H.; THUMVIJIT, S.; KUWAHARA,T.; OHNISHI,Y. Inhibitory effects of bitter melon (*Momordica charantia*) on bacterial mutogenesis and aberrant crypt focus formation in rat colon. **The journal of medical Investigation**, v.48, p.88-96, 2001.

CHIFUNDERA, K. Contribution to the inventory of medicinal plants from the Bushi area, South Kivu Province, Democratic Republic of Congo. **Fitoterapia**, v. 72, p. 351-368, 2001.

CHOITSU, S. Roles of COX-1 and COX-2 in gastrointestinal pathophysiology. **Journal of Gastroenterology**, v. 33, p. 618-624, 1998.

COELHO, B.M.P., IKESAKI, J.Y.H., SIMÕES, D.M.N., KANAYAMA, L.M., GUERRA, J.L., KOGIKA, M.M. Insuficiência renal crônica em cães jovens: Estudo clínico de 25 casos. **Clínica Veterinária**, v. 33, p. 52-56, 2001.

CONCEIÇÃO, M. **As plantas medicinais do ano 2000**. 2ª Ed. São Paulo, TAO LTDA., p. 97-98. 1982.

CORUZZI, G., MENOZZI, A, DOBRILLA, G. Novel Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: What we have Learned from Animal Studies. **Current Drug Targets-Inflammation & Allergy**, v.3, p. 43-61, 2004.

COSTA, M. A., ANDRADA, C. L. L., VIEIRA, R. F., SAMPAIO, F. C. **Plantas & Saúde: guia introdutório à fitoterapia**. Brasília: Governo do Distrito Federal, 88p. 1992.

CRAWFORD, L.J. COX-1 and COX-2 tissue expression: implications and predictions. **Journal of Rheumatology**, v.49 (Suppl. 24), p. 15-19, 2000.

CRYER B, DUBOIS A - The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase. A review. **Prostaglandins**, v.56, p.341-361, 1998.

DAY, C.; CARTWRIGTH, T.; PROVOST, J.; BAILEY, C. J.; KARUNANAYAKE, E. H.; SIRIMANNE, S. R.; SINNADORAI, G. Oral hypoglycemic activity of some medicinal plants of Sri Lanka. **Journal of Ethnopharmacology**, v 11, p.223-231, 1984.

DOIG, P.A., PURBRICK, K.A., HARE, J.E., MCKEOWN, D.B. Clinical efficacy and tolerance of meloxicam in dogs with chronic osteoarthritis **Canadian Veterinary Journal**, v. 41, p.296-300,

2000.

DONNELLY, M.T., HAWKEY, C.J. Review article: COX-II inhibitors - a new generation of safer NSAIDs? *Pharmacology and Therapeutic*, v. 11, p. 227-236, 1997.

DUN, D.H., EISENBER, M. M. Anatomia aplicada e anomalias do estômago. *Bokus Gastroenterologia*, São Paulo:W. B Saunders, v.1, cap,61,p.223-247,1991.

DUTTA, P. K.; CHAKRAVARTY, A K., CHAUDHRY, U. S. **Indian Journal Chemistry**. v. 20 , p. 669.1981.

ELLEN, M. Uso y abuso de los glucocorticoides en la clínica veterinaria. **Waltham Focus**, v.9, p. 26-31, 1999.

ENGELHARDT, G., BOGEL, R., SCHNITZER, C., UTZMANN, R. Meloxicam: influence on arachidonic acid metabolism. Part II. *In vivo* findings. *Biochemical Pharmacology*, v. 51, p. 29-38, 1996c.

ENGELHARDT, G., BOGEL, R., SCHINITZER, C., UTZMANN, R. Meloxicam: influence on arachidonic acid metabolism. Part 1. *In vitro* findings. **Biochemistry and Pharmacology**, v. 51, p. 21-28, 1996d.

FELDMAN, M & McMAHON, A. T. Do Cyclooxygenase-2 Inhibitors Provide Benefits Similar to Those of Traditional Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, with Less Gastrointestinal Toxicity?. **Annuary International Medicine**, v.132, p.134-143, 2000.

FERNANDES, A. **Noções de plantas tóxicas e toxicologia**. 2ª ed. Gráfica Jornal o Povo. Fortaleza-Ce, 1987.

FORSELL, H. Gastric mucosal defense mechanisms. A brief review. **Journal of Gastroenterology**, p. 23-28, 1988.

FORSYTH, S.F., GUILFORD, W.G., HASLETT, S.J., GODFREY, J. Endoscopy of the gastroduodenal mucosa after carprofen, meloxicam and ketoprofen administration in dogs.

Journal Small Animal Practice, v.39, p. 421-424, 1998.

FROLICH, J.C. A classification of NSAIDs according to the relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes, **TIPS**, v. 8, p. 30-34, 1997.

GANGULY, C.; DE, S.; DAS, S. Prevention of carcinogen-induced mouse skin papilloma by whole fruit aqueous extract of *Momordica charantia*. **European Journal of cancer Prevention**, v.9, p.283-288, 2000.

GETTY, R. **Anatomia os animais domésticos**. Guanabara Koogan. 5ª ed., v.1, 1986.

GIRÃO, E. S., CARVALHO, J. H., LOPES, A. S., MEDEIROS, L. P.; GIRÃO, R. N. Avaliação de plantas medicinais com efeito anti-helmíntico para caprinos. **EMBRAPA**, p. 9, 1998.

GLASER, K.B. Cyclooxygenase selectivity and NSAIDs: Cyclooxygenase-2 selectivity of etodolac (Lodine). **Inflammopharmacology**, v.3, p. 335-345, 1995.

GUILFORD, W. G. Upper gastrointestinal endoscopy. **Veterinary Clinical North American of Small Animal Practice**, v. 20, p. 1209-1228, 1990.

GUILFORD, W. G., STROMBECK, D. R. Gastric structure and function. In: GUILFORD, W. G.; CENTER, S. A.; STROMBECK, D. R.; WILLIAMS, D. A.; MEYER, D. J. **Strombeck's : Small Animal Gastroenterology**. 3. ed., Philadelphia, 1996, cap. 12, p. 239-260.

GOEL, R.K, BHATTACHARYA, S.K. Gastroduodenal mucosal defense and mucosal protective agents. **Indian Journal of Experimental Biology**. v.29, p.701-714, 1991.

GROVER, J. K.; YADAV, S.; VATS, V. Medical plants of India with anti-diabetic potential. **Journal of ethnopharmacology**, v.81. p. 81-100, 2002.

GROVER, J.K., YADAV, S.P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p.123-132, 2004

GURBUZ, I.; AKYUZ, C.; SENER, B. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v.71, p. 77-82, 2000.

GURBUZ, I., OZKAN, A M., YESILADA,E., KUTSAL,O. Anti-ulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of Pinarbasi (Kayseri, Turkey). **Journal of ethnopharmacology**, v.101, p. 313-318, 2005.

HAMMOND, J. A., FIELDING, D. & BISHOP, S. C. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. **Veterinary Research Communication**,. v, 21, p.213-228, 1997.

HIRSCHMANN, G.S., YESILADA, E. Traditional medicine and gastroprotective crude drugs. **Journal of ethnopharmacology**, v.100, p.61-66, 2005.

HUNG, C. R. Experimental antral ulcer and several protective drugs. **Inflammopharmacology**, v. 10, n.4-6, p. 375-384, 2000.

HUNG, C. R. Experimental antral ulcer and several protective drugs. *Inflammopharmacology*, v. 10, n.4-6, p. 375-384 , 2002..

JANEWAY CA, TRAVERS P, WALPORT M et al. Immunobiology.**The Immune System in Health and Disease**, 5th Ed, New York, Garland Publishing/Churchill Livingstone, 2001.

JAYASOORIYA, P.; SAKONA, M.; YUKIZAKI, C.; KAWANO, M.; YAKAMOTO, K.; FUKUDA, N. Effects of *Momordica charantia* powder on serum glucose levels and various lipid parameters in rats fed with cholesterol-free and cholesterol-enriched diets. **Journal of ethnopharmacology**, v. 72, p. 331-336, 2000.

JERGENS, A. E. et al. Cardiopulmonary responses in healthy dogs during endoscopic examination of the gastrointestinal tract. **American Journal Veterinary Research**, v.2, p. 215-220, 1995.

JIRATCHARIYAKUL, W.; WIWAT, C.; VONGSAKUL, M.; SOMANABANDHU, A .; LEELAMANIT, W.; FUJII, I.; SUWANNAROJ, N.; EBIZUCA, Y. HIV inhibitor from Thai bitter gourd. **Planta medica**, v. 67, p. 350-353, 2001.

JOHNSTON, S.A., BUDSBERG, S.C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids for the management of canine osteoarthritis. **Veterinary Clinical North American of Small Animal Practice**, v.27, p. 841-862, 1997.

JORGE, L. I. F., SAKUMA, A. M. & INOMATA, E. I. Análise histológica e bioquímica de *Momordica charantia* L. (Melão de São Caetano). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.52, p. 23-26, 1992.

KARUNANAYAKE, E. H.; WELIHINDA, J.; SIRIMANNE, S.R., SINNADORAI, G. Oral hypoglycemic activity of some medicinal plants of Sri Lanka, **Journal of Ethnopharmacology**, v.11. p. 223-231, 1984.

KALGUTKAR, A.S., CREWS, B.C., ROWLINSON, S.W., MARNETT, A.B., KOZAK, K.R., REMMEL, R.P., MARNETT, L.J. Biochemically based design of cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors: facile conversion of nonsteroidal antiinflammatory drugs to potent and highly selective COX-2 inhibitors. **Proctology National Academic Science**, v.97, p. 925-930,1999.

KHAN, K.N., VENTURINI, C.M., BUNCH, R.T., BRASSARD, J.A., KOKI, A.T., MORRIS, D.L., TRUMP, B.F., MAZIASZ, T.J., ALDEN, C.L. Interspecies differences in renal localization of cyclooxygenase isoforms: implications in nonsteroidal antiinflammatory drug-related nephrotoxicity. **Toxicology and Pathology**, v.26, p.612-620, 1988.

KONTUREK, S.J. Physiology and pharmacology of prostaglandin. **Digestive Disease Science**, v.31p. 6-19, 1986. TEM 1981.

KONTUREK, S.J., PIASTUKI, I., BRZOZOWSKI, T. Role of prostaglandins in the formation of aspirin-induced gastric ulcers. **Gastroenterology**, v.80, p.4-9, 1981.

KORE, A.M. Toxicology of nonsteroidal antiinflammatory drugs. **Veterinary Clinical of North American Small Animal Practice**, v.20, p. 419-430, 1990.

KULKARNI SK, JAIN NK, SINGH A Cyclooxygenase isoenzymes and newer therapeutic potential for selective COX-2 inhibitors. **Methods Finding Experimental Clinical**

Pharmacology; v.22, p.291-298, 2000.

LAL, J.; CHANDRA, S.; RAVIPRAKASH, V.; SABIR, M.. *In vitro* anti-helminthic action of some indigenous medicinal plants on *Ascaridia galli* worms. **Indian Journal Physiology and Pharmacology**, v.20, p.64-68, 1976.

LAPA, A, J., SOUCAR, C., LANDMAN, M.T.R., CASTRO, M.S., LIMA, C.M. Métodos de avaliação farmacológica de plantas medicinais. **Sociedade Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 30, 2003.

LEE, D.K.; KIM,B.; LEE, S.G.; GWON, H.J.; MOON, .Y.; HWANG,H.S. Momordins inhibit both AP-1 function and cell proliferation. **Anticancer Research**, v.18. P.119-124, 2000.

LEE, H.T., SEO, E.K., CHUNG, .S.J., SHIM, C.K. Prokinetic activity of na aqueous extract from dried immature fruit of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, p. 131-136, 2005a.

LEICONDRÉ, P. Atlas de endoscopia gastrointestinal en perros y gatos. **Waltham Focus**, v,9, p. 2-9, 1999.

LEITE, K. L., LEITE, A.K.R.M, BRAGA, L. T., FARIAS, V. M., NUNES-PINHEIRO, D.C.S. Efeito protetor do extrato etanólico de *Momordica charantia* L. e *Lippia sidoides* contra lesões gástricas induzidas experimentalmente. **Ciência Animal** , 2002.

LEITE, K. L. Atividade gastroprotetora de *Momordica charantia* em modelos experimentais *in vivo*. **Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Ciências veterinárias, Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza, Ceará, Brasil, 2004.

LI , Y., MATSUDA, j., YOSHIKAWA, M. Acceleration of gastrointestinal transit by momordin Ic in mice: possible involvement of 5-hydroxytryptamine, 5-HT(2) receptors and prostaglandins. **European Journal of Pharmacology**, v.24, p.71-77, 2000.

Li M., SOLDATO P., and WALLACE, J.L. Divergent effects of new cyclooxygenase inhibitors on gastric ulcer healing: Shifting the angiogenic balance. **Proctology National Academic Science**,

v.99, p. 13243-13247, 2002.

LICHTENSTEIN, D.R.; SYNGAL, S.; WOLFE, M.M. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract: The double-edged sword. **Arthritis Rheumatology**, v. 38, p. 5-18, 1995.

LOBETTI, R.G., JOUBERT, K.E. Effect of administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs before surgery on renal function in clinically normal dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 61, p.1501-1507, 2000.

MAGALHÃES, A. F. N., CARVALHAES, E. Técnicas endoscópicas para a detecção de “*Helicobacter pylori*”. In: CORDEIRO, F. T. M.; MAGALHÃES, A. F. N. (Eds.) **Endoscopia digestiva: sociedade brasileira de endoscopia digestiva**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2000, p. 48-50.

McCARTHY, C. J., CROFFORD, L. J., GREENSON, J.. Cyclooxygenase-2 expression in gastric antral mucosa before and after eradication of *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterology**, v.94, p. 1218-1223,, 1999.

MARQUESI, N. R. & MOREIRA, E. A. Plantas usadas como medicinais pelos índios do Paraná e Santa Catarina, Sul do Brasil. Guarani, Kaingang, Xokleng, Ava-guari, Kraô e Cayuá. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.77, p.126-131, 1996.

MARNETT, L.J., KALGUTKAR, A.S. Cyclooxygenase 2 inhibitors: discovery, selectivity and the future. **TIPS**, v.20, p. 465-469, 1999.

MATOS, F. J. A. A validação de novas drogas e plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v. 76, p. 90,1995.

MATOS, F. J. A. **Introdução a Fitoquímica Experimental** –2ª Ed. Edições UFC. 141p. 1997.

MATSUDA, H., LI, Y.; YAMAHARA, J.; YOSHIKAWA, M. Inhibition of gastric emptying by triterpene saponin, momordin Ic, in mice: Roles of blood glucose, capsaicin-sensitive sensory nerves, and central nervous system. **The journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 289. p. 729-734, 1998.

MURAKAMI, M.; LAM. S. K.; INADA. M.; MIZAK, T. Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermic restraint in rats. **Gastroenterology**. v. 88, p. 660-665, 1985.

MURAKAMI, T.; EMOTO, A; MATSUDA, H.; YOSHIKAMA, M. Medicinal foodstuffs.XXI. Structures of new cucurbitane-type triterpene glycosides, goyaglycosides a, b, c, d, e ,f and new oleanone-type triterpene saponins, goyasaponins I, II and III, from the fresh fruit of Japanese *Momordica charantia*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin** v. 49.p. 54-63, 1999.

NASEEM, M.Z.; PATIL, S.R.; RAVINDRA; PATIL, R.S. Antispermatic and androgenic activities of *Momordica charantia* (KARELA) in albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.61 p.9-16, 1998.

NEWCOMBE, D.S. Leucotrienes: regulation of biosynthesis, metabolism, and bioactivity. **Journal of Clinical Pharmacology**, v.28, p. 530-549, 1988.

