

UNIVERSIDADE JOSÉ DO ROSÁRIO VELLANO  
COORDENAÇÃO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA  
GÁSTRICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA  
SEMENTE DE GIRASSOL  
(*Helianthus annuus* Linné)**

JUSLENE APARECIDA OLIVEIRA DA COSTA

UNIVERSIDADE JOSÉ DO ROSÁRIO VELLANO  
COORDENAÇÃO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA  
GÁSTRICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO  
DA SEMENTE DE GIRASSOL  
(*Helianthus annus* Linné)**

JUSLENE APARECIDA OLIVEIRA DA COSTA

Dissertação apresentada à Coordenação de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade José do Rosário Vellano, como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde.

**Orientadora:** Dra. Ana Maria Duarte Dias Costa

**Co-Orientador:** Ms. Fábio de Souza Terra

**Colaborador:** Dr. Marcelo Fabiano Gomes Boriollo

Ms. Evelise Aline Soares

Alfenas - MG

2009

Costa, Juslene Aparecida Oliveira.

Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (*Helianthus annus linné*) / Juslene Aparecida Oliveira da Costa. – Afeñas: UNIFENAS, 2009.

82p.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Maria Duarte Dias Costa  
Dissertação (Mestrado em Saúde) – Universidade José do Rosário Vellano, 2009.

Referências bibliográficas: f.73-81.

1. *Helianthus annus* 2. Úlcera gástrica 3. Cimetidina  
4. Indometacina. 5. Estresse 6. Proteção gástrica. I. Título.

CDU: 665.347.8 (043)

## *Certificado de Aprovação*

**TÍTULO:** "Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (*Helianthus annus Linné*)"

**AUTORA:** Juslene Aparecida Oliveira da Costa

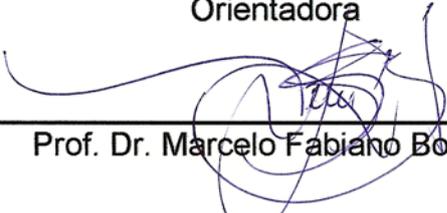
**ORIENTADORA:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Maria Duarte Dias da Costa

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **MESTRE EM SAÚDE** pela Comissão Examinadora.



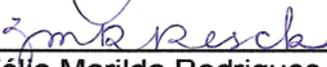
---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Maria Duarte Dias da Costa  
Orientadora



---

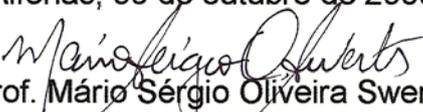
Prof. Dr. Marcelo Fabiano Boriollo



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Zélia Marilda Rodrigues Resck

Alfenas, 09 de outubro de 2009



Prof. Mário Sérgio Oliveira Swerts  
Supervisor de Pesquisa e Pós-graduação

*Dedico este trabalho aos meus pais pelo apoio e otimismo. A minha querida filha e  
ao meu esposo pela compreensão e incentivo.*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Senhor, meu Deus, por minha vida e pelas oportunidades de crescimento pessoal e profissional que me foram dadas durante esses anos, pela força, coragem, fé, e dedicação para vencer os obstáculos encontrados durante essa caminhada.

Aos meus pais, Homero e Catarina, essências de minha vida, obrigada pelo encorajamento e apoio incansável durante a execução do meu trabalho e por ter me ensinado a lutar por meus objetivos. Amo vocês!

A minha filha Fernanda, por aceitar minha ausência, meu amor incondicional.

Ao meu esposo, Luiz Fernando, pelo incentivo e por compreender os momentos de ausência.

Aos meus familiares. Obrigada por terem incentivado e apoiado a minha jornada e desculpe pela ausência em momentos importantes.

À Universidade José do Rosário Vellano, na pessoa da Magnífica Reitora Dra. Maria do Rosário Araújo Velano, por tornar esse sonho realidade.

À Profa. Dra. Ana Maria, pela capacidade e boa vontade com que acompanhou esta orientação, pelo estímulo constante, dinamismo e bom humor. Sua atuação se fez presente em todas as etapas deste processo. Obrigada pela confiança e por acreditar em meu potencial.

A Profa. Ms. Cláudia, pela atenção, compreensão e auxílio.

Ao Prof. Vinícius, pela excelente colaboração.

A Lucimara, pelo auxílio durante a execução dos experimentos.

Ao Prof. Ms. Fábio, pela cooperação, equilíbrio, paciência, e disponibilidade na empreitada. Seu exemplo de seriedade, serenidade, sua linha de raciocínio e inteligência muito me ajudaram.

Ao Prof. Dr. Marcelo, pela colaboração e cooperação.

À Profa. Ms. Evelise, pela atenção e colaboração.

À Profa. Andréia Cristina, pela colaboração.

À Profa. Márcia Romão pela colaboração e incentivo.

Ao Sr. João e Sr. Gentil pela colaboração em ceder os animais em tempo hábil, pois sem eles não seria possível a realização deste.

Aos professores do mestrado, pelos ensinamentos transmitidos de maneira primorosa durante todo o curso.

Aos meus colegas do curso, amigos de quem eu sempre me lembrarei com carinho.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para meu êxito diante de mais um desafio.

A DEUS, por me oferecer todos os motivos para agradecer.

A todos vocês minha eterna gratidão.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – pHmetro .....	23
FIGURA 2 - <i>Helianthus annuus</i> .....	24
FIGURA 3 - Estrutura Química da Cimetidina .....	39
FIGURA 4 – Estrutura Química do Etanol .....	46
FIGURA 5 – Remoção do estômago e do conteúdo gástrico .....	57
FIGURA 6 - Tubo contensor .....	59
FIGURA 7 – Fotografia do estômago e inserção no <i>software ImageLab</i> .....	59
FIGURA 8 – Técnica da ligadura pilórica .....	61

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) sobre as lesões gástricas induzidas por estresse em ratos ..... 63

TABELA 2 - Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em ratos..... 65

TABELA 3 - Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos ..... 66

TABELA 4 - Efeitos do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) sobre o pH gástrico de ratos, utilizando os modelos de adição de água e resíduo gástrico puro e a correlação entre esses modelos ..... 68

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AAS – Ácido Acetil Salicílico
- ADH – Hormônio Antidiurético
- AGE – Ácido Graxo Essencial
- AINEs – Anti-inflamatórios não Esteróides
- AI – Ácido linoléico
- ANOVA – Análise de Variância
- CO<sub>2</sub> – Dióxido de Carbono
- CEME – Central de Medicamentos
- COX – Cicloxigenase
- ADN – Ácido Desoxirribonucléico
- EGF – Fator de Crescimento Epidérmico
- EHSG – Extrato Hidroalcoólico de Semente de Girassol
- EUA – Estados Unidos da América
- SFA – Síndrome Fetal Alcoólica
- FGF – Fator de Crescimento Fibroblástico
- GABA – Ácido Gama-Aminobutírico
- DRGE – Refluxo Gastro-Esofágico
- HDL – Lipoproteínas de Alta Densidade
- IGF – Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
- IL-1 – Interleucina Tipo 1
- IL-6 – Interleucina Tipo 6
- SOG – Sondagem Orogástrica

Kcal/g – Quilocaloria por Grama

LDL – Lipoproteínas de Baixa Densidade

LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub> e LTD<sub>4</sub> – Leucotrienos

LTDA – Limitada

MALT – Tecido Linfóide Associado à Mucosa

mg – Miligrama

ml – Mililitro

OMS – Organização Mundial de Saúde

PA – Pressão Arterial

PDGF – Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub> – Prostaglandinas

pH – Potencial Hidrogeniônico

PMNs – Leucócitos Polimorfonucleares

SNC – Sistema Nervoso Central

SNE – Sistema Nervoso Entérico

SP – São Paulo

TFG  $\beta$  – Fator transformador

TGF $\alpha$  – Fator transformador de crescimento alfa.

TNF $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral

VLDL – Lipoproteína de muito baixa densidade

vo – Via Oral

% – Porcentagem

## RESUMO

OLIVEIRA, Juslene Aparecida. **Avaliação da Atividade Protetora Gástrica do Extrato Hidroalcoólico da Semente de Girassol**. Orientadora: Ana Maria Duarte Dias Costa. Co-orientador: Fábio de Souza Terra. Alfenas: UNIFENAS, 2009. Dissertação (Mestrado em Saúde).

*Helianthus annuus* é uma planta conhecida como “girassol”. A utilização das plantas, como medicamento para o tratamento das enfermidades que acometem a espécie humana remonta à idade antiga. O uso do extrato hidroalcoólico de semente de girassol (EHSG) para lesões gástricas é utilizado de forma indiscriminada, sem base em estudos científicos que tenham validado sua ação. O presente estudo tem como objetivo comparar quantitativamente e qualitativamente a provável proteção gástrica do EHSG com a cimetidina, frente ao estresse, ao uso da indometacina e do etanol e o pH gástrico por meio da ligadura pilórica (resíduo gástrico puro e com adição de água). Foram estudados 120 ratos (5 em cada grupo) da espécie *Rattus norvegicus albinus*, com peso de 150-230g, divididos em 24 grupos distintos, os quais receberam o EHSG nas dosagens de 250mg/kg, 500mg/kg, 1000mg/kg e 2000mg/kg, etanol 0,5ml, cimetidina 150mg/ml, indometacina 20mg/Kg e água 1ml. Estes grupos foram submetidos à associação da cimetidina com etanol e indometacina, às 4 dosagens do EHSG com etanol 70% e indometacina, aos grupos submetidos à ligadura pilórica e administração de água, cimetidina e às 4 dosagens de EHSG. As análises estatísticas dos resultados foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA), seguidas pelo teste de Tukey, para avaliação das lesões no estômago, e Kruskal-Wallis, seguido pelo teste Dunn, para avaliação do pH do estômago, utilizando diferença estatisticamente significativa para  $p < 0,05$ . O presente trabalho foi encaminhado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano, com o protocolo 04 A / 2009. Os resultados do estudo mostraram que o EHSG nas dosagens 250 e 1000mg/kg sugerem proteção contra as lesões gástricas no estresse. No modelo de indução de úlcera gástrica por etanol, as dosagens de 250 e 1000 mg/kg apresentaram provável proteção gástrica; no grupo utilizando EHSG 250 mg/kg + indometacina, a dosagem de 250 mg/kg sugere proteção gástrica. Em relação ao valor de pH, o resíduo gástrico, quando verificado puro, mostrou-se mais ácido que pelo modelo da adição de água, significando que este último aumentou o pH, verificando assim que o modelo do resíduo gástrico puro é mais indicado e mais prático. Portanto, os resultados obtidos no presente estudo apontam provável efeito protetor gástrico do EHSG em determinadas doses. Assim, pode-se concluir que a planta em questão constitui interessante alvo de estudo, visando ao desenvolvimento de fitomedicamentos ou à busca de novas entidades químicas com ação antiulcerogênica.

**Palavras-chave:** 1. *Helianthus annuus*. 2. Úlcera Gástrica. 3. Cimetidina. 4. Indometacina. 5. Estresse. 6. Proteção Gástrica.