NOGUCHI, R.; SUZUKI, Y.; HOSOKAWA, M.; FUKUNAGA, K.; MIYASHITA, K. Dietary effects of bitter melon oil on blood and liver lipids of rats. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 396. P.207-212, 2001.

NOGUEIRA, C. M. D.; MORAIS, N. M. T.; LOPES, M. F. G.; SÁ, M. J. H. C. Análises químicas em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacologia**. v. 77, p.5-6, 1996.

OKABE, S AND PFEIFFER, C.J. Chronicity of acetic acid ulcer in the rat stomach. **American Journal of Digestive Diseases**, v.17, p. 619-629, 1972.

PANARA MR, RENDA G, SCIULLI MG et al. Dose-dependent inhibition of platelet cyclooxygenase-1 and monocyte cyclooxygenase-2 by meloxicam in healthy subjects. **Journal of Pharmacology Experimental**, v. 290, p. 276-280, 1999.

PAPICH, M.G. Principles of analgesic drug therapy. *Veterinary Medical Surgery*, v.12, p. 80-93, 1997.

PLATEL, K.; SHURPALEKAR, K. S.; SRINIVASAN, K. Influence of bitter melon (*Momordica*

charantia) on growth and blood constituents in albino rats. **Diet Nahrung**, v. 37. p. 156-160, 1993.

PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Efect of dietary intake of freeze-dried bitter gourd (*Momordica charantia*) in streptozotocin induced diabetic rats. **Diet Nahrung**, v. 39, p.262-268, 1995.

RAINSFORD, K.D., STESKO, P. I., SIRKO, S.P., DEBESKI, S. Gastrointestinal mucosal injury folling repeated daily oral administration of convencional formulations of indometacina and other non-steroidal anti-infammatory drugs to pigs: a model for human gastrointestinal disease. **Journal Pharmacy and Pharmacology**, v.55, p.661-668, 2003.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M. Anti-inflammatory and immunosuppressant drugs. IN: RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., **Pharmacology**. New York: Churchill Livingstone, 3th ed., 246-266, 1996b.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M. Local hormones, inflammation and allergy. IN: RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., **Pharmacology**. New York: Churchill Livingstone, 3th ed., 214-245, 1996a.

RATES, S.M.K. plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p.603-613, 2001.

RICKETTS, A.P., LUNDY, K.M., SEIBEL, S.B. Evaluation of selective inhibition of canine cyclooxygenase 1 and 2 by carprofen and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **American Journal Veterinary Research**, v.59, p. 1441-1446, 1998.

ROCHA, M.F.G. Avanços na Terapia Antiinflamatória Não-Esteróide em Cães e Gatos. **Ciência Animal**, n.11(suplem. 1), p. 55-59, 2001.

SATOH, H., UNADA, I., HIRATAT. Indometacin produces gastric antral ulcers in the refed rat. **Gastroenterology**, v. 81.p.719-725, 1981.

SHIBIB, B. A., KHAN, L. A., RAHMAN, R. Hypoglycemic activity of *Coccinia indica* and *Momordica charantia* in diabetic rats: depression of the hepatic gluconeogenic enzymes

glucose-6-phosphatase and fructose-1,6bisphosphatase and elevation of both liver and red-cell shunt enzyme glucose-6-phosphatase dehydrogenase. **Biochemistry Journal**, v. 292, p. 267-270, 1993.

SILVEIRA, J. M. Bioquímica Clínica. IN: SILVEIRA, J. M. **Patologia Clínica Veterinária: Teoria e Interpretação**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara. S.A, 1ª ed., 86-97, 1988.

SILVESTEIN, F. E., TYTIGAT, G. N. J. O trato gastrointestinal normal. In: **Endoscopia gastrotintestinal**. Rio de Janeiro: Revinter, p. 1-26, 1998.

SIMPSON, K. et al. The relationship of *Helicobacter ssp* infection to gastric disease in dogs and cats. **J. Vet. Intern. Med.**, Hagerstown, v. 14, p. 223-227, 2000.

SPINOSA, H. S., GÓRNIK, S. L., BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada á medicina veterinária**. Guanabara Koogan, 2ª ed., Rio de Janeiro, 1999.

SRIVASTAVA, Y., VENKATAKRISHNA, H., VERMA, Y. Efecct of *Momordica charantia* Linn. Pomus aqueous extract on cataractomogêneseis in murrin alloxan diabetics. **Pharmacology Research and Communication**. v. 20 , p.201-209, 1988.

TANAKA, A., ARAKI, H., KOMOIKE, Y., HASE, S., TAKEUCHI, K. Inhibition of both COX-1 and COX-2 is required for development of gastric damage in response to nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Journal of Physiology*, v.95, p.21-27, 2001.

TASAKA, A.C. Antiinflamatórios não-esteroidais. IN: SPINOSA, H.S., GORNIK, S.L., BERNARDI, M.M., *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2ª ed., p. 212-226, 1999.

VANE, J. R. NSAIDs, COX-2 inhibitors, and the gut. **Lancet**, v.346, p. 1105-1106, 1995.

VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature**, v.231, p. 232-235, 1971.

VANE, J.R and BOTTING, R.M. New insights into the model of action of anti-inflammatory drugs. **Inflammation Research**, v.44, p. 01-10, 1995.

VIEIRA, L. S. , CAVALCANTE, A. C. R., PEREIRA, M. F., DANTAS, L. B., XIMENES, L. J. F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará State, North-east Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. **Revue Médecine Vétérinaire**, v.150, p.447-452, 1999.

VIKRANT, V.; GROVER, J. K.; TANDON, N. RATHI, S. S.; GUPTA, N. Treatment with extracts of *Momordica charantia* and *Eugenia jambolana* prevents hyperglycemia and hyperinsulinemia in fructose fed rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p.139-143, 2001.

VILLEGAS, I.,LASTRA, C.A. CASA, C.L., MOTILVA,V., MARTÍN, M.J. Effects of food intake and oxidative stress on intestinal lesions caused by meloxicam and piroxicam in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 414, p.79-86, 2001.

VILLEGAS, I.,LASTRA, C.A. CASA, C.L., MOTILVA,V., MARTÍN, M.J. Mucosal damage induced by preferential COX1 and COX-2 inhibitors: Role of prostaglandins and inflammatory response. **Life Science**, v. 74, p. 873-884, 2004.

WALLACE, J.L. Prostaglandin, DAINES and citoprotection. **Clinical Gastroenterology of American**, v.3, p.615-624, 1994.

WALLACE, M. C.; ZAWIE, D. A.; GARVEY, M. S. Gastric ulceration in the dog secondary to the use of nonsteroidal antiinflammatory drugs. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, Denver West, v. 26, p. 467-472, 1999.

WALLACE, J. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. **Best Praction & Research Clinical Gastroenterology**, v.15, n.5, p.691-703, 2001.

WILLIAMS CS, SMALLEY W, DUBOIS RN - Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention. **Journal of Clinical Investigation**, v.100, p.1325-1329, 1997.

WOLFE, M. M.; SOLL, A.H. The physiology of gastric acid secretion. **N. Engl. Journal Medical**, v. 319, p. 1707-1715, 1988

WU GD - A nuclear receptor to prevent colon cancer. **N Engl Journal Medical**, v.342, p.651-653, 2000.

YAKOTONI, K. Muscarinic M₃ receptors: mediated release of gastrin from canine antral G cells in primary culture. **Digestion**, v.56, p.31-34, 1995.

YESILADA, E., GURBUZ, I., SHIBATA, H. traditional medicine in Turkey IX: folk medicine in north-west Anatolia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p. 199-206, 1999^a.

ZAFAR, R.; NEERJA. Momordica charantia – a review. **Hamdard Medical**, v.34. p.49-61, 1991.

ZATERKA et al. Fisiopatologia da secreção gástrica. In: DANI, R.; CASTRO, L. de. **Gastroenterologia clínica**. 2. ed., Rio de Janeiro: Guanabara, 1988, cap. 34, p. 469-479.

ZHENG, Y. T.; BEM, K. L.; JIN, S. W. Alpha-momorcarin inhibits HIV-1 replication in acutely but not chronically infected T-lymphocytes. **Acta Pharmacologica Sinica**. v. 20, p.239-243, 1999.

ZONG, R.; MORRIS, L.; CANTWELL, M. Postharvest physiology and quality of bitter melon (*Momordica charantia* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v.6. p.65-72, 1995.

ZORAN, D. L. Gastrodiendoscopy in dog and cat. **Veterinary Clinical North American of Small Animal Practice**, v. 31, n. 4, p. 631-657, 2001.

ANEXOS

ARTIGO A SER SUBMETIDO

**Lesões gástricas em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza,
Ceará**

Gastric lesions in houseless dogs at the city of Fortaleza, Ceará

ALENCAR* M. M., A. NUNES-PINHEIRO, D.C.S., GIRÃO, M.D., JATÁI, I.

Lesões gástricas em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza, Ceará

Gastric lesions in houseless dogs at the city of Fortaleza, Ceará

ALENCAR*, M. M. A., NUNES-PINHEIRO, D.C.S., GIRÃO, M.D., JATÁI, I.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

Faculdade de Veterinária / Universidade Estadual do Ceará

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a presença de lesões gástricas em cães errantes da cidade de Fortaleza. Foram utilizados 257 cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses, entre outubro e novembro de 2004. Os estômagos foram removidos, abertos ao longo da curvatura maior, lavados, enxugados e avaliados macroscopicamente. As lesões gástricas foram agrupadas de acordo com a localização anatômica. Os resultados demonstraram que 24,51% dos animais apresentavam lesões gástricas, sendo 26,9% machos e 23,5% fêmeas, localizadas no corpo (51%), antro (19%) e fundo (8%) do estômago. As úlceras gástricas (15,5%) e as petéquias (5,7 %) foram as lesões mais freqüentes. Conclui-se que as gastropatias são bastante comuns em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza e devem ser consideradas de importância clínica e epidemiológica, embora de causas desconhecidas.

Unitermos: cães não domiciliados, lesões gástricas, avaliação macroscópica.

Abstract

The objective of the present study was to evaluate the presence of gastric lesions in dogs of the city of Fortaleza, Ceará, Brazil. It was utilized 257 dogs coming from the Canil of Zoonosis Center, between October and November 2004. The stomachs were removed, opened of the greater curvature, washed, dried and evaluated macroscopically. The gastric lesions were set according to the anatomic localization. The results demonstrated that 24,51% of the animals presented gastric lesions, 26,9% males and 23,5% females, localized at the body (51%), the antrum (19%) and the fundus (8%) regions of stomach. The gastric ulcers (15,5%) and the

petechiaes (5,7%) were the lesions more frequent. The gastropathies are common in houseless dogs at city of Fortaleza and can be considered of clinical and epidemiological importance although of cause unknown.

Keywords: houseless dogs, gastric lesions, macroscopical evaluation.

Introdução

As patologias gástricas em cães são freqüentes na clínica médica veterinária, sendo a gastrite aguda, gastrite crônica por *Helicobacter* spp, gastrite por corpo estranho e ulcerações gástricas as mais comuns. A gastrite atrófica e as neoplasias gástricas não são freqüentes nesta espécie. As gastrites e ulcerações gástricas estão associadas a várias alterações sistêmicas^{13,18}. O estresse é um fator importante no desenvolvimento destas patologias em cães e, conseqüentemente, animais internados, confinados em espaço limitado e debilitados são altamente susceptíveis a desenvolverem úlceras gástricas e gastrite aguda. Outro fator fortemente associado à etiologia das gastropatias nesta espécie inclui a utilização de drogas antiinflamatórias não esteróides (DAINEs).^{1,12,15}

As lesões gástricas ocorrem pela incapacidade da barreira mucosa gástrica em se proteger, não apenas do ácido gástrico normal, mas também de ácidos gástricos biliares e outras substâncias lesivas. A presença e grau de lesão à mucosa parecem ser determinados quando existe desequilíbrio entre os fatores agressivos (secreção ácida) e protetores (mucosa gástrica). Portanto, qualquer agente que possa estimular a liberação de fatores protetores pela mucosa gástrica, tais como secreção de bicarbonato e muco, aumento do fluxo sangüíneo, aceleração da proliferação de células mucosas, aumento de monosfato cíclico de adenosina (cAMP), formação de fosfolípeos, dentre outros, poderá ser considerado agente citoprotetor⁷. Vários sinais clínicos estão associados a estas patologias, como anorexia, náuseas, perda de peso, polidipsia e melena. O diagnóstico das patologias gástricas é realizado através do histórico, exame físico, radiografias simples e contrastada, endoscopia, biópsia e exame histopatológico.^{7,18}

Embora extremamente comuns e ocorrendo em todas as fases da vida do animal, não há, no Ceará, relatos ou levantamentos sobre a prevalência de lesões gástricas em cães. Considerando a importância clínica e epidemiológica dessas

afecções, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a presença lesões gástricas em cães errantes da cidade de Fortaleza.

Material e métodos

Animais

Os cães sem raça definida (SRD) foram apreendidos em diversos bairros da cidade de Fortaleza, Ceará, pela equipe de captura do canil do Centro de Zoonoses. Após a captura, os cães permaneceram em canis comunitários por um período de aproximadamente uma semana, sendo posteriormente destinados ao procedimento de eutanásia. O canil do Centro de Zoonoses da cidade de Fortaleza captura por mês, cerca de 1.200 cães errantes nos diferentes bairros da cidade.

Esta investigação foi conduzida durante os meses de outubro e novembro de 2004 e foram utilizados 257 cães, sendo 153 machos e 104 fêmeas. Os cães foram fornecidos para o estudo à medida que iam sendo sacrificados pelos profissionais do canil, não havendo interferência por parte dos pesquisadores. Cerca de 20 animais foram eutanasiados e necropsiados aleatoriamente a cada visita ao canil. Para o procedimento de eutanásia foi utilizado tiopental sódico (25 mg/kg/pv), seguido de cloreto de potássio, ambos por via endovenosa.

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Estadual do Ceará.

Avaliação Macroscópica

Os animais destinados ao estudo foram encaminhados à sala de necrópsia, onde, procedeu-se à abertura da cavidade abdominal com o auxílio de bisturi e tesoura. Os estômagos foram removidos e abertos ao longo de sua curvatura maior, lavados em água corrente, enxugados e avaliados quanto à presença de lesões. A avaliação macroscópica baseou-se principalmente na observação dos seguintes achados: alteração na coloração da mucosa, presença de edema, perda de pregueamento, presença de nódulos, hemorragias, petéquias hemorrágicas e lesões superficiais ou profundas na mucosa. As lesões gástricas foram agrupadas de acordo com a sua localização anatômica nas regiões cárdia, corpo, fundo, antro e piloro.

Análise estatística

O cálculo da amostra foi baseado em estudo de YAMASAKI et al²² que observaram prevalência de 20% para gastrites. A precisão absoluta e intervalo de confiança foram de 5%¹⁷.

Resultados

Na avaliação macroscópica da mucosa gástrica dos 257 cães observou-se a presença de lesões em 63 animais, representando 24,51%. Levando-se em consideração o sexo, 26,9% dos machos apresentaram gastropatias, enquanto que as fêmeas representaram 23,5% (Tab. 1).

A localização mais freqüente das lesões foi na região do corpo (51%), seguida pela região antral (19%) e fundo do estômago (8%) (Tab. 2). Não foram encontradas lesões na região pilórica. Estas lesões apresentaram-se de formas diversificadas, porém as úlceras gástricas (Fig.1) e as petéquias (Fig.2) foram as lesões mais encontradas, com percentuais de 15,5% (n= 21) e 5,7 % (n= 15), respectivamente. Outras alterações foram observadas, tais como: coloração alterada da mucosa (2,3%); perda de pregas da mucosa (0,3%, Fig. 2); descamação de mucosa (0,7%); hemorragias (1,1%,); nódulos (2,7%,) e lacerações (1,5%) (Tab. 3).

Discussão

As patologias gástricas possuem alta prevalência em cães e são induzidas por vários fatores: indiscrições alimentares, infecções bacterianas e virais, parasitos, drogas antiinflamatórios esteróides e DAINes, produtos químicos, neoplasias ou doenças paraneoplásicas, doenças metabólicas e estresse.¹⁹

Em 25% dos cães foi verificada a existência de algum tipo de gastropatia, independente do sexo. Corroborando com os resultados encontrados pelo presente trabalho, YAMASAKI et al.²², utilizando a técnica de endoscopia, encontraram prevalência de 20% de lesões gástricas em cães clinicamente saudáveis e 25% dos cães com doença primária gastrintestinal. Neste trabalho, as lesões, em sua maioria, estavam localizadas na região do corpo do estômago, podendo estar associadas com as células parietais que secretam pepsina e ácido clorídrico.

Embora sejam escassas as referências a este tipo de prevalência na literatura, é sabido que as gastropatias são mais comuns do que é relatado, podendo resultar de qualquer condição que cause um desequilíbrio entre os mecanismos de defesa da mucosa⁶. Dentre os fatores que podem ocasionar um desequilíbrio nos mecanismos de defesa da mucosa, a privação alimentar por um longo período é importante, uma vez que acarreta uma maior produção de ácido gástrico e, favorece o aparecimento de lesões gástricas⁷. Este pode ser um dos fatores que contribuiu para o elevado índice de lesões gástricas encontradas nos animais não domiciliados.

O estresse é outro fator importante no desenvolvimento de lesões gástricas, pois contribui para o aumento da liberação de ácido e pepsina, decréscimo na secreção do muco, alteração nos esteróides e catecolaminas, hipotensão seguida por dano isquêmico na mucosa gástrica e alterações na síntese de prostaglandinas. Alguns destes eventos são controlados pelo sistema nervoso central^{8, 11, 12, 15, 21, 23}. WILLARD et al.²³, utilizando a investigação endoscópica, relataram que 48,5% dos cães que participavam de corridas apresentavam gastrite, ulceração, erosão ou hemorragia. Estas lesões foram verificadas após cinco dias do início das competições, demonstrando a importância do estresse na etiologia das gastropatias nessa espécie.

As úlceras foram às lesões encontradas com mais frequência (15,5%), acometendo 21 cães. A ulceração gástrica na espécie canina parece ser muito mais comum do que se supunha antes do uso amplo da endoscopia como ferramenta de investigação direta da mucosa gástrica¹⁰. As lesões ulcerativas são consideradas benignas, ocorrendo no local em que o epitélio da mucosa foi exposto a ação do ácido gástrico e da pepsina. O excesso de produção de ácido gástrico ou um defeito na função da barreira mucosa pode causar uma falência nos mecanismos de defesa, resultando no aparecimento de ulcerações^{9, 16}. Estas lesões são raramente primárias, podendo refletir uma variedade de etiologias, tais como: enfermidades sistêmicas, estresse, uso de medicamentos ulcerogênicos, particularmente as DAINEs, radicais livres derivados do oxigênio e presença de *Helicobacter pylori*^{4, 14, 20}.

Embora este trabalho não tenha tido por objetivo pesquisar a etiologia das gastropatias, pode-se supor que as lesões encontradas nos animais foram de

etiologia associada principalmente ao estresse, uma vez que, na sua maioria, estes cães não tinham domicílios, e após a apreensão passaram por um período de confinamento de aproximadamente uma semana. Vale salientar que durante esta fase, os cães permaneceram em canis comunitários, com superlotação e pouca oferta de alimentos.

Uma outra hipótese para a causa destas patologias seria a presença de bactérias do gênero *Helicobacter*. *H. pylori* tem sido investigada como possível causadora de gastrite e ulcerações em cães e gatos, assim como em humanos. Bactérias semelhantes a *Helicobacter* foram identificadas em diferentes estudos, com índice de variação entre 61 a 80% de cães com sintomas de vômitos e de 67 a 86% dos animais sadios^{3,5,17}.

Os resultados apresentados indicam a relevância do assunto pesquisado e a contribuição para os médicos veterinários que devem levar em consideração a possibilidade da presença de lesões gástricas em cães domiciliados, antes da indicação de tratamento que possa exacerbar danos à mucosa gástrica. Conclui-se que as gastropatias são freqüentes em cães não domiciliados na cidade de Fortaleza. Outros levantamentos devem ser realizados com a finalidade de contribuir para a Saúde pública.

Tabela 1 - Distribuição de lesões gástricas em cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses do município de Fortaleza, Ceará, nos meses de outubro e novembro de 2004.

Sexo	Lesões				Total
	Presença		Ausência		
	N	%	N	%	
Macho	38	61%	126	65%	165
Fêmea	25	39%	68	35%	90
Total	63	100%	194	100%	257

Tabela 2 - Localização das lesões gástricas em cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses do município de Fortaleza, Ceará.

Localização das lesões					
Sexo	Locais	Antro N°	Corpo N°	Fundo N°	Total N°
Macho		10	24	4	38
Fêmea		4	18	3	25
Total		14	42	7	63

Tabela 3 - Classificação macroscópica das lesões gástricas de cães oriundos do canil do Centro de Zoonoses do município de Fortaleza, Ceará.

	Macho	Fêmea	Total
Achados macroscópicos	N	N	N
Coloração alterada da mucosa gástrica	3	3	6
Perda de pregas da mucosa gástrica	1	0	1
Descamação da mucosa gástrica	2	0	2
Petéquias hemorrágicas	2	2	4
Petéquias	6	7	13
Hemorragia	1	2	3
Úlceras	15	6	21
Nódulos	5	3	8
Lacerações	3	2	5
Total	38	25	63

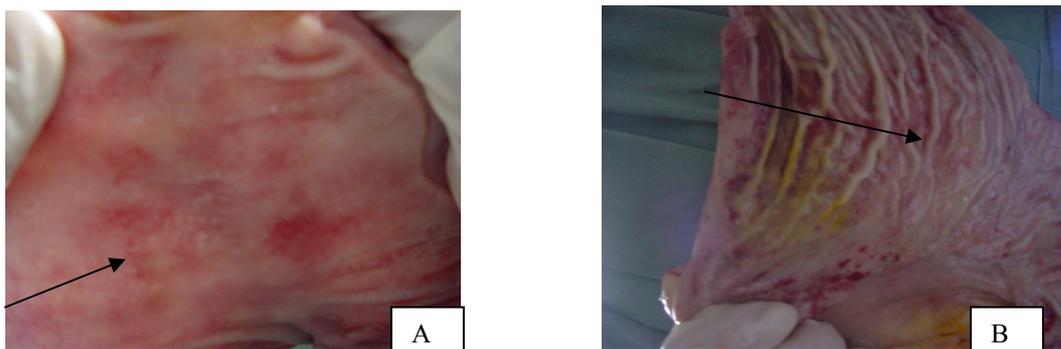


Fig 1 – Fotografia do estômago (cão), apresentado petéquias difusas no corpo (A) e perda do pregueamento da mucosa (B).

Fonte: Alencar 2004

Referências

- 01- ALENCAR, M. A. A.; PINTO, M. T.; OLIVEIRA, D. M.; PESSOA., A W. P.; CÂNDIDO, I. A ; VIRGÍNIO, C. G.; COELHO, H. S. M.; ROCHA, M. F. G. Margem de segurança do meloxicam em cães: efeitos deletérios nas células sangüíneas e trato gastrintestinal. **Ciência Rural**. v.33, p.525-532, 2003.
- 02- BOUSTA, D.; SOLIMANI, R.; JARMOUNI, I.; BELON, P.; FALLA, J.; FROMENT, N.; YOUNOS, C. Neutropic, immunological and effects of low doses of *Atropa belladonna L.*, *gelsemium sempervirens L.* and *poumon histamine* in streessed mice. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 74, p. 205-215, 2000.
- 03- CORNETTA, A., K. W.; SIMPSON, D.; STRAUSS-AYALI, P. L.; MCDONOUGH, AND R. D. GLEED. Use of a ¹³[C]-urea breath test for detection of gastric infection with *Helicobacter spp* in dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v. 59, p.1364-1369, 1998.
- 04- CRAWFORD, J. M. O trato Gastrintestinal. *In*: COTRAN, R. S., KUMAR,V., COLLINS, T. Robbins- **Patologia Estrutural e Funcional**. 6. ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2000. 1251p.

05- EATON, K. A., DEWHIRST, F. E., PASTER, B. J., TZELLAS, N., COLEMAN, B. E., PAOLA, J., SHERDING, R. Prevalence and varieties of *Helicobacter* species in dogs from random sources and pet dogs: animal and public health implications. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, p.3165-3170, 1996.

06- FELIX, W. L., MILLER, J. C., GUTH, P. H. Dissociated effects of Misoprostol on gastric acid secretion and Mucosal blood flow. **Digestive Diseases and Sciences**, v.31, p.86-90, 1986.

07- FORSELL, H. Gastric mucosal defense mechanisms: A brief review. **Journal of Gastroenterology**, v. 38, p. 23-28, 1988.

08- HERNANDES, D. E. Neuroendocrine mechanisms of stress ulceration: focus on thyrotropin-releasing hormone (TRH). **Life Sciences**. v.39, p. 279-296, 1986.

09 -KORE, A.M. Toxicology of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Veterinary Clinical North American of Small Animal Practice**, v. 20, p. 419-430, 1990.

10- LECOINDRE, P. Apport de l'endoscopie dans le diagnostic des affections de l'estomac du chien (115). **Pratique Medicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, v. 5, p. 471-477, 1994.

11 -LUDWIG-WILLIAM, M. D.; LIPKIS. M. Biochemical and cytological alterations in gastric mucosa of guinea pigs under restraint stress. **Gastroenterology**, v.56, p. 895-901,1969.

12 -MURAKAMI, M.; LAM. S. K.; INADA. M.; MIZAK, T. Pathophysiology and pathogenesis of acute gastric mucosal lesions after hypothermic restraint in rats. **Gastroenterology**, v. 88, p. 660-665, 1985.

13- PEACOCK, J. E. F. F. Serological Discrimination of Dogs Infected with Gastric *Helicobacter spp.* and Uninfected Dogs. **Journal of Clinical Microbiology**. v. 37, p. 1280-1287, 1999.

14- RAINSFORD, K. D.; STETSKO, P. I.; SIRKO, S. P.; DEBSKI, S. Gastrointestinal mucosal injury following repeated daily oral administration of conventional formulations of indometacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs to pigs: a model for human gastrointestinal disease. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 55, p. 661-668, 2003.

15- REDEI, E.; PARE, W. P.; AIRD, F.; KLUCZYNSKY, J. Strain differences in hypothalamic-pituitary adrenal activity and stress ulcer. **American Journal of Physiology**. v. 266, p.353-360, 1994.

16- SANYAL, A. K.; MITRA, P. K.; GOEL, R. K. A modified method to estimate dissolved mucous substances in gastric juice. **Indian Journal of Experimental Biology**. v.21, p.78-80, 1983.

17-STRAUSS A. D.; SIMPSON K. W.; SCHEIN A.H.; MCDONOUGH, P. L., JACOBSON, R. H.; BETH A.; THRUSFIELD, M. **Veterinary Epidemiology**. 2. ed., New York: Editora Blackwell,. p.82, 1997

18- SULLIVAN, M.; YOOL, D. A. Gastric diseases in the dog and cat. **Veterinary Journal**. v.156, p. 91-106, 1998.

19- TAMS, T. R. **Small animal endoscopy**. The CV Mosby Company, 1999. 417p.

20- VANISREE, A. J.; MITRA, K.; SHYAMALADEVI, C. S. Antiulcerogenic effect of UL-409 against experimentally induced gastric ulcer in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 28, p. 265-268, 1996.

21- YANO. S., HARADA, M. A method for the production of stress erosion in the mouse stomach and related pharmacological studies. **Japanese Journal of Pharmacology**, v. 23, p.57-64, 1973.

22- YAMASAKI, K., SUEMATSU, H., TAKAHASHI, T. Comparison of gastric lesions in dogs and cats with and without gastric spiral organisms. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 212, p. 529-33, 1998.

23- WILLARD, D. M. S.; NELSON, S. L.; MANDSAGER, R. E.; MCKIERNAN B. S.; MANSELL, J. K.; LEHENBAUER, T. W. Prevalence of gastric lesions in racing Alaskan sled dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.17, p.311-314, 2003.

Agradecimentos

A Dra. Teresa Neuma Albuquerque, Laboratório de Histologia/CCS/UECE, pelas relevantes sugestões na avaliação patológica.

Artigo aceito para publicação

**INFLAMAÇÃO E SUA MODULAÇÃO POR ANTINFLAMATÓRIOS NÃO ESTERÓIDES (AINES):
RISCOS E BENEFÍCIOS – REVISÃO**

Inflammation and its Modulation by NSAIDs: risks and benefits – review

ALENCAR, M.A A, NUNES-PINEIRO, D.C., ROCHA, M.F.G.

REVISTA CIÊNCIA ANIMAL, 2006.

**INFLAMAÇÃO E SUA MODULAÇÃO POR ANTINFLAMATÓRIOS NÃO ESTERÓIDES (AINES):
RISCOS E BENEFÍCIOS – REVISÃO**

Inflammation and its Modulation by NSAIDs: risks and benefits – review

ALENCAR, M.A .A, NUNES-PINHEIRO., ROCHA, M.F.G.

RESUMO

A inflamação é um processo dependente da interação de vários mediadores que, agindo em conjunto, induzem modificações morfológicas e funcionais peculiares ao processo, tais como eritema, rubor, edema, dor e perda da função. Dentre os mediadores da inflamação, em uso clínico, os anti-inflamatórios não esteróides (AINES) são mais específicos na inibição da síntese das prostaglandinas e, por conseguinte, causam e o diminuição do processo inflamatório. Estas drogas são bastante utilizadas na medicina veterinária e seu uso indiscriminado está associado a efeitos colaterais graves, principalmente relacionados ao trato gastrointestinal e sistema renal.. As DAINES constituem uma importante ferramenta farmacológica utilizada na rotina da clínica veterinária e o objetivo desta revisão foi chamar a atenção de se considerar os efeitos deletérios das DAINES ao se estabelecer um procedimento terapêutico.

Palavras-chave: Inflamação, DAINES, efeitos colaterais

ABSTRACT

Inflammation is a dependent interaction process of some mediators which, acting together, induce some peculiar morphologic and functional modifications to the process, such as: erythema, heat, oedema, pain and loss of the function. Amongst the inflammation mediators, regarding the clinical use, the NSAIDs are more specific in the inhibition of the prostaglandins synthesis. Therefore, they reduce the inflammatory process. These drugs are widely used in veterinary medicine and its indiscriminate use is associated to several collateral effects, which the ones related

with the gastrointestinal and renal systems are more prevalent. The NSAIDs constitute an important pharmacological tool in the veterinary medicine clinical routine and the objective of this review is to focus the importance of considering the deleterious effects of the NSAIDs in order to establish a therapeutical proceeding.

Key words: Inflammation, NSAIDs, collateral effects

INTRODUÇÃO

A inflamação é um processo dependente da interação de vários mediadores que, agindo em conjunto, induzem modificações morfológicas e funcionais peculiares ao processo, tais como eritema, rubor, edema, dor e perda da função. Esses mediadores pró-inflamatórios são tanto de origem tissular, como por exemplo, os eicosanóides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), fator de ativação plaquetária, aminas vaso ativas (histamina e serotonina), citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-8, TNF- α IFN- α), óxido nítrico, como de origem plasmática, aqui representados como os componentes do sistema complemento, sistema de coagulação, sistema fibrinolítico e pelas cininas (BOOTHE, 2001; ROCHA, 2001., CARVALHO et al, 2002).