## ABSTRACT

*Helianthus annus* is a plant known as "sunflower". The use of plants as medicine for human use dates back to the old age. The hydroalcoholic extract of sunflower seed (HESS) has been indiscriminately used for gastric lesions, without scientific support to validate their action. This study assessed quantitatively and qualitatively the probable gastric protection of HESS in stress, and in the use of ethanol and indomethacin; checked the acidity (pH) through the gastric pylorus ligation (gastric residue, either pure or added with water); and compared differences in pH values in both techniques. A total of 120 rats (5 in each group) of the species *Rattus norvegicus albinus*, weighing 150-230g, were divided into 24 groups, which received the following treatments: HESS: 250mg/kg, 500mg/kg, 1000mg/kg and 2000mg / kg; ethanol; cimetidine; indomethacin; water; cimetidine and ethanol; cimetidine and endomethacin; pylorus ligation and water; pylorus ligation and cimetidine; HESS and ethanol; HESS and indomethacin; pylorus ligation and HESS. The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test for evaluation of gastric lesions, and Kruskal-Wallis test followed by Dunn, to evaluate the gastric pH, with a statistically significance at  $p < 0.05$ . This work was approved by the Ethics Committee of the Universidade José do Rosário Vellano, with protocol no. 04 A / 2009. The results showed that HESS 250 mg/kg and 1000mg/kg suggests probable gastric protection in stress. In the ethanol-induced gastric ulcer model, the doses of 250 and 1000 mg / kg showed probable gastric protection; the HESS 250 mg / kg + indomethacin, the dose of 250 mg / kg suggests gastric protection. Regarding the pH, the gastric residue, when pure, is more acidic than water, thus indicating that the model of addition of 3 ml of water is increasing the pH, thus proving that the pure pH model is more appropriate and more practical. Therefore, the data obtained in this study show that HESS probably provides gastric protection at certain doses. So, the results show that the sunflower, should be further studied for the development of phytomedicines or new chemicals with antiulcerogenic activity.

Keywords: 1. *Helianthus annus*. 2. Stomach ulcer. 3. Cimetidine. 4. Indomethacin. 5. Stress. 6. Gastric protection.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	14
2	OBJETIVOS .....	16
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
3	JUSTIFICATIVA.....	17
4	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
4.1	UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS .....	18
4.2	pH GÁSTRICO.....	22
4.3	GIRASSOL.....	24
4.3.1	Receptores e ações.....	29
4.3.2	Propriedades do ácido linoléico .....	30
4.3.3	Ação celular do óleo de girassol.....	32
4.4	ÚLCERA PÉPTICA .....	35
4.4.1	Etiologia da úlcera péptica .....	37
4.5	PROTETOR GÁSTRICO .....	39
4.5.1	Cimetidina .....	39
4.6	AGRESSORES GÁSTRICOS.....	41
4.6.1	Indometacina .....	41
4.6.2	Etanol .....	45
4.6.2.1	Metabolismo do Etanol .....	49
4.6.2.2	Problemas clínicos no etilista .....	50

4.6.2.2.1	Azia .....	51
4.6.2.2.2	Náuseas/Vômitos .....	51
4.6.2.2.3	Dor abdominal .....	51
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>54</b>
<b>5.1</b>	<b>TIPO DE ESTUDO .....</b>	<b>54</b>
<b>5.2</b>	<b>MATERIAL .....</b>	<b>54</b>
<b>5.2.1</b>	<b>Drogas e soluções.....</b>	<b>54</b>
<b>5.2.2</b>	<b>Animais .....</b>	<b>54</b>
5.2.2.1	Grupos de Animais utilizados no Estudo .....	55
<b>5.3</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>56</b>
<b>5.3.1</b>	<b>Lesões gástricas induzidas por Etanol .....</b>	<b>56</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Lesões gástricas induzidas por Indometacina .....</b>	<b>57</b>
<b>5.3.3</b>	<b>Lesões gástricas induzidas pelo estresse .....</b>	<b>58</b>
<b>5.3.4</b>	<b>Determinação do índice de úlceras .....</b>	<b>59</b>
<b>5.3.5</b>	<b>Método da ligadura pilórica para avaliação do pH gástrico .....</b>	<b>60</b>
5.3.5.1	Modelo do pH com acréscimo de água .....	61
5.3.5.2	Modelo do resíduo gástrico puro .....	61
<b>5.4</b>	<b>AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA.....</b>	<b>62</b>
<b>5.5</b>	<b>ASPECTOS ÉTICOS .....</b>	<b>62</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>63</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>81</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A história da cicatrização das feridas e o emprego da fitoterapia na sua reparação são tão antigos quanto a história da humanidade. As utilizações de plantas medicinais na prática datam desde 2.500 anos, muitas destas mencionadas em textos chineses ou ensinamentos budistas. Na natureza existem milhares de plantas com ação farmacológica. O Brasil, nesse aspecto, caracteriza-se por possuir grande riqueza de plantas, apesar de a maioria delas ser utilizada sem embasamento científico. Dentre os vários fitoterápicos utilizados pela população, encontramos o *Helianthus annus* Linné (girassol). As plantas medicinais, além de serem a maior fonte de matéria-prima para a descoberta de novas moléculas, são também um recurso natural potencialmente ativo na forma de fitoterápico (FONTE, 2004).

A úlcera péptica constitui desordem do trato gastrointestinal que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, e tem sido, há bastante tempo, uma das causas mais importantes de morbidade e mortalidade (BIRDANE *et al.*, 2007).

O girassol (*Helianthus annus* Linné) é uma planta originária do México e cresce bem na Europa central e na Rússia meridional, necessitando de muito sol e de umidade. As suas sementes possuem em seu óleo, ácido oléico e uma grande abundância de ácidos graxos insaturados, especialmente o ácido linoléico, que melhoram a quimiotaxia de leucócitos polimorfonucleares após injúria tecidual (MARQUES *et al.*, 2004).

A eficácia dos ácidos graxos essenciais em problemas relacionados com lesões de pele provocadas pela diminuição dos níveis de ácidos graxos na alimentação, como por exemplo, a cura dessas alterações mediante a sua aplicação

tópica, tem sido observada desde 1929 (BURN, 1929; BURN 1930; LINN e SHERPHED, 1986).

Vale mencionar que os benefícios cicatriciais e as ações do óleo de girassol rico em triglicérides de cadeia média, confirmaram-se como a base para o desenvolvimento de compostos promotores da aceleração no processo de cicatrização de lesões de pele e mucosas (DECLAIR e CARMONA, 1994; JEZYK , 1977).

É importante destacar que os riscos de lesões gástricas em pacientes que utilizam AINES convencionais são altos, devido aos seus efeitos colaterais decorrentes da inibição da biossíntese de prostaglandinas gástricas, que funcionam como substâncias de proteção da mucosa. A indometacina, introduzida em 1963, é um potente antiinflamatório inibidor não seletivo da ciclooxigenase constitutiva presente no corpo e é responsável por funções fisiológicas importantes (SÜLEYMAN, DEMIRCAN e KARAGÖZ, 2007).

Vale enfatizar que, após a ingestão do etanol, a maior parte do álcool é absorvida pelo intestino delgado (80%) e estômago (20%), e rapidamente distribuído pelo organismo devido à sua alta solubilidade em água. Assim os antiinflamatórios não esteróides, quando combinados com álcool, podem aumentar os riscos para o sangramento gastrointestinal por lesões à mucosa gástrica e aumento no tempo de sangramento (EMANUELE, WEZEMAN e EMANUELE, 2002).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a possível atividade gastroprotetora do extrato hidroalcoólico de sementes do girassol (*Helianthus annuus* Linné) em *Rattus norvegicus albinus*, variedade Wistar.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Verificar a atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico de sementes de girassol por meio do modelo de lesões gástricas agudas induzidas pelo estresse.
- Verificar a atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico de sementes de girassol por meio do modelo de lesões gástricas agudas induzidas pelo etanol.
- Verificar a atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico de sementes de girassol por meio do modelo de lesões gástricas agudas induzidas pela indometacina.
- Verificar a acidez (pH) gástrica por meio do método da ligadura pilórica (resíduo gástrico puro e com adição de água) e comparar diferenças dos valores do pH em ambos os modelos.

### 3 JUSTIFICATIVA

Atualmente, o desenvolvimento de fitoterápicos tem recebido muita atenção tanto por parte da comunidade científica quanto pelas indústrias farmacêuticas. Apesar da grande aceitação e seu extenso uso terapêutico pela população em geral, principalmente a de baixa renda, as plantas medicinais têm sido relativamente pouco avaliadas cientificamente, sendo, dessa forma, necessários estudos mais detalhados no sentido de verificar e assegurar sua qualidade, segurança e eficácia.

Os produtos naturais apresentam-se como fonte de compostos com potencial de atividade biológica, assim, a descoberta de protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos ou de novos agentes terapêuticos representa uma possibilidade para o tratamento de patologias gástricas e processos inflamatórios associados à dor, podendo determinar uma melhor qualidade de vida para os pacientes.

O emprego do *Helianthus annuus* Linné na medicina popular tem sido ancorado em sua provável propriedade citoprotetora gástrica, justificando a necessidade de trabalhos científicos que comprovem tal fato.

## 4 REVISÃO DE LITERATURA

### 4.1 UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS

As plantas medicinais correspondem, incontestavelmente, às mais antigas armas empregadas no tratamento de enfermidades humanas e de animais. Etimologicamente, fitoterapia significa tratamento por meio das plantas e deriva de duas palavras gregas, a saber: *phyton*, que significa planta, e *therapeia*, que encerra a idéia de tratamento (OLIVEIRA e AKISUE, 1997).

Foi através da observação e da experimentação pelos povos primitivos que as propriedades terapêuticas de determinadas plantas foram sendo descobertas e propagadas de geração em geração, integrando este conhecimento à cultura popular (DI STADI, 2003).

Planta medicinal é todo vegetal que contém em um ou vários de seus órgãos substâncias que podem ser empregadas para fins terapêuticos ou precursores de substâncias utilizadas para tais fins. Chama-se de parte usada do vegetal os órgãos vegetais nos quais estas substâncias ocorrem em quantidades maiores, e, por esta razão, são empregadas como matéria-prima do medicamento. Definem-se como princípios ativos as substâncias quimicamente definidas presentes nas matérias-primas e nos fitoterápicos responsáveis pela atividade farmacodinâmica, ou seja, pelos efeitos terapêuticos desses materiais. Chama-se produto fitoterápico todo medicamento obtido e elaborado empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais ativas com finalidade curativa ou profilática, com benefício para o usuário (OLIVEIRA e AKISUE, 1997).

Os medicamentos precisam ser ao mesmo tempo eficazes seguros e de custo acessível a todos. Um “sopro” vivificador alcançou a fitoterapia em 1978. A Assembléia Geral da Organização Mundial de Saúde (OMS) deu início a um programa em que se dava ênfase ao uso de plantas medicinais. O objetivo maior da OMS era alcançar a meta “Saúde para Todos no Ano 2000”. O estudo de plantas medicinais começou a ser incentivado. No Brasil, a Central de Medicamentos (CEME) elaborou a lista de plantas destinadas a serem pesquisadas em suas propriedades medicinais. A grande variedade de espécies vegetais, atributo da flora brasileira, fez com que a atenção de pesquisadores do mundo inteiro se voltasse para o Brasil.