Dentre os mediadores da inflamação, em uso clínico, os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) são mais específicos na inibição da síntese das prostaglandinas, e, por conseguinte, diminuindo o processo inflamatório. Estes fármacos são bastante utilizados em medicina veterinária e seu uso indiscriminado está associado a uma série de efeitos colaterais, estando a maioria deles relacionados ao trato gastrintestinal e sistema renal. Uma vez que os AINEs constituem uma ferramenta farmacológica importante na rotina clínica veterinária, esta revisão tem por objetivo atentar ao profissional quanto aos seus efeitos deletérios ao se estabelecer uma conduta terapêutica.

DESENVOLVIMENTO

Dentre os mediadores químicos da inflamação, os eicosanóides, em particular as prostaglandinas (PGs), têm um papel de destaque, uma vez que são o principal sítio de ação dos AINEs. Por conseguinte, será feita uma breve descrição desses mediadores pró-inflamatórios, enfocando sua biossíntese, principais ações biológicas e modulação farmacológica (CARVALHO et al, 2002), assim como uma breve revisão dos antiinflamatórios não esteróides.

Eicosanóides

Biossíntese

Os eicosanóides não estão localizados ou armazenados em compartimentos teciduais, ou seja, eles são prontamente produzidos a partir de fosfolipídios. Por conseguinte, sua liberação, por diferentes tipos celulares, reflete o aumento imediato na sua síntese, a partir de precursores de ácidos graxos disponíveis (TASAKA, 1999; BOOTHE, 2001).

O ácido araquidônico é um ácido graxo essencial, sendo incorporado por ligação éster a fosfolipídios de membranas celulares e pode estar contido em outros lipídios complexos, como os triglicerídios. Os fosfolipídios celulares liberam ácido araquidônico em resposta à enzima fosfolipase A_2 e outras acidolases. Estas enzimas são ativadas por uma série de estímulos fisiológicos, farmacológicos e patológicos. Após a liberação, o ácido araquidônico é submetido a rápido catabolismo oxidativo, através de duas vias enzimáticas distintas envolvendo as enzimas ciclooxigenase (COX) e lipoxigenase. A lise do ácido araquidônico pela COX origina as prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos, ao passo que a lipoxigenase está envolvida na biossíntese dos leucotrienos (NEWCOMBE, 1988; TASAKA, 1999; BOOTHE, 2001).

A síntese das prostaglandinas começa com os eventos de oxigenação e ciclização do ácido araquidônico, que são catalisados pela enzima COX. O produto imediato destes eventos é a síntese de endoperóxidos, altamente instáveis como, por exemplo: PGG_2 , que se transforma imediatamente em PGH_2 . Os endoperóxidos sofrem biotransformações originando diferentes tipos de prostaglandinas (PGD_2 , PGE_2 e PGF_2). Ademais, o endoperóxido PGH_2 origina ainda outros mediadores pró-inflamatórios, tais como tromboxano A_2 e prostaciclina, que são altamente ativas,

mas possuem estruturas que diferem um pouco das prostaglandinas (VANE, 1971; TASHAKA, 1999).

Por volta da década de 1980, foi descoberta a existência de dois tipos de COX, denominadas de COX-1 e COX-2. Assim, os mediadores originários da lise do ácido araquidônico pela COX-1 (enzima constitutiva), expressa em muitos tecidos, estão representados principalmente pelas prostaglandinas envolvidas na fisiologia renal, gastrintestinal e cardiovascular e do trato reprodutor. Por outro lado, a atividade da COX-2 (enzima induzida), presente em células inflamatórias, leva à síntese de prostaglandinas relacionadas ao processo inflamatório (GRISWOLD & ADAMS, 1996; CROWFORD, 1997)

O metabolismo do ácido araquidônico, através da via enzimática das lipoxigenases, em especial a 5-lipoxigenase, a exemplo do observado com a via COX, leva à síntese de um fator instável, denominado leucotrieno A₄ (LTA₄). Esse eicosanóide, tanto pode ser convertido em LTB₄, como dá origem aos cisteinil-leucotrienos (LTC₄, LTD₄, LTE₄ e LTF₄) (BOOTHE, 2001).

Ações Biológicas

Os prostanóides, em especial as prostaglandinas, encontram-se intrinsecamente implicados na dinâmica do processo inflamatório, que cursa com eventos vasculares e celulares que, por sua vez, predisõem o surgimento dos sinais clássicos da inflamação. A fase vascular caracteriza-se, inicialmente, por dilatação arteriolar, especialmente desencadeada via PGI₂, PGD₂ e PGE₂, que proporciona aumento no fluxo do sangue, seguido de estase sangüínea, aumento na permeabilidade venular pós-capilar e, por último, exsudação plasmática, carreando para os tecidos componentes dos sistemas complemento, da coagulação, fibrinolítico e das cininas. Concomitante, há a ativação dos eventos celulares com a participação efetiva das células polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos), mononucleares (monócitos, macrófagos e linfócitos) e mastócitos e seus respectivos mediadores pró-inflamatórios (TASHAKA, 1999; BOOTHE, 2001).

No que diz respeito ao envolvimento de prostaglandinas na dor inflamatória, sabe-se que este processo é iniciado com a sensibilização de nociceptores, pelas PGI₂, PGE₁ e PGE₂, tornando-os mais responsivos aos agentes

álgicos endógenos, como bradicinina e histamina. Nesse sentido, tem sido referido que a PGI₂ relaciona-se com a hiperalgesia imediata e de curta duração, enquanto a PGE₂ com a dor de ação prolongada, que pode persistir por um período de até seis horas (PAPICH, 1997).

No decorrer do processo inflamatório, certos agentes deletérios, como as endotoxinas bacterianas, fazem com que os macrófagos liberem o pirógeno endógeno, interleucina-1 que, por sua vez, é capaz de estimular a síntese de PGE₂, que causa a elevação do ponto de ajuste da temperatura corpórea (FELDMAN & McMAHON, 2000, BOOTHE, 2001).

Modulação Farmacológica

Há dois grandes grupos de anti-inflamatórios em uso clínico: drogas anti-inflamatórias esteróides, representados pelos glicocorticóides, e drogas anti-inflamatórias não-esteróides (AINES), que agem inibindo a síntese de prostanóides, por mecanismos distintos (RANG *et al.*, 1996b; BOOTHE, 2001).

Em decorrência da estreita correlação entre os mediadores pró-inflamatórios, seja de origem celular ou plasmática, torna-se difícil conter a evolução da inflamação pelo simples uso de antagonistas específicos de um ou outro destes agentes ativos. Contudo, do ponto de vista clínico, em decorrência da importância dos eicosanóides na dinâmica desse processo, os sinais e sintomas da inflamação são melhores modulados por fármacos que interferem na síntese destes mediadores pró-inflamatórios, como os AINEs e os glicocorticóides (CONLON, 1988; RANG *et al.*, 1996b; TASAKA, 1999; ROCHA, 2001; BOOTHE, 2001).

Os glicocorticóides atuam inibindo a gênese dos eicosanóides, através da indução da síntese de uma proteína específica, denominada lipocortina que, por sua vez, inibe a enzima fosfolipase-A₂, bloqueando a liberação do ácido araquidônico dos fosfolipídios da membrana celular. Os glicocorticóides bloqueiam não somente a síntese de prostanóides, como fazem os AINES, mas também são capazes de inibir outros mediadores e fenômenos da inflamação, possuindo, portanto, uma potente atividade anti-inflamatória (JOHNSTON & BUDSBERG, 1997).

Anti-inflamatórios Não-Esteróides

Em 1899, Felix Hoffman, sintetizou o ácido acetilsalicílico, o primeiro fármaco anti-inflamatório não-esteróide, denominado aspirina. Esse fármaco foi proposto inicialmente para tratamento da febre e enfermidade reumática (VANE et al, 1971). Desde a descoberta de John Vane, no início da década de 1970, de que substâncias à base de ácido acetilsalicílico bloqueiam a conversão enzimática do ácido araquidônico em prostaglandinas e tromboxanos, uma grande variedade de drogas anti-inflamatórias não-esteróides tem sido sintetizada, para uso clínico, tanto na medicina humana, como na medicina veterinária (HIGGINS & LEES, 1984., ROCHA, 2001).

Os AINES podem ser divididos em ácidos carboxílicos, no qual enquadram-se os ácidos salicílicos (ex. aspirina, ác. salicílico, diflunisal), ácidos acéticos (diclofenaco, etodolaco, indometacina, sunlidaco.), ácidos propiônicos (ibuprofeno, flurbiprofeno, cetoprofeno, naproxeno, carprofeno), ácidos fenâmicos (ácido. flufenâmico, ácido. meclofenâmico, ácido. tolfenâmico) e ácidos aminonicotínicos (flunixinina meglumina); ácidos enólicos formado pelas subclasses pirazolonas (oxifembutazona, fenilbutazona, dipirona) e oxicanos (tenoxicam, piroxicam, meloxicam) e miscelânea (nimesulida, paracetamol e DMSO). Vale salientar que devido à elevada toxicidade de alguns anti-inflamatórios como, por exemplo, indometacina e diclofenaco, seu uso, em pequenos animais, tem sido restrito (ROCHA, 2001).

A maioria desses fármacos inibe ambas as cicloxigenases (COX-1 e COX-2); muito embora varie quanto ao grau de inibição de cada uma delas. Com a descoberta da COX-2, isoforma induzida e expressa predominantemente durante o processo inflamatório, uma nova perspectiva terapêutica emergiu para o desenvolvimento de drogas mais seletivas e com menores efeitos adversos. O conjunto desses agentes originou uma nova geração de anti-inflamatórios (inibidores seletivos da COX-2), denominados de Coxibes (FITZGERALD & PATRONO, 2001)

Este fato, inicialmente, contribuiu para uma verdadeira revolução na terapia anti-inflamatória, uma vez que o potencial tóxico de um AINE é determinado pela relação COX-1:COX-2. Para a avaliação dos AINE é utilizado um índice de especificidade relativa entre as isoformas da COX, expresso como o índice IC_{50} para COX-2/COX-1. De acordo com este critério, quanto menor o valor do quociente relativo ou razão de COX-2/COX-1, maior será a seletividade da droga sobre a COX-

2 (CRYER & DUBOIS 1998). A descoberta de duas distintas formas da COX levou a primeira possibilidade racional do uso de AINEs com perfil maior de segurança (GRISWOLD & ADAMS, 1996; FROLICH, 1997., MARNETT & KALGUTKAR, 1999).

A primeira geração propriamente dita dos inibidores específicos da COX-2 é representada pelo nimesulide, etodalaco e meloxicam. A descoberta da especificidade destes produtos foi na realidade constatada após a comercialização, sendo decorrente, principalmente, de observações clínicas e experimentais da reduzida incidência de efeitos colaterais gastrintestinais, sendo posteriormente constatada por estudos *in vitro*. O nimesulide é considerado exemplo aberrante dos AINE, com boa potência *in vivo* em modelos inflamatórios, mas com fraca inibição *in vitro* de preparações da COX. O nimesulide, além de exibir especificidade de ação sobre a COX-2, apresenta adicionalmente outros efeitos que intensificam sua atividade antiinflamatória, como a inibição da ativação de neutrófilos e propriedades antioxidantes. Baseando-se em estudos *in vitro*, inicialmente sugeriu-se que o meloxicam inibia seletivamente a COX-2. No entanto, quando testado *in vivo* em seres humanos e animais, sua especificidade para a COX-2 foi somente cerca de dez vezes maior do que aquela para a COX-1, apresentando ainda inibição plaquetária (PANARA et al, 1999, ALENCAR, 2003).

A modificação molecular destes produtos, notadamente do nimesulide, visando o aumento de sua seletividade sobre a COX-2, originou estruturas sem um grupamento carboxílico e com a presença de grupos sulfonamida ou de sulfona, originando os chamados inibidores específicos de segunda geração. Este grupo inclui o celecoxibe, rofecoxibe, valdecoxibe, parecoxibe (pró-droga do valdecoxibe), APHS [-(*acetoxifenil*)]*hepta-2-vinil sulfeto*] e etoricoxibe (KULKARNI et al, 2000).

O aparecimento de compostos seletivos COX-2 foi muito rápido e esses fármacos foram recebidos com entusiasmo, em virtude de serem mais seguros, demonstrando pouco potencial ulcerogênico, quando comparadas com AINEs não seletivos. Porém estudos posteriores em animais demonstraram que a COX-2 parece exercer um papel importante na fisiologia. Conseqüentemente, o potencial terapêutico e o perfil de segurança de inibidores seletivos COX-2 foram revistos (RICKETTS et al, 1998, BARNETT et al, 2000).

O papel protetor da enzima COX-2 na mucosa gástrica é suportado pelos efeitos prejudiciais observados em estudos em animais após inibição de COX-2,

principalmente através de três observações: 1) interferência com a resposta adaptativa da mucosa gástrica a meios irritantes; 2) agravamento de lesões gástricas induzidas por indometacina ou por reperfusão isquêmica; 3) por retardar a cicatrização de úlceras crônicas (LI et al, 2002).

Diferente do papel protetor observado no estômago, inibidores seletivos COX-2 não retardam a cicatrização de úlceras duodenais, onde o óxido nítrico (NO) aparentemente parece ser o principal responsável na defesa da mucosa (CORUZZI et al, 2004).

Estudos em animais sugerem que COX-1 e COX-2 podem contribuir para a proteção da mucosa gástrica, embora em diferentes condições. Todavia, diferenças significantes nas propriedades ulcerogênicas tem sido encontradas entre AINEs tradicionais e COX-2 seletivos. As PGs derivadas de COX-2 não exercem papel importante na manutenção da integridade da mucosa sob condições normais, mas parecem ganhar importância na presença de uma injúria, por atuar como segunda linha de defesa para reparo e cicatrização de úlceras (CORUZZI et al, 2004).

Em paralelo com esses novos estudos, as plaquetas passaram a ser consideradas importantes no mecanismo de defesa da mucosa gástrica, por sua habilidade em liberar fatores pró-angiogênese PDGF (fator de crescimento derivado das plaquetas) que estimulam a expressão do VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular) Este fato tem levado a novas estratégias baseadas na adição de doadores de NO em AINEs padrão. O efeito benéfico da adição de NO a AINEs pode ser atribuído a sua habilidade em causar um aumento nos níveis séricos VEGF, representando uma alternativa atrativa para AINEs convencionais e seletivas COX-2 por facilitar a angiogênese, e com isto, uma melhor cicatrização e cura de gastropatias induzidas por anti-inflamatórios (LI et al, 2002)

Recentemente, estudos têm demonstrado que o retardo na cicatrização de úlceras não é observado após a administração do composto PD138387, um inibidor seletivo COX-2 que também inibe a atividade da 5-lipooxigenase, sugerindo que a supressão desta enzima pode contrapor-se ao retardo na cicatrização causado por inibidores seletivos COX-2 (LI et al, 2002).

Ações Farmacológicas

Os anti-inflamatórios não-esteróides constituem um grupo heterogêneo de compostos, que possuem funções terapêuticas, em comum, ou seja, são analgésicos, antipiréticos e anti-inflamatórios. Os AINES, ao inibirem a síntese de prostaglandinas, (PGI_2 , PGE_1 e PGE_2), diminuem a vasodilatação, causam efeitos inibitórios nos nociceptores, centro termoregulador hipotalâmico e modulam os sinais e sintomas da inflamação (FELDMAN & McMAHON, 2000).

Estas ações farmacológicas são particularmente importantes nas desordens musculoesqueléticas, que geralmente cursam com dor. Por conseguinte, estes anti-inflamatórios são utilizados para o alívio sintomático da dor e inflamação associados às doenças artríticas. Entretanto, o uso de AINES nas terapias de degenerações articulares deve ser bastante cauteloso, haja vista que algumas delas, como ácido acetil-salicílico, fenilbutazona, naproxeno, ibuprofeno, indometacina, apesar de demonstrarem uma potente atividade anti-inflamatória, podem agravar o quadro clínico, por aumentarem a lesão articular (BUDSBERG, 1999, WALLACE, 2001).

Através de estudos sobre o efeito analgésico dos AINES, sabe-se que as prostaglandinas da série E, em especial PGE_1 e PGE_2 , são capazes de sensibilizar os terminais nervosos nociceptivos aferentes aos mediadores algícos endógenos, tipo bradicinina, histamina e 5-hidroxitriptamina. Como os AINES inibem a biossíntese desses prostanóides, eles são bastante eficazes na dor de cunho inflamatório (FELDMAN & McMAHON, 2000).

A febre pode resultar tanto da exposição dos animais a microrganismos, como de lesão tissular, reações antígeno-anticorpo, rejeição de enxerto, câncer ou outros estados patológicos. Sabe-se que durante o processo inflamatório ocorre a liberação de interleucina-1, por macrófagos, estimulando a gênese de PGE_2 que, por sua vez, age diretamente no centro termoregulador, elevando o ponto de ajuste da temperatura, produzindo a resposta febril. Portanto, o efeito antipirético dos AINES pode ser explicado pelo seu bloqueio na biossíntese dessa prostaglandina (RANG *et al.*, 1996b; TASAKA, 1999; BOOTHE, 2001).

CHANDRASEKHARAN *et al.* (2002), descreveram uma terceira isoforma de COX (COX-3), produzida através da COX-1, que é expressada principalmente no córtex cerebral de cães. Essa nova isoforma é seletivamente inibida por substâncias

analgésicas e antipiréticas como o acetaminofen e a dipirona e, potencialmente inibida por algumas AINEs. Portanto, a inibição de COX-3 pode representar o mecanismo central primário pelo qual essas substâncias diminuem a dor e possivelmente a febre.

Além dessas três ações farmacológicas clássicas, os AINES também desempenham atividades antitrombótica e antiendotóxica. A ação antitrombótica é explicada pela inibição da agregação plaquetária, em decorrência da modulação da síntese de tromboxanos, em especial TXA₂. Dessa forma, os AINES alteram a dinâmica da hemostasia, podendo, muitas vezes, trazer complicações hemorrágicas. A atividade antiendotóxica dos AINES decorre da diminuição na síntese de determinados prostanóides, como prostaciclina e tromboxanos, envolvidos nas alterações cardiovasculares e metabólicas (TASAKA, 1999; BOOTHE, 2001).

Informações obtidas de diversos estudos epidemiológicos humanos, de modelos animais e de experimentos *in vitro* de cultura de células, evidenciam a participação da COX-2 no desenvolvimento de processos neoplásicos, abrindo a perspectiva do uso dos inibidores específicos da COX-2 na prevenção e no tratamento de diversos tipos de câncer. Estudos epidemiológicos revelaram que a aspirina é capaz de reduzir de 40% a 50% a incidência de câncer de cólon (WILLIAMS et al, 1997).

Diversos outros AINEs, incluindo os inibidores específicos da COX-2, têm mostrado excelentes resultados na prevenção de vários tipos de câncer, incluindo os de pâncreas, fígado, esôfago, intestino, estômago, pulmão, mama, próstata, dentre outros. A base molecular para o desenvolvimento da atividade quimioprotetora dos AINE nos processos neoplásicos encontra-se principalmente relacionada com a elevada expressão e produção de COX-2 pelo tecido tumoral, como acontece no adenocarcinoma de esôfago e em neoplasias colorretais (WU, 2000.,BARON et.al, 2003).

Um dos mecanismos propostos para atividade antineoplásica dos AINE seria a inibição da ligação do ativador de proliferação do peroxissomo (PPAR α) com o DNA da célula, impedindo a ativação dos genes responsáveis pelo desenvolvimento, metabolismo, crescimento e diferenciação celular. Um outro mecanismo seria o da capacidade dos AINE de induzir apoptose das células cancerosas, pela inibição da função do PPAR α . Além disso, os AINE, inibindo a

COX-2, estariam também impedindo a formação de PGE₂ no tecido tumoral, prevenindo a estimulação do Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF), que induz a angiogênese, estimulando indiretamente o crescimento e expansão da célula neoplásica. A expressão aumentada de COX-2 e a regulação negativa de PPAR α , com a modulação subsequente nas concentrações de PGE₂ e 15desoxiD PGJ₂ (JANEWAY et al, 2001., CARVALHO, 2002). As PGJ₂ podem influenciar o desenvolvimento de câncer de mama, e sua progressão para metástase ((WU , 2000). Este dado sugere, de maneira indireta, que possa ocorrer uma possível participação da COX-3, como fonte de 15desoxiD PGJ₂ . No entanto, esta é uma observação apenas especulativa (JANEWAY et al, 2001., CARVALHO, 2002).

Efeitos colaterais associados ao uso dos AINES

No sistema renal, as prostaglandinas, em especial PGI₂ e PGE₂, em decorrência de sua atividade vasodilatadora, apresentam fundamental importância no fluxo sanguíneo, e, por conseguinte, na homeostasia. Os AINES, ao inibirem a gênese desses importantes prostanóides, induzem uma diminuição no 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 (VANE & BOTTING, 1995., LOBETTI & JOUBERT, 2000; COELHO *et al.*, 2001).

Os AINES apresentam outros efeitos indesejados, tais como inibição da agregação plaquetária e prolongamento da gestação, que também estão relacionados, pelo menos em parte, com a capacidade destes anti-inflamatórios em bloquear a gênese de prostanóides. A função plaquetária pode ser comprometida em decorrência da ação inibitória dos AINES na síntese de TXA₂ que, por sua vez, é um importante mediador dos processos de agregação plaquetária e coagulação sanguínea. Em relação ao efeito dos AINES no prolongamento da gestação, sabe-se que determinadas prostaglandinas, em especial a PGF_{2 α} , são potentes substâncias ureotrópicas. Por conseguinte, a modulação na síntese deste prostanóide, pelos AINES, pode interferir nesta função reprodutiva (FELDMAN & McMAHON, 2000).

As ações deletérias no trato gastrointestinal induzidas por estes fármacos podem resultar em irritação local, iniciada pelas propriedades ácidas da aspirina e

muitos outros AINEs por terem uma constante de dissociação baixa, que varia de um composto a outro. Estes ácidos fracos permanecem em sua forma lipofílica não ionizada no meio altamente ácido da luz gástrica. Estas condições favorecem a migração destas drogas através do muco gástrico até a superfície das células epiteliais e ali se associam a sua forma ionizada, o que resulta no acoplamento de ions hidrogênio. Os AINEs podem também causar danos tópicos por diminuição da hidrofobicidade do muco gástrico, que permite a passagem do ácido clorídrico e da pepsina até as células epiteliais, lesionando-as. A injúria tópica pode ainda ocorrer como resultado de mecanismos indiretos, através da secreção biliar e o posterior refluxo duodeno-gástrico de metabólitos ativos excretados na bile que ao entrarem no duodeno causam lesões na mucosa por suas propriedades ácidas. Em virtude disto, o uso de preparações com cobertura entérica e administração de AINEs por via retal ou parenteral, com fins de prevenir a injúria tópica, não tem trazido nenhum resultado benéfico (WOLFE & SOLL, 1988, TANAKA et al, 2001).

A injúria sistêmica é a principal responsável pelos danos causados a mucosa gastroduodenal e isto decorre da inibição da biossíntese de PGI₂ e PGE₂, as quais, inibem a secreção de HCl, promovem a secreção de muco citoprotetor, aumentam a secreção de bicarbonato e do fluxo sangüíneo e mantêm a integridade endotelial, estando, portanto, todas estas ações das prostaglandinas envolvidas na citoproteção gástrica. A inibição na biossíntese destas prostaglandinas é a principal causa dos efeitos deletérios como gastrite, ulceração, hemorragias e perfuração gastrintestinal, comumente observados com o uso dos AINES (KONTUREK, et al., 1981; WALLACE, 2001; ALENCAR et al, 2003). Outras complicações sérias, porém menos conhecidas, incluem a esofagite medicamentosa, as ulcerações e estenoses no intestino delgado, as estenoses colônicas e as exacerbações de enfermidades inflamatórias intestinais (LICHTENSTEIN et al, 1995).

A injúria na mucosa gastroduodenal causada pelo uso de AINEs é rápida e em pouco tempo são produzidos danos ultraestruturais ao epitélio gástrico. No entanto, ocorre uma adaptação da mucosa em resposta a estes danos. Nenhum segmento do estômago é resistente a injúria por AINES, porém o sítio mais freqüentemente afetado é o antro (HUNG, 2000).

Os fatores que incrementam os riscos de complicações gastrintestinais incluem idade avançada, antecedente de úlceras, uso concomitante de corticóides e

anticoagulante, altas doses, enfermidades sistêmicas sérias e infecção por *Helicobacter pylori*. À presença do *H. pylori* como fator de risco, é bastante controverso, uma vez que este microorganismo aumenta a síntese de prostaglandinas na mucosa gastrintestinal. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a infecção por *H. pylori* é um co-fator para as úlceras por AINEs. Outras investigações, no entanto, revelam uma menor incidência de úlceras gastroduodenais em pacientes que fazem uso de AINEs. (BARKIN, 1998).

Conclusão

A terapia antiinflamatória teve uma evolução significativa a partir da descoberta do seu mecanismo de ação (John Vane, 1971). No final dos anos 80, com a descoberta da existência de duas isoformas de ciclooxigenase (COX-1 e COX-2), que determinam diferentes funções no organismo, os pesquisadores abriram novos horizontes para o estabelecimento de uma conduta terapêutica mais eficaz e com menor incidência de efeitos colaterais. Há uma grande variedade de AINEs no mercado e há, ainda, um fluxo contínuo de pesquisas, buscando novos medicamentos desta natureza. Baseado nessas informações pode-se concluir que nenhuma dessas substâncias, pelo menos até o presente momento, tem sido completamente eficaz no controle da resposta inflamatória, sem causar efeitos deletérios no organismo.

Referências bibliográficas

ALENCAR, M. M. A., PINTO, M.T., OLIVEIRA, D.M., PINHO, W.A P., CÂNDIDO, I.A., VIRGÍNIO, C.G., COELHO, H. S. M. ROCHA, M. F. G. Margem de segurança do meloxicam: efeitos deletérios nas células sangüíneas e trato-gastrintestinal. **Ciência Rural**, v.38, p. 625-532, 2003.

BARKIN, J. The relation between *Helicobacter pylori* and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. v. 105, p. 22-27, 1998.

BARNETT, K., BELL, C. J., McKAIGHT, W., DICAY, M., SHARKEY, K, A, WALLACE, J.L. Role of cyclooxygenase-2 in modulating gastric acid secretion in normal and

inflamed rat stomach. **Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.279, p.1392-1397, 2001.

BARON JA, COLE BF, SANDLER RS et.al - A randomized trial of aspirin to prevent colorectal adenomas. **N Engl J Med**.v.348, p. 891-899, 2003.

BOOTHE, D.M. Anti-inflammatory drugs. IN: BOOTHE, D.M. **Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 281-311, 2001.

BUDSBERG, S.C. Tendencias actuales y futuras en el uso de las DAINES para el tratamiento de la osteoartritis en los perros. *Waltham Focus*, 9: 26-31, 1999

CARVALHO, W.A - Analgésicos, Antipiréticos e Antiinflamatórios, IN: Silva P – **Farmacologia**. 6ª Ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

CARVALHO. W.A., CARVALHO, R. D. S., RIOS-SANTOS, F. Analgésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: avanços terapêuticos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.54 n.3 ,May/June, 2004

CHANDRASEKHARAN NV, DAI H, ROOS KL, EVANSON NK, TOMSIK J, ELTON TS, SIMMONS DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proctology National Academy Science** , v. 15, n.99, p.13926-31,2002

COELHO, B.M.P., IKESAKI, J.Y.H., SIMÕES, D.M.N., KANAYAMA, L.M., GUERRA, J.L., KOGIKA, M.M. Insuficiência renal crônica em cães jovens: Estudo clínico de 25 casos. **Clínica Veterinária**, v.33, p.52-56, 2001.

CONLON, P.D. Nonsteroidal drugs used in the treatment of inflammation. **Veterinary Clinical North American of Small Animmal Practice**, v. 18, p. 1115-1131, 1988.

CORUZZI, G., MENOZZI, A, DOBRILLA, G. Novel Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: What we have Learned from Animal Studies. **Current Drug Targets-Inflammation & Allergy**, v.3, p. 43-61, 2004

CRYER B, DUBOIS A - The advent of highly selective inhibitors of cyclooxygenase. A review. **Prostaglandins**, v.56, p.341-361, 1998.

CRAWFORD, L.J. COX-1 and COX-2 tissue expression: implications and predictions. **Journal. Rheumatology**, v. 49, p.15-19, 2000.

FELDMAN, M & McMAHON, A. T. Do Cyclooxygenase-2 Inhibitors Provide Benefits Similar to Those of Traditional Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs, with Less Gastrointestinal Toxicity?. **Annuary International Medicine**, v.132, p.134-143, 2000.

FITZGERALD GA, PATRONO C. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **N Engl J Med**, v.345. p. 433-442, 2001.

FROLICH, J.C. A classification of NSAIDs according to the relative inhibition of cyclooxygenase isoenzymes, **TIPS**. v.8, p. 30-34, 1997.

GRISWOLD, D.E., ADAMS, J.L. Constitutive cyclooxygenase (COX-1) and inducible cyclooxygenase (COX-2): rationale for selective inhibition and progress to date. **Med. Research. Veterinary**, v.16, p. 181-206, 1996.

HIGGINS, A. J., LEES, P. The acute inflammatory process, arachidonic acid metabolism and the mode of action of anti-inflammatory drugs. **Equine Veterinary Journal**, v.16, p.163-175, 1984.

HUNG, C. R. Experimental antral ulcer and several protective drugs. **Inflammopharmacology**, v. 10, n.4-6, p. 375-384, 2000.

JANEWAY CA, TRAVERS P, WALPORT M et al. Immunobiology. **The Immune System in Health and Disease**, 5th Ed, New York, Garland Publishing/Churchill Livingstone, 2001.

JOHNSTON, S.A., BUDSBERG, S.C. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and corticosteroids for the management of canine osteoarthritis. **Veterinary Clinical North American of Small Animal Practice**, v.27, p.841-862, 1997.

KONTUREK, S.J., PIASTUKI, I., BRZOZOWSKI, T. Role of prostaglandins in the formation of aspirin-induced gastric ulcers. **Gastroenterology**, v.80, p.4-9, 1981.

KULKARNI SK, JAIN NK, SINGH A. Cyclooxygenase isoenzymes and newer therapeutic potential for selective COX-2 inhibitors. **Methods Find Experimental Clinical Pharmacology**, v.2, p.291-298, 2000.

Li M., SOLDATO, P., WALLACE, J.L. Divergent effects of new cyclooxygenase inhibitors on gastric ulcer healing: Shifting the angiogenic balance. **Proctology National Academy Science**, U.S.A. v.99, p. 13243-13247, 2002.

LICHTENSTEIN, D.R.; SYNGAL, S.; WOLFE, M.M. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs

and the gastrointestinal tract: The double-edged sword. **Arthritis Rheumatology**, v. 38, p. 5-18, 1995.