Muitas plantas possuem princípios tóxicos, e o uso indiscriminado de plantas pode trazer problemas. Portanto, o controle de qualidade dos fitoterápicos é necessidade que se impõe. Desde que os problemas mencionados sejam resolvidos, a fitoterapia poderá contribuir muito a favor da saúde, tanto humana como animal (OLIVEIRA e AKISUE,1997).

Manuscritos dos hebreus e chineses descrevem com detalhes sobre 2000 ervas, que são até hoje úteis (VINATURO, 2001).

Na história da humanidade, as plantas sempre foram utilizadas como instrumentos de cura para o tratamento de diversas enfermidades, representando muitas vezes o único recurso de muitas comunidades e grupos étnicos. No início dos tempos, o homem lançava-se de forma empírica às fontes vegetais em busca de soluções para seus males. Com o passar dos anos e com o avanço da ciência, muitos destes usos foram se confirmando. O resgate da sabedoria popular de uso terapêutico de plantas passou a oferecer um suporte científico para o desenvolvimento de novos medicamentos (LÉVESQUE e LAFONT, 2000).

A história da utilização de vegetais pelo homem é tão antiga quanto sua própria existência. O primeiro uso era para a nutrição, mas, a seguir, as propriedades medicinais das ervas foram descobertas (DI STADI, 2003).

Nos impérios grego e romano, houve os processos de expansão para o uso terapêutico das ervas. Galênico descreveu, no segundo século, cerca de trinta papéis e receitas com extratos ervais que possuíam finalidades medicinais. Paracelsus, no século XVI, realizou uma importante contribuição ao estudo de ervas aromáticas e medicinais, introduzindo as ervas “a um banho quente” (ainda utilizado na Romênia, no Instituto Geriátrico Ana Aslan). No século XIX, investigadores franceses estenderam suas pesquisas no campo de produtos naturais, para obtenção de extratos, dirigidos pela demanda do crescimento de perfumes. Em Bucarest (1700), o Hospital Coltea incluiu a venda de plantas medicinais em sua farmácia. No século XIX, os produtos naturais foram introduzidos na farmacopéia romena, e em 1904 foi fundado o primeiro Instituto de Plantas na cidade de Cluj (CRUZ, 1982).

As plantas podem fornecer compostos capazes tanto de reduzir fatores agressivos como aumentar a resistência da mucosa gástrica simultaneamente (em sinergismo), possibilitando o tratamento das ulcerações gástricas com maior eficácia (BORRELLI e IZZO, 2000). Além disso, os produtos naturais também podem contribuir para a terapêutica dos distúrbios gástricos, através de tratamentos mais acessíveis, atendendo uma grande parcela da população brasileira (70-80%) que não tem poder aquisitivo suficiente para participar do mercado consumidor (FERREIRA, 1998).

As plantas medicinais correspondem, incontestavelmente, às mais antigas armas empregadas no tratamento de enfermidades humanas e de animais. Houve

época, entretanto, em que a fitoterapia parecia estar morrendo. A indústria químico-farmacêutica produzia os mais diversos tipos de fármacos, que se mostravam eficazes no tratamento de diversos tipos de enfermidades. Entretanto, o custo desses medicamentos era cada vez mais alto. Grande parte da população do mundo permanecia marginalizada e sem acesso a esses benefícios. Em 1978 a Assembléia Geral da Organização Mundial de Saúde (OMS) deu início a um programa em que se dava ênfase ao uso de plantas medicinais, com o objetivo de alcançar a meta “Saúde para Todos no Ano 2000”. O estudo de plantas medicinais começou a ser incentivado. No Brasil, a Central de Medicamentos (CEME) elaborou a lista de plantas destinadas a serem pesquisadas em suas propriedades medicinais (CALIXTO, 2005).

A venda de produtos derivados de plantas no mundo está em torno dos 100 bilhões de dólares por ano. A América Latina possui grande parte da biodiversidade mundial, e o Brasil sozinho possui em torno de 20-22% de todas as plantas e microrganismos existentes. Entretanto, é estimado que não mais do que 25.000 espécies de plantas no mundo têm sido objeto de algum tipo de investigação científica (CALIXTO, 2005 e GILANI, 2005).

A grande variedade de espécies vegetais, atributo da flora brasileira, fez com que a atenção de pesquisadores do mundo inteiro se voltasse para o Brasil. O grande problema da fitoterapia parece, ainda, ser a identificação da planta medicinal e da droga vegetal utilizada. Outro problema é a credence popular que “se é vegetal é natural, é bom, se não fizer bem, mal não faz”. Muitas plantas possuem princípios tóxicos, e o uso indiscriminado de plantas pode trazer problemas. Desde que os problemas mencionados sejam resolvidos, a fitoterapia poderá contribuir muito a favor da saúde, tanto humana como animal (OLIVEIRA e AKISUE, 1997).

O Estado do Paraná, além de ser o maior produtor de Plantas medicinais do País, também tem um número elevado de pesquisadores envolvidos com os seus estudos. A maioria das pesquisas aborda as atividades biológicas (34%). Dentre essas atividades biológicas estudadas, 60% são na área de Farmacologia. Entre os vários estudos farmacológicos realizados, em torno de 17% tratam dos efeitos das plantas medicinais sobre o trato gastrointestinal (CALIXTO, 2005).

As plantas medicinais apresentam importância como agente terapêutico, sua ampla utilização na medicina popular, no tratamento relacionado à sintomatologia de distúrbios gástricos tais como úlceras gástricas e gastrites (SCHMEDA-HIRSCHMANN e YESILADA, 2005).

## 4.2 pH GÁSTRICO

O termo pH foi introduzido, em 1909, pelo bioquímico dinamarquês Soren Peter Lauritz Sorensen (1868-1939) com o objetivo de facilitar seus trabalhos no controle de qualidade de cervejas. O "p" vem do alemão *potenz*, que significa poder de concentração, e o "H" é para o íon de hidrogênio ( $H^+$ ) (GONZALEZ e DI STASI, 2003).

O pH, potencial hidrogeniônico ou potencial hidrogênio iônico, é um índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio qualquer. Água pura –  $pH=7,0$ . O pH menor que 7 indica que tal substância é ácida; pH maior que 7 indica que a substância é básica, e pH 7 indica que ela é neutra. O valor do pH está diretamente relacionado com a quantidade de íons hidrogênio de uma solução e pode ser obtido com o uso de indicadores. O valor de pH de uma solução pode ser estimado conhecendo-se a concentração em íons  $H^+$ ; assim a escala de medição

varia de 0 a 14, tendo o 7 como valor neutro, o 0 como acidez máxima, e o 14 como alcalinidade máxima. O pH pode ser determinado usando-se um medidor de pH (também conhecido como pHmetro) que consiste em um eletrodo acoplado a um potenciômetro. O medidor de pH é um milivoltímetro com uma escala que converte o valor de potencial do eletrodo em unidades de pH. Este tipo de eletrodo é conhecido como eletrodo de vidro, que, na verdade, é um eletrodo do tipo "íon seletivo" (LIDE, TAYLOR e FRANCIS, 2008; HARRIS, 2005).



FIGURA 1 - pHmetro

Uma das mais importantes funções do estômago é a produção de ácido. O qual facilita a digestão de proteínas e a absorção de ferro, cálcio e vitamina B12. Ele também impede a entrada de bactérias no organismo. Quando os mecanismos homeostáticos estão prejudicados, o volume e a acidez gástrica podem aumentar desproporcionalmente, superando assim as defesas da mucosa gástrica, levando à formação de úlcera duodenal, úlcera gástrica e doença do refluxo gastroesofágico (SCHUBERT, 2004).

### 4.3 GIRASSOL

Seu nome científico é *Helianthus annus Linné* - o que explica sua imponência e porte majestoso: a palavra *Helianthus* significa "flor do sol". Além de bonita, a planta é utilíssima, pois do girassol tudo é aproveitado - desde as sementes até as flores e os ramos (MARQUES *et al.*, 2004).



FIGURA 2 - *Helianthus annus*  
FONTE: (COMUNIDADE, 2009)

É uma planta originária do México e cresce bem na Europa central e na Rússia meridional, necessitando de muito sol e de umidade (MARQUES *et al.*, 2004). É uma planta que foi domesticada pelo homem há cerca de 5 mil anos. Originária das Américas, o girassol foi utilizado como alimento pelos índios, que o misturavam com outros tipos de vegetais. No século XVI, o girassol foi levado para a Europa pelos espanhóis, primeiramente na Espanha, Inglaterra e França. Até o século XVII foi considerada uma planta ornamental e medicinal, sendo utilizado como óleo refinado comestível apenas por volta de 1830 na Rússia. O girassol foi introduzido na América do Sul no Século XIX, sendo a Argentina um dos maiores produtores

mundiais. No Brasil, foi introduzido em primeiro lugar no sul do país, já que os imigrantes europeus tinham o hábito de consumir suas sementes torradas (TESKE, 1997).

A grande importância da cultura do girassol no mundo deve-se à excelente qualidade do óleo comestível que se extrai de sua semente. O resíduo sólido que sobra após a extração do óleo das sementes é utilizado para a alimentação animal. Já as sementes cruas podem ser utilizadas na alimentação de aves e, tostadas, na alimentação humana. As sementes são ricas em proteínas e vitaminas e quando são torradas e moídas, transformadas em pó, podem ser um substituto do café, sem cafeína, e ajudando a combater a enxaqueca (BOLDI, 2004).

Ainda para o mesmo autor, as folhas e flores do girassol podem ser usadas no combate a doenças pulmonares e da garganta, em forma de tinturas ou infusões. As raízes da espécie chamada pataca são comestíveis e podem ser consumidas cozidas e assadas. As folhas contêm propriedades diuréticas, antigripais, antiasmáticas e expectorantes. As sementes e as folhas podem ser usadas como cicatrizantes em forma de tintura. Os florais feitos a partir do girassol são utilizados para melhorar a autoestima e autoconfiança (MARQUES *et al.*, 2004).

O principal produto do girassol é o óleo extraído dos aquênios. A qualidade do óleo para a alimentação humana está intimamente relacionada à composição em ácidos graxos, e os efeitos desse óleo para a saúde humana vão depender não só de sua composição, mas também, da quantidade ingerida. Girassol produzido sob temperaturas mais amenas, ao redor de 20°C, contém elevado teor de ácido linoléico, o qual é um ácido graxo essencial ao organismo humano, isto é, ele necessita ser ingerido na dieta uma vez que o organismo não consegue sintetizá-lo. Os compostos derivados de ácidos graxos polinsaturados essenciais (ácidos

linoléico e linolênico) são importantíssimos na prevenção de doenças cardiovasculares, o que vem reforçar a importância da ingestão de óleos com altos teores de ácidos graxos polinsaturados, como é o caso do óleo de girassol.

A dieta rica em ácidos graxos polinsaturados favorece o aumento das proteínas de alta densidade (HDL), a redução do colesterol plasmático e das proteínas de baixa densidade (LDL e VLDL), contribuindo para a prevenção da aterosclerose e dos acidentes cardiovasculares. O óleo bruto de girassol, extraído a frio, vem sendo usado no tratamento da esclerose múltipla (PRESS, 1975).