LOBETTI, R.G., JOUBERT, K.E. Effect of administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs before surgery on renal function in clinically normal dogs. **American Journal Veterinary Research**, v.61, p. 1501-1507, 2000.

MARNETT, L.J., KALGUTKAR, A.S. Cyclooxygenase 2 inhibitors: discovery, selectivity and the future. **TIPS**, v.20, p. 465-469, 1999.

NEWCOMBE, D.S. Leucotrienes: regulation of biosynthesis, metabolism, and bioactivity. **Journal of Clinical and Pharmacology**, v.28, p. 530-549, 1988.

PANARA MR, RENDA G, SCIULLI MG et al. Dose-dependent inhibition of platelet cyclooxygenase-1 and monocyte cyclooxygenase-2 by meloxicam in healthy subjects. **Journal Pharmacology Experimental Therapeutic**, v. 290, p. 276-280, 1999.

PAPICH, M.G. Principles of analgesic drug therapy. Semin. **Veterinary Medical Surgery**, v.12, p. 80-93, 1997.

RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M. Anti-inflammatory and immunosuppressant drugs. IN: RANG, H.P., DALE, M.M., RITTER, J.M., **Pharmacology**. New York: Churchill Livingstone, 3th ed., 246-266, 1996b.

RICKETTS, A.P., LUNDY, K.M., SEIBEL, S.B. Evaluation of selective inhibition of canine cyclooxygenase 1 and 2 by carprofen and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **American Journal Veterinary Research**, v.59, p. 1441-1446, 1998.

ROCHA, M.F.G. Avanços na Terapia Antiinflamatória Não-Esteróide em Cães e Gatos. **Ciência Animal**, v.11, p. 55-59, 2001.

TANAKA, A., ARAKI, H., KOMOIKE, Y., HASE, S., TAKEUCHI, K. Inhibition of both COX-1 and COX-2 is required for development of gastric damage in response to nonsteroidal antiinflammatory drugs. **Journal of Physiology**, v.95, p.21-27, 2001.

TASAKA, A.C. Antiinflamatórios não-esteroidais. IN: SPINOSA, H.S., GORNIK, S.L., BERNARDI, M.M., **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2ª ed., p. 212-226, 1999.

VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature**, v.231 p. 232-235, 1971.

VANE, J.R., BOTTING, R.M. New insights into the model of action of anti-inflammatory drugs. **Inflammation Research**, v. 44, p.01-10, 1995.

WALLACE, J. L. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. **Best Practition & Research Clinical Gastroenterology**, v.15, n.5, p.691-703, 2001.

WILLIAMS CS, SMALLEY W, DUBOIS RN - Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention. **Journal of Clinical Investigation**, v.100, p.1325-1329, 1997.

WOLFE, M. M.; SOLL, A.H. The physiology of gastric acid secretion. **N. Engl. Journal Medical**, v. 319, p.707-1715, 1988

WU GD - A nuclear receptor to prevent colon cancer. **N Engl Journal Medical**, v.342,p.651-653, 2000.

Artigo a ser submetido

Effects of *Momordica charantia* aerial parts extract on gastrointestinal parameters in murine models

Marilac Maria Arnaldo Alencar^{*}, Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro, Selene Maia de Morais, Isabele Oliveira Jataí, Luciana Medeiros Bertine, Ivanilde Andrade Cândido.

Effects of *Momordica charantia* aerial parts extract on gastrointestinal parameters in murine models

Marilac Maria Arnaldo Alencar^{*}, Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro, Selene Maia de Moraes, Isabele Oliveira Jataí, Luciana Medeiros Bertine, Ivanilde Andrade Cândido

Abstract

The present study investigated the effect of the ethanol extract (EE) of the aerial parts of the *Momordica charantia* (bitter melon) upon the gastrointestinal tract of murine models. The gastrointestinal transit was assessed with mice receiving 100, 500 or 1000 mg/kg orally. The administration of 500 mg/Kg significantly increased the gastrointestinal transit ($p < 0.05$). Volume, pH, total acidity and peptic activity were evaluated using rats subjected to pyloric ligation and dosages of 100 and 500 mg/Kg. While volume and pH levels remained unchanged in relation to the controls and to rats receiving ranitidine, total acidity and peptic activity increased significantly. The results indicate that the ethanol extract of *M. charantia* exerts a prokinetic effect upon the gastrointestinal transit in murine models and that its cytoprotective action may be associated with mechanisms other than acid neutralization, antisecretory activity or anti-oxidant activity

Key words: *Momordica charantia*, gastrointestinal transit, antisecretory activity

Introduction

Momordica charantia (bitter melon), also called bitter gourd or balsam apple, belongs to the large family Curcubitaceae, is found in the tropics, especially in South America, India, China and East Africa (Costa et al., 1992). Ingestion of *M. charantia* is said to be stimulating, laxative and anti-helminthic it is also used to purify the blood and treat wounds, leprosy and malignant ulcers (Matos, 1995; Yesilada et al., 1999).

The biological action of the species probably is due to its content of glycosides, saponins, alkaloids, fixed oils, triterpenes, proteins and steroids (Raman & Lau, 1996).

The fruit, which is widely used in the treatment of diabetes, presents hypoglycemic and antihyperglycemic properties due to the substances charantia, vicine and p-insulin (Raman & Lau, 1996; Murakami et al., 2001). Extracts made from the fruit are also claimed to be helpful in the treatment of tumors, HIV and bacterial infections (Jiratchariyakul, 2001; Lee et al., 1998; Yesilada et al., 1999).

Although the ripe fruit of *M. charantia* has been tested under laboratory conditions in the treatment of peptic ulcer (Matsuda et al., 1999; Gürbüz et al., 2000), few attempts were made to assess the gastroprotective action of leaf extracts of the plant.

The findings published by Leite and coworkers (2004), these authors claim that ethanol extracts made from the leaves of *M. charantia* are gastroprotective, the present study was performed to assess the effect of ethanol extracts of the aerial parts of the plant upon the gastrointestinal transit and parameters of gastric secretion in murine models.

Materials and methods

Plant material

Aerial parts of *Momordica charantia* were collected in the morning hours on July, 2004, in Fortaleza, Brazil. The species was identified by botanists of the Prisco Bezerra Herbarium, Botany Department of the Federal University of Ceará (samples deposited under registration # 32441).

Preparation of ethanol extract of *M. charantia*

The aerial parts (5kg) of the plant were left to dry in the shade. Subsequently, the material was kept immersed in hexane during seven days. The resulting solution was filtered and once the residual hexane had evaporated the remaining plant matter was immersed in ethyl alcohol 95° for seven days. After filtering, the solution obtained was processed in a rotary evaporator at 78.5°C in order to produce the ethanol extract (EE). The average yield was 16.36 g/L. The EE was diluted in a 0.9% NaCl solution containing 5% Tween 20 before administration.

Antioxidant activity assay

1.1 Free radical scavenging activity (DPPH) method.

The hydrogen atoms or electrons donation ability of the corresponding extract and some pure compounds was measured from the bleaching of purple colored methanol solution of DPPH. This spectrophotometric assay uses the stable radical DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) as reagent and was carried out as described elsewhere (Yepez et al, 2002). Hundred microliters of different concentrations (2 – 0.5%, w/v) of the extract were added to 3,9 mL of a $6,5 \times 10^{-5}$ M methanolic solution of (DPPH) free radical and the absorbance was read twelve times during 1h at 515 nm in a Speckol spectrophotometer. Methanol was as used as blanket. The absorbance of the DPPH radical solution was measured and represents 0 time in figure 1. Inhibition of free radical DPPH in percent (I%) was calculated in following way:

$$I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100$$

Where A_{blank} is the absorbance of the methanolic solution of DPPH, and A_{sample} is the absorbance of the test compound. Extract concentration providing 50% inhibition (IC_{50}) was calculated using graph by plotting inhibition percentage against extract concentration. Synthetic antioxidant reagent butylated hydroxytoluene (BHT) and quercetine were included in experiments as positive controls and all tests were carried out in triplicated (Yepez et al, 2002).

For statistical analysis in antioxidant activity, one-way ANOVA test was used follow by student's t-test .

Animals

The pylorus ligation model was developed using male albino rats weighing 240-300g. For the assessment of gastrointestinal transit male Swiss mice weighing 25-35g were used. All animals were kept under controlled light and temperature conditions with unrestricted access to food and water. Before starting the treatment the animals were subjected to a 16-hour fast.

Biological experiments

Studies on intestinal transit: The mice (n=42) were weighed, separated in seven groups (n=6) and assigned to one of the following treatments: Group I saline solution (0.3 mL); Group II atropine sulfate IM 1mg/kg body weight ; 100, 500 and 1000 mg/kg body weight of ethanol extract of *M. charantia* administered orally (Groups III, IV and V, respectively); 1mg/kg body weight atropine sulfate IM co-administered with 500 and 1.000 mg/kg body weight of ethanol extract of *M. charantia* (Groups VI and VII, respectively). The tested materials were administered orally after one hour of treatment; a solution of 10% activated carbon in water was administered orally at a dosage of 0.1mL/10g body weight. After 30 minutes of activated carbon administration, the mice were anesthetized intraperitoneally with a barbiturate and sacrificed by intracardial perfusion of potassium chloride for subsequent excision of the stomach and small intestine. The total length of the intestine was measured in centimeters from the pylorus to the ileocecal junction as was the distance covered by the activated carbon from the pylorus to the last continuous centimeter of carbon markings in the intestine. The amount of activated carbon observed in the intestinal tract was expressed as a percentage of the total intestinal length (Arbos et al., 1993).

Studies on gastric secretion: Pyloric ligation method: The rats (n=20) were assigned to one of four groups (A-D; n=05) and, prior to the surgical procedure, submitted to a 16-hour fast with unrestricted access to water containing 5% glucose. Initially, before proceeding with the pylorus ligation, the animals were anesthetized intraperitoneally with 2.5% sodium thiopental (0.1mL/100g body weight). The stomach was accessed through a median (retirar) subumbilical incision in order to perform the ligation. Group A (control group) was given distilled water (0.3 mL/100g) body weight intraduodenally; Group B (reference group) was given ranitidine at 50 mg/kg body weight; the remaining two groups (C and D) received EE at 100 and 500 mg/kg body weight, respectively. The incision was closed and the animals were sacrificed four hours later. Upon removing the stomach, the upper end of the esophagus was kept closed to avoid loss of contents. Once the sample had been washed, dried with filter paper and positioned on a surface of ice, an opening was made along the lesser curvature. The gastric mucosal membrane was rinsed with 2 mL of distilled water then the gastric juice and lavage were collected in test tubes and centrifuged at 1500 rpm for 30 minutes. 200 μ L of supernatant was reserved and kept at -4°C for peptic

activity determination (Anson, 1938); the remainder gastric juice was immediately used to determine volume, pH and total acidity (Vissher et al., 1954).

Statistical analysis: The results are expressed as means \pm S.E.M. Statistical significance was tested using a Dunnett's test. A difference was taken to be significant at $P < 0.05$.

Results

Effect on intestinal transit: In the animals that received distilled water, the activated carbon covered a distance equivalent to 71.96%. This did not differ significantly from animals treated with atropine sulfate 65.61 EE 100mg (76.15%), EE 1.000mg (85.67%) and EE 1.000mg associated to atropine (85.08%). However, as shown in Table 1, animals treated with 500mg EE, with or without atropine sulfate, displayed significantly higher values (88.93% and 92.83%, respectively; $p < 0.05$).

Effects on gastric secretion: Pylorus ligation model: Six hours after pyloric ligation, the parameters for Groups are shown in table 2. When 100 mg of EE was administered, pH levels decreased while the volume of gastric juice, total acidity and peptic activity increased, as compared to the control group. The volume secreted by animals in the groups receiving 500 mg body weight of EE and ranitidine was nearly equivalent), although the pH increased in these two groups compared to control group. Unlike Group D, animals receiving ranitidine presented lower total acidity. All four groups displayed significantly higher levels of peptic activity in relation to controls.

Table 1 — Effect of ethanol extract (EE) of *M. charantia* upon gastrointestinal transit in mice using a 10% activated carbon solution as marker.

Groups	Treatment	Average (%)
I	0.5 mL distilled water	71.96
II	1 mg atropine sulfate/kg body weight	65.61
III	100 mg EE/kg body weight	76.15
IV	500 mg EE/kg body weight	88.93
V	1000 mg EE/kg body weight	85.67
VI	500 mg EE + atropine sulfate	92.83*
VII	1000 mg EE + atropine sulfate	85.08*

* Difference significant when compared to Group I (control group) ($p < 0.05$)

Table 2 — Parameters effect of ethanol extract (EE) of *M. charantia* upon of gastric secretion in rats 6 hours after pyloric ligation.

Groups	Volume (mL)	pH [H ⁺]	Total acidity meq [H ⁺]/mL	Peptic activity µg tyrosine/mL
A: control	3.68 ± 0.76	3.11 ± 0.39	0.040 ± 0.028	96.20 ± 1.71
B: ranitidine	4.46 ± 0.54	3.53 ± 0.152	0.019 ± 0.002	150.08 ± 8.83*
C: 100 mg EE	6.10 ± 1.56	2.79 ± 0.121	0.150 ± 0.072	155.60 ± 5.33*
D: 500 mg EE	4.72 ± 0.93	3.70 ± 1.01	0.175 ± 0.097	154.60 ± 7.45*

* Significantly difference when compared to Group A (control group) ($p < 0.05$)

Antioxidant activity assay

The results showed that the higher concentration of EE (20mg/1mL=2%) was the most efficient of 73.87% and the IC50 was 1.11% (11.1mg/mL). Nevertheless, the control group showed an IV of about 91% with the concentration of 0.5%, while the extract (0.5%) revealed an IV of only 35.03%, which is 2.6 times lower when compared to the control with the same concentration (Tab-3, Graphic 1)

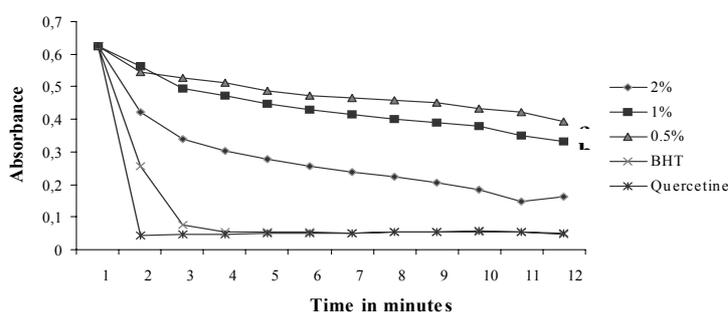
Table 3: Stability index EE of *Mormodica charantia* determined by DPPH method

Sample (%)	Stability index (I%)
Extract ethanolic ^A (%)	
2	73.87 ^a
1	45.39 ^b
0.5	35.03 ^c
1,11 ^B	50.00 ^d
BHT 0,5% (positive control)	90.89 ^e
Quercetine 0.5% (positive control)	90.32 ^e

^A Percentages of the dry extract refer to the concentrations (w/v)

^B IC₅₀ values of DPPH assay (as percentage in w/v)

Different small letters means statistically significant differences at $P < 0.001$



Graf. 1: Antioxidant activity of the extract in different concentrations and positive controls on the DPPH test. Different letters means statistically significant differences at $P < 0.001$.

Discussion

The present study tested the effect of an ethanol extract (EE) made with the aerial parts of *M. charantia* upon the gastric secretion and gastrointestinal transit in murine models. Only the animals treated with 500mg EE/kg showed the gastrointestinal transit that showed enhancement to be dose-dependent. Moreover, the effect of EE (500 or 1000 mg) upon the gastrointestinal transit did not seem to be

altered by co-administration with atropine sulfate. Atropine sulfate is an antagonist to acetylcholine (ACh) and other muscarinic agonists, competing for muscarinic receptor sites (Boothe, 2001). As a competitive antagonist, atropine sulfate may be neutralized by a high enough concentration of ACh or other cholinergic agonists at the receptor sites of the effector (Boothe, 2001). Considering that the pro-kinetic effect of the ethanol extract remained unaltered in the presence of atropine sulfate, it may be hypothesized that EE exerts an agonistic effect upon the muscarinic receptors leading to heightened ACh concentrations. Li and coworkers (2000) claim that momordin Ic infused intracardially accelerates the gastrointestinal transit by stimulating the synthesis of 5-HT (5-hydroxytryptamine). 5-HT₄ receptors are present at the cholinergic nerve terminals of the digestive tube, and their activation is known to increase ACh release and to stimulate peristalsis. Although the EE used in this study was not fractionated, it may be hypothesized that the mechanism by which it caused increasing in the gastrointestinal transit could be related to momordin Ic an oleanolic acid oligoglycoside present in the fruit.

The pyloric ligation (PL) is a ideal model to infer the mechanism by which a drug works as an anti-ulcerogenic agent. PL-induced gastric ulcers occurs because of an increase in acid-pepsin accumulation due to pyloric obstruction and subsequent mucosal digestion. A copious amount of mucus is secreted during superficial damage and provides favorable microenvironment in repair. Hence estimation of acid secretion, pepsin secretion and mucus secretion is a valuable part of the study to clarify the mechanism of action of the drug under trial (Goel and Bhattacharya, 1991). In present study, we found that the EE not induced significant changes in relation to volume and pH levels; however at a dosage of 500mg, EE produced higher pH levels (3.7) than ranitidine (3.53) or water (3.11; control group). Furthermore, dosages of 100 and 500mg EE significantly increased total acidity and peptic activity levels, as compared to controls. This may be explained by the results obtained in our study of gastrointestinal transit: EE seems to exert an agonistic effect increasing ACh release and thereby stimulating the secretion of all types of secreting cells in the gastric glands, including the secretion of pepsinogen by the peptic cells, of hydrochloric acid by the parietal cells and of mucous by the mucosal cells.

Although in the present study EE enhanced the activity of gastric mucosal-offensive factors, such as acid and pepsin, Leite and colleagues (2004) and Gürbüz

and coworkers (2000) have shown that the ethanol extract of the fruit and aerial parts of *M. charantia* exerts an antiulcerogenic action in a number of ulceration models. The cytoprotective action of *M. charantia* may be related to mechanisms other than acid neutralization or antisecretory activity. The high levels of total acidity and peptic activity observed in the groups receiving EE suggest that the digestive action of peptic secretion may be prevented only by an efficient protection of the mucosal surface. According to Leite and coworkers (2004), 100mg EE of *M. charantia* significantly increased the total protein content in the gastric mucous leading to hypertrophy of the mucosal cells and consequently enhancing cytoprotection. Li and colleagues (2000) believe that the stimulation of the 5-HT(2) synthesis may be associated with receptors 5-HT(2C) and 5HT(2B), which are known to up regulate prostaglandin synthesis.

Due to the EE of *M. charantia* has not shown any gastro protective effect as an antisecretory agent, we proceeded with the assay of its antioxidant properties. Comparing the results of the EE with the control, it was observed that it has low antioxidant property, as it can be assumed by the results of the IVs: about 91% at a concentration of 0.5% for the control and 33.03% for the extract at the same concentration.

In conclusion, the ethanol extract of the aerial parts of *M. charantia* in a dosage of 500mg/Kg exerts a pro-kinetic effect upon the gastrointestinal transit in murine models and that its cytoprotective action may be associated with mechanisms others than acid neutralization , antisecretory activity or properties anti-oxidant.

Acknowledgements

Financial support from FUNCAP (Fundação Cearense de Amparo a Pesquisa) is gratefully acknowledged. We thank Prof. Davide Rodina for Statistical analysis.

References

- Arbos, J. A., Zegri, A., Lopez-Soriano, F. R.F., Argiles, J. M. A simple method for determining the rate of gastrointestinal transit in the rat. **Archive International of Physiology, Biochemistry and Biophysics**, v.101, p. 113-115, 1993.
- Anson, M.L. The estimation de pepsin, tripsin, papin and catepsin with hemoglobin. **Journal General Physiological**. v.22, p.78, 1938.
- Boothe, D.M. Anti-inflammatory drugs. IN: BOOTHE, D.M. **Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1st ed., 281-311, 2001.
- Costa, M. A., Andrada, C. L. L.,Vieira, R. F.; Sampaio, F. C. **Plantas & Saúde: guia introdutório à fitoterapia**. Brasília: Governo do Distrito Federal,. 88p. 1992.
- Goel, R.K & Bhattacharya, S.K. Gastroduodenal mucosal defense and mucosal protective agents. **Indian Journal of Experimental Biology**. v.29, p.701-714, 1991.
- Gurbuz, I.; Akyuz, C.; Sener, B. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. **Journal. of ethnopharmacology** v.71. p. 77-82, 2000.
- Jiratchariyakul, W.; Wiwat, C.; Vongsakul, M.; Somanabandhu, A .; Leelamanit, W.; Fujii, I.; Suwannaroj, N.; Ebizuca, Y. HIV inhibitor from Thai bitter gourd. **Planta medica**. v. 67.p. 350-353, 2001.
- Leite, K. L. Atividade gastroprotetora de *Momordica charantia* em modelos experimentais *in vivo*.**Dissertação de Mestrado**. Programa de Pós-Graduação em Ciências veterinárias, Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza, Ceará, Brasil, 2004.
- 9- LI , Y., MATSUDA, j., YOSHIKAWA, M.Acceleration of gastrointestinal transit by momordin Ic in mice: possible involvement of 5-hydroxytryptamine, 5-HT(2) receptors and prostaglandins. **European Journal of Pharmacology**. v.24, p.71-77, 2000.
- Matos, F. J. A. A validação de novas drogas e plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacologia**. v. 76, p. 90
- Matsuda, H., Li, Y.; Yamahara, J.; Yoshikawa, M. Inibition of gastric emptying by triterpene saponin, momordin Ic, in mice: Roles of blood glucose, capsaicin-sensitive sensory nerves, and central nervous system. **The journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 289. p. 729-734, 1999.
- Murakami, T.; Emoto, A; Matsuda, H.; Yoshikama, M. Medicinal foodstuffs.XXI. Structures of new cucurbitane-type triterpene glycosides, goyaglycosides a, b, c, d, e ,f and new oleanane-type triterpene saponins, goyasaponins I, II and III, from the fresh fruit of Japanese *Momordica charantia*. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**. v. 49.p. 54-63, 2001.
- Raman, A., Lau, C. Anti-diabetic propertiers and phytochemistry of *Momordica charantia* L. **Phytomedicine**, v. 2, p.349-362, 1996.
- Visscher, F.E., Sey, P.H., Tazelaar, A.P.Jr., Vedicamp, W., Vander Brook, M.J. Pharmacology of Pamine Bromide. **The journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v.1. p.188-204, 1954.
- Yepez, B.; Espinosa, M.; López, S.;Bolaños, g. **Fluid Phase Equilib**. 2002, 194-197, 879.
- Yesilada, E., Gurbuz, I., Shibata, H. tradiotional medicine in Turkey IX: folk medicine in

north-west Anatólia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 64, p. 199-206, 1999.

Artigo enviado para publicação

Antrum-pyloric ulcer induced by meloxicam in dogs – Original article

Marilac Maria Arnaldo Alencar*, Ivanilde Andrade Cândido, Adriana da Rocha Tomé,
Cátia Nascimento, Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro and Marcos Fábio Gadelha

Rocha

The Veterinary Journal, 2005

Antrum-pyloric ulcer induced by meloxicam in dogs – Original article

Marilac Maria Arnaldo Alencar^{*}, Diana Célia Sousa Nunes-Pinheiro, Marcos Fábio Gadelha Rocha, Ivanilde Andrade Cândido, Adriana da Rocha Tomé and Cátia Nascimento

^a Faculty of Veterinary, University of Ceará State, Av. Paranjana, 1700, CEP 60740-000, Campus do Itaperi, Fortaleza, Ceará, Brazil.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the use of meloxicam as an inducing experimental agent of ulcers in dogs. Fifteen male dogs, weighing between 8 and 16 kg, were used. All the animals were submitted to clinical and laboratory evaluation and an endoscopic examination. The animals were distributed in two groups: the control group was given water and the test group that was treated with meloxicam (1mg/kg) for 10 days. The endoscopic examinations of the gastric and duodenal mucosa were performed during the 5th and 10th days of the treatment with meloxicam. The examination of the control group on the 10th day did not reveal any clinical or laboratory alterations. However, all the animals in the test group presented gastrointestinal symptoms and alterations in the number of leukocytes of peripheral blood, and an increase in serum urea and creatinine levels. The autopsy revealed duodenitis and gastric ulcers in all the animals of the test group and of these 20% presented duodenal ulcer. The meloxicam induced antrum-pyloric ulcer in all the animals studied. The macroscopic alterations were confirmed by histopathological examination of these tissues. Based on these results an experimental model of gastroduodenal chronic ulcer in dog is recommended.

Keywords: Antrum-pyloric ulcer, meloxicam, dogs and experimental chronic model.

Introduction

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are among the most commonly implicated agents in chronic and recurrent gastric lesions. The ability of NSAIDs to cause ulceration and bleeding in the upper gastrointestinal tract has been recognized for over 60 years and has even been referred to as an “epidemic” (Gabriel and Bombardier, 1990). These drugs are known to produce anti-inflammatory effects mainly by inhibiting cyclooxygenase (COX) synthesis and thereby impairing prostaglandin genesis. In the 1990s two isoforms of COX were identified, COX-1 (constitutive enzyme) and COX-2 (inducible enzyme). The mediators stemming from COX-1-dependent arachidonic acid, as observed in some tissues, are represented mainly by prostaglandins (PGs) involved in renal, gastrointestinal, cardiovascular and reproductive physiology. On the other hand, COX-2 activity in inflammatory cells leads to the synthesis of pro-inflammatory PGs (Vane and Botting, 1995., Simon, 1999, Warner et al., 1999).

NSAID-induced gastric ulcers occur predominantly in the gastroduodenal region, particularly in the antrum, however the mechanism of antral ulcer formation remains unclear (McCarthy et al., 1999). A number of experimental models have been used to study NSAID-induced antral ulceration, some of which use carbamate (DDC) and highly acid solutions such as acetic and hydrochloric acid. However, the mortality of laboratory animals as well as the development of antral ulcers are subjects to considerable variation. NSAIDs may also cause injury to the body of the stomach and fail to satisfactorily mimic spontaneous antral ulceration as observed in the clinical setting (Okabe and Feiffer, 1972; Satoh et al., 1981; Hung, 2002). The intragastric presence in rats of highly concentrated hydrochloric acid may also produce antral ulcers while preserving the integrity of the mucous membrane of the body of the stomach. However, this model is not appropriate for studying. The behavior of the aggressive and defensive factors of the gastric mucous, which are

sensitive indicators of damage caused to parts of the antrum and gastric body cannot be evaluated (Hung, 2000).

In an earlier study, 1 mg / kg meloxicam (a COX-2 inhibitor) administered orally to the dogs for ten days induced ulcer in 100% of the animals (Alencar et al., 2003). In spite of the use of meloxicam as an anti-inflammatory drug, to the writers' knowledge no study has been published regarding its ulcerogenic potential in dogs. As the mechanism of NSAID-induced antral ulcer formation is still unclear and because most of the available models are based on induction of acute ulcers and not on spontaneous antral ulceration, the objective of this study was to evaluate the use of meloxicam as inductive experimental agent of ulcers in dogs.

Materials and Methods

Animals

In the present study, 15 adult male mongrel dogs were used. The dogs weighing between 8 and 16 kg, ranged from 2 to 5 years of age, were obtained from the local pound (Fortaleza, Ceará, Brazil). Prior to triage the animals were maintained were kept apart for three days with unrestricted access to commercial feed and water.

All the animals have been conducted in accordance with the guideline for care and use experimental animal of Brazilian College of Experimental Animal (COBEA). Ethics Committee of State University of Ceará, Fortaleza, Brazil, approved the protocol employed in this study.

Triage of animals

The clinical examination covered the following parameters: temperature, mucous membrane coloring, capillary refill, heart and lung sounds, palpation of abdomen and superficial lymphatic ganglions, secretions, excretions, appetite and behavior. The animals were subsequently submitted to gastroscopic and laboratory examinations, including a routine hematologic testing and renal function assessment (serum urea and creatinine levels). The animals with results in the normal range were dewormed with a single application of pyrantel pamoate in association with oxantel

pamoate and praziquantel (14.5, 9.5 and 2.5 mg/kg/*per os*, respectively). Finally, the dogs were kept under observation for seven days prior to initiating the treatment.

The gastric mucous membrane was examined endoscopically at baseline and on the 5th and 10th day of treatment, using a 1 m gastroscope coupled with a Ferrari power source and 250 W halogenic lamp. The animals were initially sedated intravenously with an association of 2% xylazine[®] (0.2 mg/kg), 5% ketamine[®] (0.08 mg/kg) and 0.8 mg/kg midazolam[®] in equal parts (1 mL of each drug and 7 mL of saline solution).

Experimental groups

The dogs were weighed and randomly assigned to either a control group (n=5), given distilled water, or a test group (n=10), given 1 mg of meloxicam[®] per kg of body weight per day. The total dose per animal was diluted grinding the tablets in 2 mL of distilled water and administered orally for 10 consecutive days.

During this period the animals were monitored for anorexia, vomiting, fecal consistency, temperature and behavior. On the 5th and 10th days, the animals were submitted to endoscopic examination for evaluation: hyperemia, edema, petechial, hemorrhage, patches of clotted blood and ulcers. On 11th day, after completion of the treatment blood samples were collected by jugular venopunction for laboratory tests (hematological parameters and serum urea and creatinine levels). The animals were then weighed and, respecting the ethical standards of experiments, sacrificed with rapid intravenous infusion of 50 mg/kg sodium thiopental[®].

The stomach and upper duodenum were removed by surgery. The former was opened along the greater curvature, rinse and checked for lesions (number, size and location). The upper part of duodenum was incised longitudinally and likewise checked for lesions. Stomach and duodenum samples were taken and placed in individual vials containing 10% formaldehyde for histopathological examination. The samples were used to prepare slides for hematoxylin and eosin staining.

Statistical analysis

All the results were expressed as percentage. The difference between baseline averages was compared to endpoint average of the control group and test group, was evaluated by one-way ANOVA, and followed by Dunnett's *t*-test. *P* values of < 0.05 were considered statistically significant.

Results

Animals in the control group (given water) displayed no significant clinical alterations, laboratory, macroscopical or histopathological changes through the experiment.

In the test group all the animals presented gastrointestinal symptoms. These symptoms started with bloody diarrhea seen around the 5th day of treatment and vomiting was observed after 7 days, continuing until the end of the experiment. All the animals presented reduction of body weight at last of treatment with meloxicam[®].

The second endoscopic evaluation, performed on 5th day of meloxicam[®] administration, revealed that 80% of the animals in the test group had already developed antrum-pyloric ulcers and hyperemia, while 20% had blood throughout the stomach, hyperemia and edema of the mucous membrane and antrum with patches of clotted blood. Petechia, ulcers and hemorrhagic areas were also seen in the upper part of the duodenum of the animals (Fig.1). By on 10th day all animals presented severe ulcerations in the antrum-pyloric region (Fig.2).