Industrialmente, o óleo de girassol passa por um processo de prensagem seguido de extração por solvente, normalmente o hexano (derivado do petróleo) em extratores apropriados. Artesanalmente, em pequena escala, pode-se obter o óleo de girassol a partir de prensagem contínua dos grãos, seguido por filtração ou decantação para separação dos resíduos. Podem-se prensar os grãos em prensas domésticas (contínuas ou hidráulicas) ou em semi-industriais de pequeno porte. Os grãos de girassol não necessitam de aquecimento, moagem ou descascamento, para se obter dois produtos: o óleo e a torta de girassol. Porém, é importante que se utilizem grãos com alto teor de óleo (em geral com cascas pretas) e não o girassol empregado para alimentação de pássaros, normalmente grãos maiores e com cascas rajadas (PORTAS, 2001).

O óleo bruto de girassol, extraído a frio, pode ser usado como óleo de salada, como parte da formulação de dietas de pacientes portadores de esclerose múltipla e em formulações tópicas para tratamento de feridas cutâneas, como queimaduras (ZANOSCHI *et al.*, 1991), úlceras de pressão (VASCONCELOS, 1997) e sobre diversos processos cutâneos hiperqueratósicos (FERRANDO, 1986) pelo seu alto teor de ácidos graxos insaturados.

Encontram-se nas flores de girassol diversos corantes, glicosídeos, flavonóides (quercimeritina e quercetina), glicosídeos, uma xantofila que é idêntica à luteína. As sementes possuem em seu óleo ácido oléico e uma grande abundância de ácidos graxos não saturados, especialmente o ácido linoléico. Um ácido graxo é uma molécula que consiste em vários átomos de carbono ligados entre si por ligações simples ou duplas e que têm um grupo carboxila em uma das extremidades e um grupo metila na outra extremidade. Os ácidos graxos são divididos de acordo com a localização das ligações químicas. Dois importantes grupos incluem os ômega-3 e os ômega-6. Os principais ácidos graxos que compõem o grupo ômega-3 são: ácido alfa-linolêico, ácido eicosapentanóico e o ácido docosahexanóico. Os principais ácidos graxos que compõem o grupo ômega-6 são: ácido linoléico e ácido araquidônico. Os ácidos graxos dos grupos ômega 3 e 6 não são sintetizados pelo organismo animal, nem um ácido graxo de um grupo pode ser transformado em outro. Sendo assim, a obtenção destas substâncias tem que vir de uma fonte dietética obtida através da suplementação. Como fontes principais de ômega 6 temos o açafrão, soja, milho, óleo de girassol e gordura animal. Como fontes principais de ômega-3 temos óleo de peixe marinho e algumas plantas terrestres, como a semente de linho (MARQUES *et al.*, 2004 ).

A eficácia dos ácidos graxos essenciais em problemas relacionados com lesões de pele provocadas pela diminuição dos níveis de ácidos graxos na alimentação, como, por exemplo, a cura dessas alterações mediante a sua aplicação tópica, tem sido observada desde 1929 (BURN, 1929; BURN 1930; LINN e SHERPHED, 1986).

Sinclair e Basnayeke (1954) descreveram uma descamação úmida de pele ou dermatose provocada por perda de água transepidermica, devido a uma dieta

deficiente em ácidos graxos essenciais. Vantorp (1974) e Prottey , Hartop e Press. (1975) observaram uma reversão e cura de feridas na pele e dermatoses cutâneas após aplicação tópica de óleo de semente de girassol com alta concentração de ácido linoléico. Hartop *et al.* (1976) demonstraram que, quando aplicados cutâneamente, houve restauração da permeabilidade epidérmica para taxas normais em pele de ratos.

Os ácidos linoléico e araquidônico, segundo Prottey (1977), são importantes na manutenção da barreira cutânea para perda de água e como precursores de prostaglandinas, sendo ambos envolvidos na regulação da divisão celular e diferenciação da epiderme, e conseqüentemente no controle do processo de descamação da pele. O ácido linoléico é o mais potente mediador pró-inflamatório que causa a migração de granulócitos e macrófagos.

De acordo com Glasgow e Eling (1990), o ácido linoléico é essencial para regulação dos eventos bioquímicos que precedem a mitogênese fibroblástica, desde que ele estimula alguns fatores de crescimento celular, que são proteínas capazes de se ligarem a receptores na superfície da célula, e, como resultado, ativam a proliferação e/ou diferenciação celular.

Os fatores de crescimento são substâncias biologicamente ativas que se tem revelado como recursos extremamente promissores na cicatrização. Já foram comprovadas suas ações em modelos experimentais, porém ainda são necessários mais estudos que evidenciem sua aplicação clínica. Inúmeras pesquisas que visam à identificação precisa da ação de cada um desses fatores estão em andamento, dos quais os mais investigados são: o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), o fator transformador (TFG- $\beta$ ), o fator de crescimento fibroblástico (FGF), o

fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) e o fator de crescimento epidérmico (EGF) (MANDELBAUM, DISANTES e MANDELBAUM, 2003).

#### **4.3.1 Receptores e ações**

Agem na membrana celular (ativa a tirosinaquinase) que entra em contato com o DNA. Como benéficos ativam macrófagos e fibroblastos, acelerando a granulação tecidual e estimulando a divisão e proliferação celular. Ono *et al.* (2001) relataram a importância de citocinas e fatores de crescimento no processo de reparação tecidual. Muitos desses fatores (EGF, FGF, PDGF, TGF- $\beta$ ) e interleucinas (IL-6) são citocinas que estimulam a proliferação queratinócita. Os fatores de crescimento são produzidos por muitas células, incluindo plaquetas, macrófagos, linfócitos, neutrófilos, fibroblastos e células epiteliais. O uso tópico de fatores de crescimento sobre feridas não só facilita a migração de monócitos, neutrófilos, macrófagos e fibroblastos, como também estimula a proliferação de tecido de granulação (LIPTAK, 1997).

A aceleração do processo inflamatório pode ser explicada por eventos biológicos e bioquímicos do ácido linoléico. Este ácido graxo poli-insaturado (18: 2n-6) é transformado, por desnaturação de suas moléculas, em ácido aracdônico (20:4n-6), o qual é metabolizado via 5 – lipoxigenase e cicloxigenase em leucotrienos (LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub> e LTD<sub>4</sub>), prostaglandinas (PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>) e tromboxanos por células polimorfonucleares. Estas substâncias produzidas pelo ácido linoléico têm propriedades pró-inflamatórias que estimulam a neovascularização (angiogênese) local e conseqüentemente a migração celular, proliferação e diferenciação fibroblástica e também a síntese de matriz extracelular (ZIBOH, 1996).

### 4.3.2 Propriedades do ácido linoléico

Uma série de estudos randomizados, multicêntricos, duplo-cegos e placebo-controlados, demonstraram as ações do ácido linoléico sobre o tecido cutâneo e mais precisamente sobre a granulação e cicatrização de tecidos cutâneos (DECLAIR e CARMONA, 1994).

Nestes estudos, abrangendo um total de 112 indivíduos portadores de úlceras crônicas de diferentes etiologias, objetivou-se verificar a capacidade do ácido linoléico (AL) em estimular o tecido de granulação e cicatrizar feridas crônicas e recentes, avaliando também os efeitos colaterais e a tolerabilidade do paciente ao tratamento. O desenvolvimento do tecido de granulação e cicatrização em lesões tratadas com ácido linoléico mostrou diferença significativa por ANOVA com  $p < 0,001$ . Cem por cento das úlceras tratadas com AL granularam até a segunda semana e 90,4% cicatrizaram. Das tratadas com placebo, 1,5% apresentaram tecido de granulação na quarta semana e 1,5% cicatrizaram. O tratamento foi bem tolerado, não se observando efeito colateral severo. Dentre o grupo dos ácidos graxos essenciais, o linoléico evidencia-se como o mais efetivo na indução cicatricial e reparativa, sendo este composto encontrado em altas concentrações no extrato oleoso da semente de girassol extraída a frio, motivo que norteou sua seleção como doador natural desta respectiva substância aos tecidos cutâneos (MARQUES *et al.*, 2004).

Os efeitos da aplicação tópica de óleo de girassol foram demonstrados no tratamento de feridas usando dezoito ovelhas que tiveram, na região torácica, próxima à escápula, a produção de uma ferida cirúrgica de 4 cm de cada lado; estas feridas tiveram um lado tratado com óleo de girassol com alta concentração de ácido linoléico e o lado controle tratado com vaselina esterilizada. Como resultado de

biópsias de tecidos das feridas pós-cirúrgicas realizadas no 7º, 14º e 21º dias e avaliadas histologicamente, observou-se que a aplicação tópica de óleo de semente de girassol acelerou o processo da cicatrização no 7º e 21º dias, reduzindo a área e aumentando a contração das feridas. O tecido de granulação se desenvolveu mais rapidamente em feridas tratadas do que nas controle e concluiu-se que o uso tópico de óleo de girassol acelerou o processo de cicatrização por promover a aceleração da formação do tecido de granulação e a epitelização. Assim o óleo de girassol com alta concentração de ácido linoléico pode ser indicado como uma terapêutica alternativa para a cicatrização de feridas por segunda intenção na Medicina Veterinária (MARQUES *et al.*, 2004).

Os benefícios cicatriciais foram descritos por Declair e Carmona (1994) com o uso destes compostos ricos em ácidos graxos essenciais em lesões epidérmicas, tais como escaras de decúbito ou úlceras indolentes. Nesta linha, achados citológicos e histológicos revelaram uma evidente abreviação no processo de reepitelização de tecidos, sinalizando que os ácidos graxos essenciais (AGE), presentes em grande quantidade no óleo de girassol, participariam também com ações tópicas, e não somente pela via sistêmica (BURR e BURR, 1979).

Outros estudos confirmaram as ações deste óleo rico em triglicérides de cadeia média, como a base para o desenvolvimento de compostos promotores da aceleração no processo de cicatrização de lesões de pele e mucosas (DECLAIR e CARMONA, 1994).

Sua composição físico-química é a de um óleo claro, levemente amarelado, com pH entre 6 e 6,3 (pH correspondente ao extrato oleoso extraído a frio), com padrões organolépticos palatáveis, tendo um odor suave. Possui em sua composição bromatológica média: ácido linolênico 0,1%, ácido linoléico 0,2%, ácido oléico 21,3%,

ácido palmítico 6,4%, ácido esteárico 1,3%, vitamina E 75mg/100g. Tais componentes possuem um comprovado efeito benéfico ao sistema cardiovascular, no combate a radicais livres, como doadores de AGE (ácidos graxos essenciais), o que denota todo seu efeito sistêmico sobre a manutenção e integridade de tecidos cutâneos, em especial da pele, mucosas e pelos de pequenos animais (VAN DORP, 1990).

#### **4.3.3 Ação celular do óleo de girassol**

Aplicado sobre a pele, o óleo de girassol induz a formação de tecido de granulação, provavelmente secundário às suas ações quimioterápicas promotoras de diferenciação epidérmica e consequente cicatrização. Podemos descrever o processo de reparação tecidual em uma determinada sequência de eventos, incluindo a indução ao processo inflamatório agudo pela própria lesão, regeneração das células parenquimatosas, migração e proliferação do tecido conjuntivo e componentes parenquimatosos, colagenização e aquisição de força tensional, sendo que este processo fisiológico pode ser dividido em três fases: inflamatória, proliferativa e remodeladora. A resposta inflamatória está diretamente ligada ao processo de reparação tecidual, sendo que o processo de reparação inicia-se durante a fase inicial da resposta inflamatória. Os sinais clássicos da inflamação caracterizam-se por rubor, calor, dor, tumor e perda de função. A migração e adesão leucocitária, vasodilatação, quimiotaxia de neutrófilos e macrófagos, fagocitose, liberação de fatores de crescimento e liberação de eicosanóides, os quais são derivados dos ácidos graxos essenciais, caracterizam a resposta fisiológica (MILLER, 1997).

Os eicosanóides são considerados mediadores inflamatórios que estimulam a resposta inflamatória, como a vasodilatação e agregação plaquetária, e também atuam como agentes quimiotáticos, os quais são componentes indutores da resposta quimiotática e da mobilidade de polimorfonucleados (PMNs), mais especificamente dos leucócitos (KOCH, LANGLOSS e SCHIMIDT, 1974). A liberação de produtos inflamatórios pelo sistema de complemento e a ativação de plaquetas e células endoteliais contribuem para o recrutamento de fibroblastos e o início da fase proliferativa (PARRY e CRAIG, 1984).

Macrófagos infiltram-se na ferida, os quais são quimiotáticos para o PDGF (fator de crescimento derivado de plaquetas) e para o PGF- $\beta$  (fator de crescimento de plaquetas  $\beta$ ) que, por sua vez, contribuem com o recrutamento de fibroblastos para área da lesão (PARRY e CRAIG, 1984). Como resultado deste recrutamento e proliferação, ocorre o acúmulo de fibroblastos, os quais são regulados pelo FGF (fator de crescimento do fibroblasto). Plaquetas, macrófagos e neutrófilos produzem uma série de polipeptídios, ou fatores de crescimento, que são mitogênicos para o fibroblasto e para as células endoteliais. Estes fatores de crescimento são produzidos seguindo a ativação da célula por vários estímulos no ambiente inflamatório (PARRY e CRAIG, 1984).

A produção de IL-1 (interleucina-1) é ativada pelos monócitos/macrófagos e exerce importante papel na neovascularização e reparação tecidual, em colaboração com o TNF- $\alpha$  (fator de necrose tumoral). Os macrófagos também produzem PDGF, que tem atividade quimiotática para leucócitos e fibroblastos, além de promover o crescimento dos fibroblastos, que possuem alta afinidade pelos receptores de proteinoquinase (KOCH, LANGLOSS e SCHIMIDT, 1974).

Macrófagos, FGF, PDGF e TGF- $\alpha$  promovem a atividade angiogênica necessária para a formação do tecido de granulação, da proliferação de fibroblastos e para a formação da síntese da matriz celular. É importante lembrar que os fibroblastos são responsáveis pela formação de colágeno, fibronectina e outros componentes da matriz celular, tendo uma potente atividade angiogênica. A estimulação da síntese da matriz celular pelo fibroblasto, através da IL-1, TNF e PDGF, leva à reparação tecidual e à formação da cicatriz (GAUGHAN, 1994 e BURR,1994).

Segundo Burr e Burr (1979), a carência crônica de AGE na dieta de animais promove inúmeras alterações epidérmicas, com perda de elasticidade e capacidade de regeneração e cicatrização. Já Sheperd e Lynn (1986), descreveram uma abreviação no período cicatricial ao compararem o processo regenerativo com e sem a utilização tópica de AGE. Sinclair (1989) descreveu uma dermatose característica, que ocorria devido ao aumento de perda de fluido intracelular e intersticial, secundária a uma deficiência de AGE; enquanto Van Dorp (1990) demonstrou a regressão e cura desta dermatose apenas com a aplicação tópica de ácido linoléico (AL) sobre as lesões de pele. Ao nível celular, Declair e Carmona (1994) evidenciaram que os AGE promovem um claro efeito quimiotático sobre os tecidos, atraindo leucócitos e neutrófilos ao local lesionado, além de proporcionar um incremento no processo de neovascularização e angiogênese, condições básicas para regenerar tecidos e debelar agentes infecciosos. Em suma, a ação dos AGE presentes em grandes quantidades no óleo de girassol sobre tecidos epidérmicos podem ser justificadas pelas suas ações sobre a regulação osmótica ao nível de membrana celular, sua ação antioxidante bloqueando a ação de radicais livres sobre as células epidérmicas, sua ação facilitatória sobre o transporte de gorduras

transmembrana, sua ação imunógena local, devido ao seu efeito quimiotático para leucócitos e neutrófilos, mas principalmente por ser o AGE precursor das substâncias farmacologicamente ativas fundamentais para a realização do processo de diferenciação e divisão celular, tais como os tromboxanos, prostaciclina e prostaglandinas, alterando, conseqüentemente, funções imunológicas, resultando em uma aceleração no processo de granulação tecidual (GLASGOW e ELING, 1990).

#### **4.4 ÚLCERA PÉPTICA**

Úlcera péptica é uma doença comum do trato gastrointestinal e a sua patogênese é multifatorial, incluindo infecções pelo *Helicobacter pylori*, aumento da concentração de ácido gástrico, de pepsina, alterações na motilidade gastroduodenal, hábitos de vida como o tabagismo e ingestão de bebida alcoólica. Todas essas ações contribuem para o desequilíbrio entre os fatores agressores e protetores do estômago (EASTWOOD, 1997).

A úlcera péptica é causada por um desequilíbrio entre os mecanismos protetores e agressores da mucosa, e é resultado da associação de diversos fatores agressores endógenos (ácido, pepsina e bile) e fatores exógenos relacionados às condições de vida (estresse, fumo, álcool, uso contínuo de drogas anti-inflamatórias não esteroidais e a infecção pelo *Helicobacter pylori*) (ZEVERING, JACOB e MEYER, 1999).

O *H. pylori* é uma das bactérias patogênicas mais amplamente distribuídas, podendo ser encontrada em aproximadamente metade da população mundial e está relacionada com algumas importantes doenças gastrintestinais, como gastrite crônica, úlcera péptica, linfoma - tecido linfóide associado à mucosa (MALT) e

carcinoma gástrico (EL-OMAR *et al.*, 2000; BLASER, 1990; PARSONNET , HANSEN e RODRIGUEZ, 1994).

A infecção pela *H. pylori* não pode ser considerada causa única de desenvolvimento de úlcera péptica, sendo que muitas pessoas são infectadas e não desenvolvem a doença (WALLACE, 2001a).

O primeiro nível de defesa do estômago consiste de fatores secretados no lúmen, incluindo ácido gástrico, bicarbonato, muco, imunoglobulinas e outras substâncias antibacterianas. O ácido pode ser visto como a primeira linha de defesa da mucosa, por causa de sua importância na redução da possibilidade de colonização bacteriana no estômago. Da mesma forma, o muco secretado na superfície luminal tem um importante papel na prevenção da colonização bacteriana e translocação. O epitélio se encontra logo abaixo ao muco e também é uma barreira de proteção à difusão passiva e capaz de se reparar rapidamente caso sofra uma agressão, devido à rápida proliferação que essas células possuem; assim, o epitélio apresenta grande capacidade de regeneração (WALLACE e GRANGER, 1996).

A úlcera é uma lesão profunda da mucosa, onde tanto os componentes do tecido epitelial e conectivo, incluindo miofibroblastos subepiteliais, células do músculo liso, vasos e nervos podem ser destruídos (MILANI e CALABRÒ, 2001).

Tanto as úlceras localizadas no estômago quanto as do duodeno são referidas como úlceras pépticas. Em geral, as úlceras ocorrem mais comumente no duodeno (5x), e 90% estão localizadas a 3 cm da junção do piloro com a mucosa duodenal. No estômago, as úlceras se localizam mais comumente no antro (60%) e na junção do antro com o corpo na pequena curvatura (25%) (ABITBOL, 2005).

Sua incidência é ligeiramente maior nos homens em relação às mulheres (1,3:1) e, apesar de ocorrer em qualquer idade, a úlcera duodenal ocorre com mais

frequência na faixa de 30-55 anos, enquanto a úlcera gástrica na faixa de 50-70 anos (ABITBOL, 2005).

A úlcera por estresse se desenvolve usualmente em poucas horas após queimadura, politraumas, lesão no sistema nervoso central, choque, grandes operações ou infecção severa (DEMBINSK *et al.*, 2005).

O estresse pode facilitar a evolução da infecção pelo *H. pylori* pela produção aumentada de ácido gástrico, levando à úlcera péptica (LEE *et al.*, 1995).

Gastrite aguda é em muitos casos sinônimo de gastrite erosiva. Essa pode ser devida a um dano tóxico à mucosa gástrica, comumente ocasionada por anti-inflamatórios não esteroidais (AINE) ou ingestão de álcool (LIPOF, SHAPIRO e KOZOL, 2006).

#### **4.4.1 Etiologia da úlcera péptica**

As úlceras provavelmente resultam de diferentes mecanismos patogênicos e, independente de sua etiologia, formam-se quando ocorre um desequilíbrio entre fatores agressores da mucosa, sejam eles endógenos (ácido clorídrico e pepsina) ou exógenos (etanol, anti-inflamatórios esteroidais, fumo), e os fatores protetores da mucosa gástrica (muco, bicarbonato, prostaglandinas, fluxo sanguíneo, óxido nítrico). Contudo, se estas barreiras falham, os danos surgem na parede do estômago. No duodeno, que recebe o bolo alimentar ácido do estômago, existem outros mecanismos de proteção, como a secreção de bicarbonato, uma substância alcalina, pelo pâncreas. (GLAVIN e SZABO, 1992; WALLACE e NEIL-GRANGER, 1996).

Segundo a revisão realizada por Szabo (1991), a lesão celular ou tecidual da mucosa gástrica pode ocorrer por causas adquiridas ou inatas. As cinco causas mais

comuns de lesão celular ou tecidual ocorrem por: (1) hipóxia e isquemia (resultante da diminuição do fluxo sanguíneo ou do decréscimo da hemoglobina ou ainda da diminuição das enzimas antioxidantes dos tecidos); (2) por agentes químicos (como monoaminas, eicosanóides, endotelinas, drogas sintéticas, e principalmente substâncias químicas ingeridas propositadamente, como o etanol); (3) por agentes biológicos (como vírus, bactérias, fungos, parasitas, levando às reações imunológicas que geralmente são desenvolvidas para a defesa do organismo; entretanto produzem radicais livres tóxicos que contribuem para a injúria tecidual); (4) por fatores físicos (estresse, temperaturas extremas, força mecânica); e (5) por defeitos genéticos.

O fluxo sanguíneo contribui para a proteção gástrica por fornecer à mucosa oxigênio, bicarbonato, substâncias nutritivas e por remover dióxido de carbono, íons hidrogênio e difundir agentes tóxicos do lúmen gástrico. A hipóxia gástrica, resultante da acumulação de H<sup>+</sup> na mucosa gástrica, leva à acidificação do estômago e desenvolvimento de úlcera gástrica (SORBYE e SVANES, 1994).