There were significant alterations ($P<0.05$) in the hematological parameters in the test group, indicating the presence of erythropenia and leukocytosis associated with neutrophilia (data not shown). Relative lymphopenia was also observed in 30% of the animals and elevated serum urea levels were seen in 60% (n=06) (data not shown). In addition, the creatinine level increased significantly in 20% of the dogs (data not shown).

During the necropsy of the animals treated with meloxicam, severe gastric ulcers in variable numbers and sizes were seen in antrum-pyloric region (Fig.3). All the dogs suffered from duodenitis and 40% also displayed duodenal ulcers (Fig 4).

The histopathological examination revealed ulcerative lesions in all medicated animals. The main microscopic changes observed in the stomach were

ulceration with destruction of the mucosal, muscular and submucosal layers (Fig.5). The deeper muscle layers remained intact. Areas with necrosis and granulocyte exudation were observed on the mucosal surface, while lymphocytes and macrophages were found at deeper levels. Connective tissue was observed filling the ulcerated areas.

Severe enteritis was detected in the duodenum (Fig.6), characterized by intense intestinal metaplasia, destruction of the superficial epithelium, destruction and erosion of the mucous membranes, as well as copious polymorphonuclear and lymphocyte infiltrates.

Discussion

The present study was prompted by absence to the writers' knowledge, of studies describing experimental models of COX-2-selective NSAID-induced gastric ulceration in dogs.

The results clearly show that meloxicam[®], administered at 1 mg/kg for 10 days, is capable of inducing antrum -pyloric ulcers in 100% of cases, thus confirming the adequacy of this drug as a pharmacological tool for investigating COX-2-selective NSAID-induced gastric ulceration.

Meloxicam[®] is an enol-carboxamide derivative related to the oxicams (piroxicam, tenoxicam and sudoxicam), with a selective inhibitory effect on COX-2 in the biosynthetic prostaglandin cascade. Studies in the rats have shown that meloxicam[®] is superior to conventional NSAID in terms of its anti-inflammatory effect and shows particularly good gastric tolerance (Engelhardt et al., 1995). However, Villegas et al. (2000) demonstrated that it could induce lesions associated with an increase of oxidative metabolism in rats. In dogs, meloxicam have shown selectivity for canine COX-2 (Ricketts et al., 1998).

In earlier studies evaluating the safety margin of meloxicam[®] in dogs, severe side effects were observed, particularly in the gastrointestinal tract, at a dosage of 1 mg per kg of live weight (Alencar et al., 2002; Alencar et al., 2003). This study evaluated the deleterious effects of meloxicam[®] on the gastrointestinal tract, hematological parameters and renal function with the purpose of developing an experimental model of chronic, COX-2-selective NSAID-induced antrum-pyloric

ulceration. The simple design of the model, easy to execute and reproduce, justifies its adoption in studies evaluating deleterious, NSAID-induced effects on the gastric mucous membrane.

Therapy with meloxicam significantly changed red and white blood cell counts, producing erythropenia, leukocytosis, neutrophilia and lymphopenia. Anemia secondary to gastric irritation and ulceration is commonly observed in dogs treated with NSAIDs (Boothe, 2001). The increase in the number of leukocytes suggests leukocytosis associated with neutrophilia, as observed in infections, immunomediated inflammation, tissue necrosis and severe hemolysis (Silveira, 1988). The extensive gastric and duodenal lesions observed in this study account for the changes in blood count of dogs treated with 1 mg/kg meloxicam[®].

In the test group, 80% and 30% of the animals presented significant changes in their serum levels of urea and creatinine, respectively. As NSAIDs inhibit the genesis of important vasodilating prostanoids, such as PGI₂ and PGE₂, they cause the renal blood flow and glomerular filtration rate to decrease and may actually lead to acute renal failure. Prolonged use of NSAIDs has also been associated with papillary necrosis and chronic renal failure (Kore, 1990; Khan et al., 1988; Lobetti and Joubert, 2000). Serum urea and creatinine levels are used as renal function parameters during triage (Ettinger and Feldman, 1997, Coelho et al., 2001).

The findings of this study clearly show, that in the proposed ulceration model, changes observed in hematological parameters and renal function may be used to determine the deleterious systemic effects of meloxicam[®] administration.

Meloxicam induced antro-pyloric ulcers in 100% of the dogs. This result agrees with findings published by Leicondre (1999) who reported that ulcers induced by anti-inflammatory drugs, as observed endoscopically, were primarily located in the antrum-pyloric region assuming the form of multiple erosions with adjacent hemorrhagic areas. The clinical evaluation of COX-1 or/and COX-2 selectivity of NSAIDs may be performed by endoscopically checking for gastroduodenal ulcers or by observing the therapeutic effects of anti-inflammatory concentrations (Kulkarni et al., 2000). In the present case, the endoscopic examination of the gastric mucous membrane, showing that lesions had appeared by the 5th day of treatment, indicates that 1 mg/kg meloxicam[®] is highly injurious to the mucous membrane of the stomach and that destruction tends to progress with prolonged use.

Recent findings have shown that prostacycline synthesis in humans occurs primarily by way of COX-2. Prostacycline is a potent vasodilator and platelet anti-aggregating agent. COX-2 suppression can lead to disturbances in gastrointestinal microcirculation after administration of COX-2-selective inhibiting agents. The administration of a COX-2-selective inhibitor (celcoxib[®]) produces a significant degree of neutrophil adherence in the vascular endothelium of postcapillary mesenteric venules in rats, the magnitude being the same following administration of conventional NSAIDs (Wallace, 2001).

In a recent experiment using a prostaglandin analog (misoprostol[®]) no cytoprotective effects were observed in dogs medicated with 1 mg/kg meloxicam[®]. Thus, comparing ours findings with those of Wallace (2001), the deleterious effect of meloxicam[®] may be associated with a considerable degree of COX-2 suppression leading to the suppression of prostacycline production.

While testing a number of COX-1-selective inhibiting NSAIDs (indomethacin, naproxen and aspirin) in pigs in a setting much like ours, Rainsford et al. (2003) found that all their animals presented ulcers or superficial mucosal lesions in the fundus and antrum of the stomach, although only indomethacin would have induced cecal ulcers. In the present study 1 mg/kg meloxicam[®] not only caused ulcers to develop in the antrum-pyloric region alone, but also caused duodenitis in 100% and duodenal ulcers in 20% of the animals. The presence of duodenal ulcers may be associated with the entero-hepatic circulation of the drug (Corruzi *et al*, 2004., Reuter et al., 1997) or with excessive COX-2 suppression. COX-2 inhibition in experimental colitis in rats significantly aggravated colon damage and eventually produced intestinal perfuration and death ().

The findings of the present study are important in that they contribute to current knowledge of NSAID-related gastrointestinal pathophysiology. This ulceration model may be useful in the investigation of important clinical factors implicated in the development of gastroduodenal ulcers in other animal species and humans. The study also suggests the possibility of testing news drugs for cytoprotective and/or anti-ulcerogenic activity using a model of chronic ulceration.

Acknowledgements

We thank the CAPES and FUNCAP for financial support.

References

- Alencar, M.M.A., Pinto, M.T., Oliveira, D.M., Pinho, W.A.P., Cândido, I.A., Virgínio, C.G., Coelho, H.S.M. Rocha, M.F.G., 2003. Margem de segurança do meloxicam: efeitos deletérios nas células sangüíneas e trato-gastrointestinal. *Ciência Rural* 38, 625-532.
- Alencar, M.M.A., Pinto, M.T., Oliveira, D.M., Pinho, W.A.P., Cândido, I.A., Virgínio, C.G., Coelho, H.S.M. Rocha, M.F.G., 2002. Avaliação da atividade farmacológica do meloxicam sobre a função renal em cães. *Ciência Animal* 12, 25-33.
- Boothe, D.M., 2001. Anti-inflammatory drugs. In: Boothe, D.M. *Small Animal Clinical Pharmacology and Therapeutics*. First ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 281-311.
- Coelho, B.M.P., Ikesaki, J.Y.H., Simões, D.M.N., Kanayama, L.M., Guerra, J.L., Kogika, M.M., 2001. Insuficiência renal crônica em cães jovens: Estudo clínico de 25 casos. *Clínica Veterinária* 33, 52-56.
- Coruzzi, G., Menozzi, A., Dobrilla, G., 2004. Novel Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: What we have learned from animal studies. *Current Drug Targets-Inflammation & Allergy* 3, 43-61.
- Engelhardt, G., Homma, D., Schlegel, K., Utzmann, R., Schnitzer, C., 1995. Anti-inflammatory, analgesic, antipyretic and related properties of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory agent with favorable gastrointestinal tolerance. *Inflammation Research*, 44, 423-433.
- Ettinger, S. J., Feldman, E. C., 1997. Sistema Urinário. In: *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 4ª ed., Manole, São Paulo, 2355-2374.
- Gabriel, S.E and Bombardier, 1990. NSAID induced ulcers. An emerging epidemic?. *Journal of Rheumatology*, 17, 1-4.
- Hung, C.R., 2000. Importance of histamine, glucathione and oxyradicals in modulating hemorrhagic ulcer in septic rats. *Clinical Experimental Pharmacology and Physiology*, 27, 306-312.
- Hung, C. R., 2002. Experimental antral ulcer and several protective drugs. *Inflammopharmacology* 10, 375-384.
- Khan, K.N., Venturini, C.M., Bunch, R.T., Brassard, J.A., Koki, A.T., Morris, D.L., Trump, B.F., Maziasz, T.J., Alden, C.L., 1988. Interspecies differences in renal localization of cyclooxygenase isoforms: implications in nonsteroidal antiinflammatory drug-related nephrotoxicity. *Toxicology and Pathology* 26, 612-620.
- Kore, A.M., 1990. Toxicology of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Veterinary Clinical North American Small Animal Practice* 20, 419-430.
- Kulkarni S.K, Jain, N.K., Singh, A., 2000. Cyclooxygenase isoenzymes and newer therapeutic potential for selective COX-2 inhibitors. *Methods Finding Experimental Clinical Pharmacology* 22, 291-298.

Leicondre, P., 1999. Atlas de endoscopia gastrointestinal en perros y gatos. Waltham Focus 9, 2-9.

Lobetti, R.G., Joubert, K.E., 2000. Effect of administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs before surgery on renal function in clinically normal dogs. American Journal of Veterinary Research 61, 1501-1507.

McCarthy, C. J., Crofford, L. J., Greenson, J. Scheiman, J.M., 1999. Cyclooxygenase-2 expression in gastric antral mucosa before and after eradication of *Helicobacter pylori* infection. The American Journal of Gastroenterology 94, 1218-1223.

Okabe, S., Pfeiffer, C.J. 1972. Chronicity of acetic acid ulcer in the rat stomach. American Journal Digestive Diseases 17, 619-629.

Rainsford, K.D., Stesko, P. I., Sirko, S.P., Debeski, S., 2003. Gastrointestinal mucosal injury following repeated daily oral administration of conventional formulations of indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs to pigs: a model for human gastrointestinal disease. Journal of Pharmacy and Pharmacology 55, 661-668.

Reuter, B.K., Davies, N.M., Wallace, J.L., 1997. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs enteropathy in rats: role of permeability , bacteria and enteropathic circulation. Gastroenterology 112, 109-117.

Ricketts, A.P., Lundy, K.M., Seibel, S.B., 1998. Evaluation of selective inhibition of canine cyclooxygenase 1 and 2 by carprofen and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. American Journal of Veterinary Research 59, 1441-1446.

Satoh, H., Inada, I., Hirata, T., Maki, Y., 1981. Indomethacin produces gastric antral ulcers in the refeed rat. Gastroenterology 81, 719-725.

Silveira, J. M, 1988. Bioquímica Clínica. IN: SILVEIRA, J. M. Patologia Clínica Veterinária: Teoria e Interpretação. 1ª edição, Ed. Guanabara, Rio de Janeiro, 86-97.

Simon, L.S., 1999. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. American Journal of Medicine 106, 37S-42S.

Uchida, M., Takayma, M., Kato, Y. et al., 1999. A novel method to produce extensive gastric antral ulcer in rats: Pharmacological factors involved in the etiology of antral ulceration. Journal of Physiology (Paris) 93, 437-442.

Vane, J.R., Botting, R.M., 1998. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. American Journal of Medicine 104, (3A), 2-8.

Villegas, I., Martín, M. J., La Casa, C., Motilva, V., Alarcon de la Lastra, C., 2000. Effects of meloxicam on oxygen radical generation in rat gastric mucosa. Inflammation Research 49, 361-366.

Wallace, J., 2001. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 15, 691-703.

Warner, T.D., Giuliano, F., Vojnovic, I., Bukada, A., Mitchell, J.A., Vane, J.R., 1999. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase -1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full *in vitro* analysis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96, 7563-7568.

Figure List

Fig. 1 - Endoscopic view of duodenal area showing intense hyperemia and duodenitis.

Fig. 2 - Endoscopic view of antrum-pyloric area of test group showing ulcers and edema.

Fig. 3 - Macroscopic view of antrum-pyloric area of test group showing ulceration.

Fig. 4 - Macroscopic view of duodenal showing ulcers and mucosal hyperemia.

Fig. 5 - Histological aspect of antrum-pyloric area. Margin of the ulcer and reminiscent mucosa. Lumen showing inflammatory cellular debris. H&E. 20x.

Fig. 6 - Histological aspect of duodenal section showing destruction of the mucosal vilosities and crypts. Epithelial reminiscent with fibrin, inflammatory and necrotic cells. H & E. 20x.

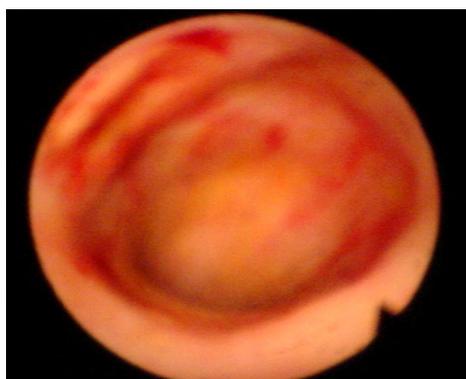


Fig.1-Endoscopic view of duodenal area showing intense hyperemia and duodenitis.



Fig-2: Endoscopic view of antrum-pyloric area of test group showing ulcers and edema.



Fig. 3 - Macroscopic view of antrum-pyloric area of test group showing ulceration.



Fig. 4 - Macroscopic view of duodenum showing ulcers and mucosal hyperemia.

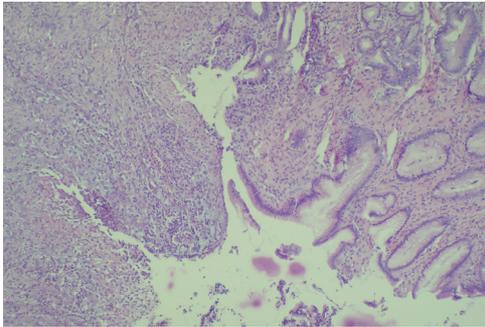


Fig. 5 - Histological aspect of antrum-pyloric area. Margin of the ulcer and reminiscent mucosa. Lumen showing inflammatory cellular debris. H&E. 20x.

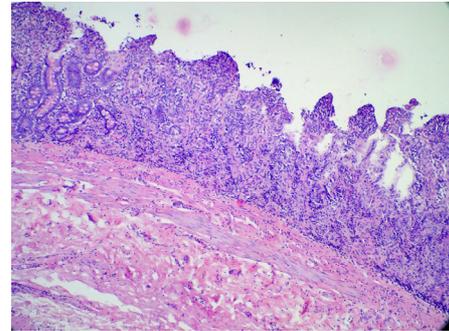


Fig. 6 - Histological aspect of duodenal section showing destruction of the mucosal villi and crypts. Epithelial