As espécies reativas de oxigênio geradas pelo metabolismo do ácido araquidônico, plaquetas, macrófagos e células musculares lisas também podem contribuir de forma significativa para o dano na mucosa gástrica (REPETTO e LLESUY, 2002).

## 4.6 PROTETOR GÁSTRICO

### 4.5.1 Cimetidina

A cimetidina foi o primeiro bloqueador de secreção gástrica descoberto na década de 1970, atuando nos receptores de histamina bloqueador de H<sub>2</sub>, sendo forte estimulante da secreção do estômago. A cimetidina, como a histamina, apresenta o anel imidazólico, diferindo da histamina pela cadeia lateral. É antagonista competitivo. Diminui significativamente o volume da secreção gástrica e de sua acidez. É metabolizada pelo sistema P450 do fígado. Pode ser utilizada por via oral ou venosa. Estes medicamentos são altamente eficazes e tomam-se apenas uma ou duas vezes por dia (AME,2008).

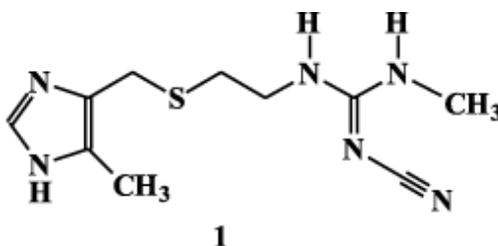


FIGURA 3 - Estrutura Química da Cimetidina  
FONTE: (MEDICAMENTOS,2009).

A cimetidina é um derivado metílico e cianoguanidínico básico de imidazol, que atua como antagonista competitivo da histamina nos receptores H<sub>2</sub> das células parietais gástricas produtoras de ácido. As doses terapêuticas revertem à secreção gástrica ácida. Suprime também a secreção do fator intrínseco, e, em doses elevadas, aumenta a concentração sérica de prolactina. Indicada no tratamento de úlcera duodenal e gástrica, os sintomas são aliviados e o tempo de cicatrização reduzido. Pode ser combinada com antiácidos (AME, 2008).

A cimetidina aumenta as concentrações séricas da nifedipina e do diltiazem, por meio da diminuição da catabolização destes, podendo levar a níveis tóxicos (RANG, DALE e RITTER, 2001).

Os antagonistas H<sub>2</sub> são bem e rapidamente absorvidos após administração oral; os picos de concentração plasmática são obtidos após 1 a 2 horas. A duração de ação situa-se em 4,5 e 7 horas, respectivamente, quando administrado durante o dia e a noite. A meia-vida de eliminação da cimetidina é de 2 a 3 horas. Tal fármaco é excretado na urina sem ser metabolizado. É contraindicada na gravidez e lactação: estudos em animais demonstraram que a cimetidina atravessa a barreira placentária e é excretada no leite humano (LABORATÓRIO, 2006).

Como regra geral, tem poucos efeitos secundários importantes. No entanto, a cimetidina pode provocar ginecomastia nos homens, que desaparece ao suspender a medicação. Com menos frequência, pode provocar impotência em homens que ingerem altas doses durante períodos prolongados. Em menos de 1% das pessoas tratadas com cimetidina foram registradas alterações no estado mental (sobretudo em pessoas de idade avançada), diarreia, erupção cutânea, febre e dores musculares. Em virtude de ser metabolizada no fígado pelo sistema P450, podem interferir com a eliminação de certos medicamentos do organismo (como a teofilina para a asma, a varfarina para a coagulação, podendo ser necessária a redução da dose do anticoagulante, e a fenitoína para a epilepsia) (GONZALEZ e DI STASI, 2003).

Os autores relatam os resultados de um estudo sobre o tratamento da úlcera duodenal com cimetidina. Foram selecionados 30 casos (24 homens e 6 mulheres) com o diagnóstico endoscópico de úlcera duodenal em atividade. Todos os pacientes receberam 1.000 mg de cimetidina diariamente, durante 6 semanas. Entre

a 6ª e 18ª semana foram utilizados 5 diferentes esquemas e os pacientes foram reavaliados ao final da 18ª semana. Durante o tratamento, foi permitida dieta livre, à exceção de bebidas alcoólicas. Ao final da 6ª semana, o exame endoscópico mostrou cicatrização da lesão em 26 casos (86,7 %). Ao final da 18ª semana, foram reexaminados 24 casos, constatando-se 5 recidivas, 3 dos quais em pacientes que se encontravam em uso de 400 mg/dia de cimetidina (RESENDE *et al.*, 2000).

## **4.6 AGRESSORES GÁSTRICOS**

### **4.6.1 Indometacina**

Foi introduzida em 1963. Trata-se de um potente inibidor não-seletivo da COX, que também pode inibir a fosfolipase A e C, reduzir a migração dos neutrófilos e diminuir a proliferação das células T e B. Difere ligeiramente dos outros AINEs nas suas indicações e efeitos tóxicos, sendo constitutiva sempre presente no corpo e responsável por funções fisiológicas importantes (SÜLEYMAN, DEMIRCAN e KARAGÖZ, 2007).

Aproximadamente 20% dos usuários regulares de AINEs desenvolvem uma úlcera de estômago ou duodeno. A importância das prostaglandinas (PG) na defesa da mucosa é evidenciada pela capacidade dos AINEs induzirem danos na mucosa gástrica, dano esse correlacionado com sua habilidade em suprimir a síntese de PG gástricas. Agentes que são fracos inibidores da síntese de PG, incluindo inibidores seletivos de COX-2, são menos ulcerogênicos (WALLACE, 2001b). Outro fator que leva ao desequilíbrio dos fatores protetores da mucosa gástrica são os AINEs. Sua ação anti-inflamatória através da inibição da enzima COX (ciclooxigenase) e, conseqüente redução da produção de PG, é responsável pelas lesões gástricas,

haja vista que as prostaglandinas são essenciais para a manutenção da integridade da mucosa gástrica, envolvendo mais de um mecanismo de ação. Os AINEs provocam danos à mucosa gástrica por mais de uma via, como por exemplo, ao inibirem COX-1 reduzem o fluxo sanguíneo, ao inibirem COX-2 aumentam a aderência de leucócitos no endotélio vascular e por uma ação tópica direta causam irritação da mucosa (WALLACE, 2006).

O uso da indometacina em pacientes artríticos é seguido de uma incidência bastante elevada de efeitos colaterais no SNC. São frequentes sintomas gastrointestinais, que incluem náuseas, vômitos, anorexia, indigestão, desconforto epigástrico, diarreia e ulcerogênese, entre outros. Os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), tais como indometacina, são amplamente utilizados no tratamento da inflamação, hipertermia e analgesia. No entanto, os AINEs causam dano gástrico como uma reação adversa grave (KATZUNG, 2005).

A indometacina pode exercer um efeito citotóxico direto sobre as células da mucosa gástrica. O uso deste medicamento pode levar a um risco maior de ataque cardíaco ou um acidente vascular cerebral, podendo causar a morte se utilizado por um longo período (AMERICAN SOCIETY, 2008).

Pacientes que fazem uso de antidepressivos possuem maior propensão a terem um aumento no tempo de sangramento e deve-se tomar cuidado com o uso concomitante de AINEs não seletivos, assim como também anticoagulantes pelo mesmo motivo. As plaquetas armazenam cerca de 90% da serotonina circulante e, com o uso dos inibidores seletivos da recaptção de serotonina e outros, é de se esperar que esta concentração plaquetária de serotonina se torne menor (menos disponível às plaquetas). Como a serotonina possui atividade na agregação plaquetária, se esta estiver em menor concentração agora disponível às plaquetas e

mais disponível às sinápses nervosas, o vaso lesado terá maior tempo para conter o extravasamento de sangue em caso de ruptura (BERTOLINI, OTTANI e SANDRINI, 2001).

Ainda segundo os mesmos autores, é comum observar a prescrição de anti-inflamatórios não esteroidais associados a inibidores da bomba de prótons ou anti-histamínicos H<sub>2</sub>, a fim de que, reduzindo a secreção gástrica ácida, os efeitos diretos e indiretos do AINE sobre a mucosa gástrica sejam minimizados, uma vez que a secreção normal possa comprometer uma mucosa agora desprotegida e em contato com o AI. No entanto, as condições de pH estomacal estão alteradas; portanto há de se considerar que existe repercussão também na absorção do fármaco AINE (caráter ácido fraco), comprometendo em determinado grau a eficácia do anti-inflamatório.

Com a inibição da COX-1, as prostaglandinas são importantes moduladores fisiológicos do tônus vascular e equilíbrio hídrico nos rins (modulação da hemodinâmica glomerular, reabsorção tubular de sódio e água e regulação da secreção de renina). Ocorrendo a queda do volume sanguíneo, o sistema renina-angiotensina-aldosterona renal é ativado, o que contribui para vasoconstrição sistêmica com aumento na reabsorção de sódio e água na tentativa de manter a PA em níveis satisfatórios. Por outro lado, a angiotensina provoca síntese de prostaglandinas renais vasodilatadoras, que são sintetizadas mediante COX-1 (presente no endotélio, glomérulo e ductos coletores renais). Na presença de AINEs, e conseqüente inibição de prostaglandinas, este mecanismo protetor falha, podendo dar isquemia e com isso irreversíveis danos renais (SÜLEYMAN, DEMIRCAN e KARAGÖZ, 2007).

Os riscos de lesões gástricas em pacientes que utilizam AINEs convencionais são altos, devido aos seus efeitos colaterais decorrentes da inibição da biossíntese

de prostaglandinas gástricas, que funcionam como substâncias de proteção da mucosa. As lesões gástricas pépticas têm como agente principal o desequilíbrio entre os fatores agressivos (ácido, pepsina, infecção por *H. pylori*) e fatores protetores (muco e prostaglandinas). Os tratamentos geralmente são dirigidos à redução desses fatores de agressão, mas pode-se também fortalecer as defesas das mucosas gástricas e duodenais com os chamados agentes citoprotetores (WALLACE, 2003).

Um estudo que merece destaque foi o realizado por Wallace (2003), que objetivou avaliar e comparar macro e microscopicamente as lesões agudas da mucosa gástrica de ratos provocadas pelos AINEs celecoxib e indometacina e a citoproteção gástrica com omeprazol e misoprostol. Foram estudados 130 ratos da raça Wistar, com peso médio de 200g, divididos em quatro grupos. Assim o autor concluiu que a indometacina na concentração empregada provoca número significativo de lesões macro e microscópicas na mucosa gástrica de ratos quando comparadas ao celecoxib, que não provoca tais lesões. O omeprazol e o misoprostol nas concentrações empregadas não mostraram efetividade macro e microscópica na citoproteção gástrica de ratos, com a administração da indometacina.

Vale ressaltar que os indivíduos que apresentam inflamação gástrica devido à presença da *H. pylori* aparentemente são mais resistentes ao dano gástrico causado pelos AINEs, incluindo a aspirina. Um dos fatores que podem levar ao aumento da resistência da mucosa gástrica aos danos causados pelos AINE é a produção aumentada das lipoxinas, devido à elevação da COX-2 induzida pela inflamação da mucosa gástrica (WALLACE, 2003).

#### 4.6.2 Etanol

Sobre o etanol, Emanuele, Wezeman e Emanuele (2002) descrevem que: A palavra álcool deriva do arábico al-kuhul, que se refere a um fino pó de antimônio, produzido pela destilação e usado como maquiagem para os olhos. Os alquimistas medievais ampliaram o uso do termo para referir-se a todos os produtos da destilação e isto levou ao atual significado da palavra.

As técnicas de produção do álcool, na antiguidade, eram apenas restritas à fermentação natural ou espontânea de alguns produtos vegetais, como açúcares, e começaram a se expandir a partir da descoberta da destilação – procedimento que se deve aos árabes. Mais tarde, já no século XIX, fenômenos como a industrialização expandem ainda mais este mercado, que alcança um protagonismo definitivo, ao mesmo ritmo em que se vai desenvolvendo a sociedade de consumo no século XX. O seu uso é vasto: em bebidas alcoólicas, na indústria farmacêutica, como solvente químico, como combustível ou ainda com antídoto.

O etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ), também chamado álcool etílico e, na linguagem popular, simplesmente álcool, é uma substância obtida da fermentação de açúcares, encontrado em bebidas como cerveja, vinho e aguardente, bem como na indústria de perfumaria. No Brasil, tal substância é também muito utilizada como combustível de motores de explosão, constituindo assim um mercado em ascensão para um combustível obtido de maneira renovável e o estabelecimento de uma indústria de química de base, sustentada na utilização de biomassa de origem agrícola e renovável.

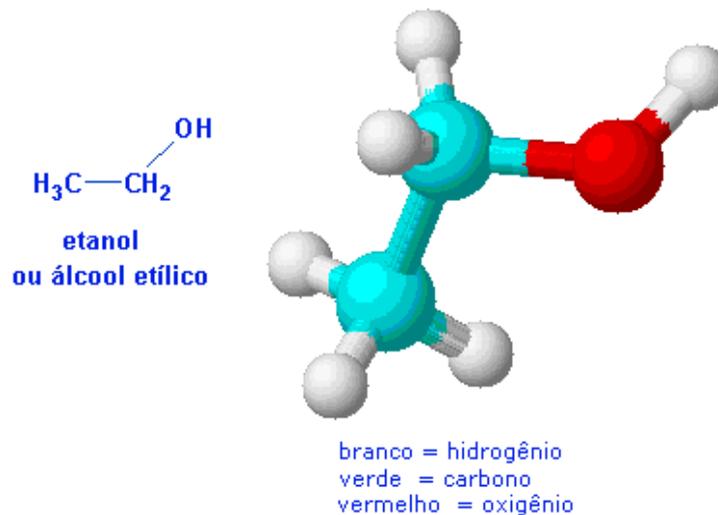


FIGURA 4 - Estrutura Química do Etanol  
FONTE: (MEDICAMENTOS,2009).

De origem asiática, a cana-de-açúcar foi trazida para o Brasil pelos portugueses na primeira década do século XVI. A cultura da cana desenvolveu-se com sucesso no nordeste brasileiro, sendo que o Brasil tornou-se o principal produtor e exportador de açúcar nos séculos XVI e XVII.

O etanol é o mais comum dos álcoois. Os álcoois são compostos que têm grupos hidroxilo ligados a átomos de carbono. Podem ser vistos como derivados orgânicos da água em que um dos hidrogênios foi substituído por um grupo orgânico. Quatro aspectos essenciais devem ser considerados no estudo da toxicocinética do álcool: absorção, distribuição, metabolismo e eliminação. É absorvido rapidamente a partir do estômago e intestino e é igualmente distribuído por todo o organismo por difusão simples do sangue nos tecidos. Pesquisas recentes sobre os efeitos do álcool no cérebro de adolescentes mostram que essa substância, consumida num padrão considerado nocivo, afeta as regiões responsáveis por habilidades como memória, aprendizado, autocontrole e principalmente a motivação.

O hipocampo está ligado aos processos de memorização e aprendizado. Experimentos com ratos realizados na Universidade Duke, nos EUA, mostraram que, em cobaias adolescentes, o álcool tornou mais lenta do que em espécimes adultos a atividade dos neurônios envolvidos na formação de novas memórias. Conforme foi aumentada a dosagem de álcool, a atividade cessou completamente (BIRDANE *et al.*, 2007).

Sendo um depressor do SNC (ação direta), o etanol diminui a sua atividade: facilita a ação do maior neurotransmissor depressor no cérebro (GABA) e inibe a ação do maior neurotransmissor excitatório do cérebro (glutamato). Atuando especificamente sobre estes receptores, o etanol abrandando o funcionamento do sistema nervoso (BIRDANE *et al.*, 2007).

Ainda para esses autores, a produção de acetaldeído é a principal consequência metabólica via ADH, uma vez que este e outros aldeídos são capazes de formar proteínas e podem ainda conduzir a respostas pró-inflamatórias e pró-fibrogênicas, que parecem contribuir para a progressão da lesão hepática. Quanto à eliminação, o etanol é um composto cuja eliminação segue uma cinética de ordem zero, eliminando 1 grama por hora. No fígado, o excesso de etanol conduz a três diferentes desordens patológicas: esteatose hepática, hepatite alcoólica e cirrose.

De todos os sistemas do corpo, o sistema cardiovascular é aquele em que o etanol pode ter simultaneamente efeitos positivos e negativos. O álcool etílico consegue ainda perturbar os numerosos processos regulatórios que permitem aos rins funcionarem de forma normal - altera a estrutura e a função renal, assim como anula a sua capacidade em manter a composição de fluidos e eletrólitos no corpo. Alguns medicamentos podem inibir a atividade da ADH, como o ácido acetilsalicílico

(AAS) e bloqueadores H2 da histamina (ranitidina, cimetidina, nizatidina) ou acelerar o esvaziamento gástrico (metoclopramida) (ARRIETA *et al.*, 2003).

O estômago apresenta muitas funções, como motilidade, digestão, secreção ácida e controle dos mecanismos de defesa da mucosa, além de manter o tônus do esfíncter esofágico e pilórico. Estas funções são fortemente influenciadas pela liberação de hormônios gastrintestinais como a gastrina, colecistocinina e somatostatina, bem como pelo sistema nervoso entérico (SNE) (EKBLAD, MEI e SUNDLER, 2000).

Anti-inflamatórios não esteróides, quando combinados com álcool, podem aumentar os riscos para o sangramento gastrintestinal por lesões da mucosa gástrica e aumento no tempo de sangramento. O álcool pode causar irritação gástrica. Os riscos de sangramento do trato gastrintestinal estão aumentados em aproximadamente 40% dentre aqueles que consomem de 7 a 27 doses por semana, e quase 300% dentre aqueles que consomem mais do que 28 doses por semana, quando comparados com abstêmios. O álcool pode estar associado com a doença do refluxo gastroesofágico (GERD). A maioria dos estudos não encontrou associações entre o uso do álcool e a prevalência do GERD, mas as modificações no estilo de vida, incluindo a exclusão do uso de álcool, ainda é recomendado pelo American College of Gastroenterology (Colégio Americano de Gastroenterologia). Alguns estudos descobriram uma associação entre o consumo do álcool e GERD. Considerando que a idade também é um importante fator de risco para GERD, idosos com GERD, e que consomem mais do que 1 a 2 doses diariamente, deveriam ser aconselhados a observarem se este volume de álcool piora seus sintomas; se piorarem, deveriam então evitar o uso de bebidas alcoólicas (EMANUELE , WEZEMAN e EMANUELE, 2002).

Atualmente, sabe-se que o uso crônico de medicamentos que inibem a produção de prostaglandinas, como os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), causam danos à mucosa gástrica, constituindo um fator de risco para eventos adversos, como ulceração, sangramento e perfuração gástrica (WHITTLE, 2004; NEWTON, 2005). A utilização de medicamentos, como anticoagulantes, anti-inflamatórios esteroidais, também contribuem com a formação de úlceras (JONES e HAWKEY, 2001).

As plantas medicinais apresentam importância como agentes terapêuticos, visto sua ampla utilização na medicina popular, no tratamento relacionado à sintomatologia de distúrbios gástricos tais como úlceras gástricas e gastrites (SCHMEDA-HIRSCHMANN e YESILADA, 2005).

O etanol pode, em parte, contribuir para a supressão da atividade reprodutora dos machos, por atrofia testicular, disfunção dos órgãos reprodutores acessórios, supressão da espermatogênese e infertilidade. Pode também ter influência direta no crescimento e desenvolvimento da criança - a criança pode nascer com síndrome fetal alcoólica (FAS). O etanol é uma droga capaz de originar tolerância e um alto grau de dependência, tanto física como psicológica (SCHMEDA-HIRSCHMANN e YESILADA, 2005).

#### 4.6.2.1 Metabolismo do Etanol

Sabe-se que o álcool penetra em todos os tecidos, podendo causar lesões em qualquer órgão. O álcool ingerido é absorvido inalterado pelo estômago e intestino delgado, e cinco a dez minutos após a sua ingestão já é detectado no sangue. Atinge suas concentrações sanguíneas máximas entre trinta a noventa minutos

após. A ingestão prévia de leite ou gordura pode dificultar a absorção do álcool, e o jejum e a ingestão de água a facilita. Praticamente quase a totalidade do etanol ingerido é modificada mediante oxidação a aldeído acético e, subsequentemente, até o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e água. Menos de 10% podem ser eliminados pelo organismo sem transformações metabólicas, através dos pulmões e, em menor quantidade, pelos rins. A oxidação ocorre principalmente no tecido hepático (95%), com liberação de energia (7,1 kcal/g). A "energia alcoólica", ao contrário de outras fontes energéticas (por exemplo, os lipídios e glicídios), não é armazenada de forma eficiente, dissipando-se como calor. O álcool é por isso chamado de fonte de "caloria vazia" ou nãoaproveitável bioquimicamente (ARRIETA *et al.*, 2003).

Segundo os mesmos autores, em etilistas ainda sem complicações orgânicas não há evidência de déficit na ingestão alimentar dos nutrientes protéicos glicídicos e lipídicos. Entretanto, já precocemente tem sido demonstrada uma deficiência de vitamina B1 e ácido fólico. Na evolução do alcoolismo, o indivíduo, mesmo com uma dieta normal, pode desenvolver complicações orgânicas, estabelecendo-se uma desnutrição como consequência do efeito danoso direto do álcool e seus metabólitos nos tecidos.

#### 4.6.2.2 Problemas clínicos no etilista

Arrieta *et al.* (2003) descreveram os problemas clínicos no sistema digestivo do etilista:

##### 4.6.2.2.1 Azia

Azia é um problema comum em estilistas, frequentemente precipitado pela ingestão de álcool. Provavelmente, a causa mais comum seja o refluxo do conteúdo gástrico para o esôfago, provocando uma esofagite aguda ou crônica.

#### 4.6.2.2.2 Náuseas/Vômitos

É comum o bebedor ocasional, não-etilista, apresentar, após um consumo excessivo (intoxicação aguda), náuseas e vômitos de curta duração, associados com mal-estar generalizado. O mecanismo é desconhecido, mas provavelmente mediado pelo sistema nervoso central e pelo estômago (inflamação gástrica aguda transitória).

Quando as náuseas e/ou vômito se prolongam ou são associados à distensão e dor abdominal, podem indicar um quadro de gastrite erosiva, pancreatite crônica reexacerbada ou hepatite alcoólica. Os vômitos prolongados ou severos podem ocasionar uma laceração da junção esofagogástrica, produzindo hemorragia digestiva (síndrome de Mallory-Weiss).

#### 4.6.2.2.3 Dor abdominal

Dor abdominal é uma das queixas mais comuns na clínica médica. No indivíduo que consome álcool excessiva ou esporadicamente, a dor pode estar associada com lesão nos seguintes órgãos:

a) Estômago/duodeno: apesar dos efeitos lesivos diretos do álcool na mucosa gastroduodenal, verificados por endoscopia ou visão direta, causando uma gastrite aguda, caracterizada por erosões e petéquias, não há uma maior incidência de ulcera péptica em etilistas. Entretanto, devido à sua alta prevalência na população

geral (10%), é comum o diagnóstico de ulceração péptica também em indivíduos que consomem álcool. No paciente com dor abdominal persistente, deve ser considerada a investigação endoscópica e/ou radiológica do trato digestivo superior. Tanto a gastrite aguda alcoólica quanto a doença péptica ulcerosa no alcoolista têm evolução clínica favorável quando tratadas com as medidas usuais e com suspensão da ingestão alcoólica.

b) Pâncreas: é claramente estabelecida a relação entre consumo de álcool e a pancreatite crônica que se manifesta como dor epigástrica em episódios recorrentes com irradiação para o dorso, associada a lento emagrecimento. Por mecanismos ainda desconhecidos, há deposição de "rolhas" de proteína, ricas em cálcio, nos ductos, ocasionando uma verdadeira litíase pancreática, com bloqueio ao fluxo da secreção do pâncreas. Em consequência, há episódios de inflamação recorrentes, manifestados por dor. Durante os relapsos dolorosos, é possível detectar-se elevação na amilase sérica. Nos intervalos do quadro doloroso, a dosagem da lipase sérica e o estudo ecográfico parecem ser a melhor abordagem diagnóstica. Entretanto, na fase inicial da doença, é difícil o diagnóstico (BI e KAUNITZ, 2003). Os quadros de dor pancreática associada ao álcool representam agudizações da forma crônica e não, como comumente aceito, quadros de pancreatites agudas. Em outras palavras, ao paciente com dois ou mais episódios de dor abdominal por pancreatite comprovada ou fortemente suspeitada, a abstinência total do etanol deve ser enfatizada, pois se desacelera a progressão de um processo que não é agudo, já é crônico, com nítida diminuição nos episódios de dor e no risco de abuso/dependência de analgésicos opiáceos, tão comumente encontrado nesses indivíduos.

Lesões no fígado decorrentes do abuso do álcool podem causar doenças como hepatite, cirrose, fibrose.

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 TIPO DE ESTUDO**

Estudo experimental envolvendo animais de laboratório.

### **5.2 MATERIAL**

#### **5.2.1 Drogas e soluções**

Foram utilizadas as seguintes drogas e soluções: Extrato hidroalcoólico da semente de girassol, proveniente de (YOD Comércio de Produtos Naturais LTDA,) Campinas SP, extrato foi submetido ao rotoevaporador, o cloridrato de cimetidina (150mg/ml, Teuto), álcool etílico 70%, indometacina (Indocid® 25mg, Merck) e água destilada. Cloridrato de xilazina (Rompum® 20mg/ml, Bayer) e cetamina (Ketamin-S(+))® 50mg/mL, Cristália),

#### **5.2.2 Animais**

Foram utilizados 120 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, machos, com peso corporal médio de 150-230g, provenientes do Biotério Central da UNIFENAS.

Após desmame os animais foram encaminhados ao Laboratório de Fitofármacos, tratados com água e ração *ad libitum* e mantidos com controle de

temperatura a 25° e 12h no ciclo claro/escuro, em caixas de polipropileno adequadas à sua manutenção.

Sendo separados por grupos de 5 em 5 animais por caixa, os animais foram submetidos à eutanásia por inalação de dióxido de carbono em câmaras de acrílico adaptadas.

#### 5.2.2.1 Grupos de Animais utilizados no Estudo

##### 1. Grupos Controles (GCs)

- 5 ratos (Extrato de girassol 250mg)
- 5 ratos (Extrato de girassol 500mg)
- 5 ratos (Extrato de girassol 1000mg)
- 5 ratos (Extrato de girassol 2000mg)
- 5 ratos (Etanol 70%)
- 5 ratos (Cimetidina 60mg/kg)
- 5 ratos (Indometacina 20mg/Kg)
- 5 ratos (Água)
- 5 ratos (Cimetidina X Etanol)
- 5 ratos (Cimetidina X Indometacina)
- 5 ratos (Ligadura do Píloro X Água)
- 5 ratos (Ligadura do Píloro X Cimetidina)

##### 2. Grupos de Estudo (GE)

- 5 ratos (250mg de extrato de girassol X etanol 70%)
- 5 ratos (500mg de extrato de girassol X etanol 70%)

- 5 ratos (1000mg de extrato de girassol X etanol 70%)
- 5 ratos (2000mg de extrato de girassol X etanol 70%)
- 5 ratos (250mg de extrato de girassol X indometacina 20mg/kg)
- 5 ratos (500mg de extrato de girassol X indometacina 20mg/kg)
- 5 ratos (1000mg de extrato de girassol X indometacina 20mg/kg)
- 5 ratos (2000mg de extrato de girassol X indometacina 20mg/kg)
- 5 ratos (Ligadura do Píloro - 250mg de extrato da semente do girassol)
- 5 ratos (Ligadura do Píloro - 500mg de extrato da semente do girassol)
- 5 ratos (Ligadura do Píloro - 1000mg de extrato da semente do girassol)
- 5 ratos (Ligadura do Píloro - 2000mg de extrato da semente do girassol)

### **5.3 METODOLOGIA**

As lesões gástricas nos ratos foram induzidas por etanol, segundo o modelo descrito por Robert *et al.* (1979); por indometacina, conforme relatado por Djahanguiri (1969) e pelo estresse, descrito por Takagi e Okabe (1968).

#### **5.3.1 Lesões gástricas induzidas por etanol**

Estudo da atividade antiulcerogênica e antissecretora ácida do EHSO, em ratos. Este modelo foi descrito por Robert *et al.* (1979) e nele as lesões da mucosa gástrica ocorrem independentes de qualquer efeito sobre a secreção gástrica, sendo

que a lesão se caracteriza pela presença de focos hiperêmicos e hemorrágicos indicando o comprometimento do fluxo sanguíneo pelo agente lesivo.

Para testar a atividade protetora gástrica do EHSG, o mesmo foi administrado por via oral (gavagem) nas doses de 250, 500, 1000 e 2000 mg/kg, em ratos Wistar adultos, após jejum de 12 horas e água *ad libitum*. Após uma hora do pré-tratamento, foi administrado etanol 70% (0,5 ml/ animal, v.o.). Seis horas depois da administração do etanol, os animais foram eutanasiados e a parede abdominal exposta sendo o estômago localizado e removido.

Após a remoção do estômago, o mesmo foi mantido em placa de Petri, lavado com água destilada e aberto ao longo da curvatura menor. O conteúdo gástrico foi desprezado, a mucosa lavada delicadamente com água destilada e esticada em placa de isopor. Depois deste procedimento, as mucosas foram fotografadas e transferidas para o programa *Imagelab, 2000* que verificou a quantidade e a área de cada lesão e a área total de cada mucosa.



FIGURA 5 – Remoção do estômago e do conteúdo gástrico

### 5.3.2 Lesões gástricas induzidas por indometacina

O modelo de lesões gástricas induzidas por Indometacina foi conduzido de acordo com Djahanguiri (1969). Nele, as lesões foram induzidas através da inibição

da síntese de prostaglandinas, cuja função fisiológica é estimular a secreção de muco e bicarbonato e inibir a secreção gástrica.

Para testar a atividade protetora gástrica do EHSG, o mesmo foi administrado por via oral (gavagem) nas doses de 250, 500, 1000 e 2000 mg/kg, em ratos Wistar adultos, após jejum de 12 horas e água *ad libitum*. Após uma hora do pré-tratamento, foi administrada a indometacina 20 mg/kg, por gavagem. Seis horas após a administração do anti-inflamatório, os animais foram eutanasiados em câmara de CO<sub>2</sub> e a parede abdominal exposta, o estômago localizado e removido.

Após a remoção, o estômago foi mantido em placa de Petri, lavado e aberto ao longo da curvatura menor. O conteúdo gástrico foi desprezado, a mucosa lavada delicadamente com água destilada, esticada em placa de isopor e fotografada para leitura das lesões.

### **5.3.3 Lesões gástricas induzidas pelo estresse**

As lesões gástricas por estresse foram induzidas seguindo-se o método descrito por Takagi e Okabe (1968) de imobilização do rato em compartimento individual (tubo contensor), método descrito por Basile *et al.* (1990), e a seguir imerso verticalmente, até ao nível da região xifóide, em um reservatório contendo água corrente à temperatura de 25°C, onde permaneciam por 06 horas após terem sido submetidos a um jejum de 12 horas com água *ad libitum*. Após este período, os animais foram retirados do tubo contensor e submetidos à eutanásia.



FIGURA 6 - Tubo contensor

### 5.3.4 Determinação do índice de úlceras

Após fotografia dos estômagos dos animais tratados e controles, foi determinado o índice de lesões com auxílio do programa *ImageLab*®, pela contagem e obtenção das medidas da área de cada lesão e área total das respectivas mucosas gástricas. O software *ImageLab* 2000 foi desenvolvido pelo Prof. Moacyr Domingos Novelli e pelo estagiário Ricardo Carneiro Borra. Destina-se a análises morfométricas e subtração de imagens, sendo utilizado para espécimes de escala macroscópica e microscópica.



FIGURA 7 – Fotografia do estômago e inserção no software

### 5.3.5 Método da ligadura pilórica para avaliação do pH gástrico

Este modelo foi conduzido de acordo com o descrito por Shay *et al.* (1945). O modelo da ligadura pilórica permite estudar o efeito das drogas sobre a secreção gástrica, bem como sobre eventos envolvidos na gastroproteção. Neste método, o conteúdo gástrico, acumulado durante 4 horas, foi avaliado em termos de volume secretado e leitura do pH.

Para fazer a ligadura no piloro, os ratos em jejum (12 horas) foram anestesiados com cloridrato de xilazina (Rompum® 20mg/ml, Bayer) e cetamina (Ketamin-S(+))® 50mg/mL, Cristália), posicionados em decúbito dorsal em contendor específico para cirurgia de pequenos animais.

Através de uma incisão de cerca de 2 cm no abdômen, o estômago foi localizado e o piloro amarrado com fio de sutura seda 3-0 agulhado. Em seguida, a parede abdominal e a pele foram suturadas. Após foi administrada água destilada (1ml/animal) por via gástrica (sondagem orogástrica - SOG) nos animais controle.

A cimetidina 60 mg/kg e o EHSG nas concentrações de 250, 500, 1000 e 2000 mg/kg foram administrados por SOG nos animais tratados. Quatro horas após a cirurgia, os animais foram eutanasiados e seus estômagos removidos após pinçamento do esôfago, para evitar perda do material secretado, lavados externamente com água destilada, secados com gaze e mantidos em placa de Petri.

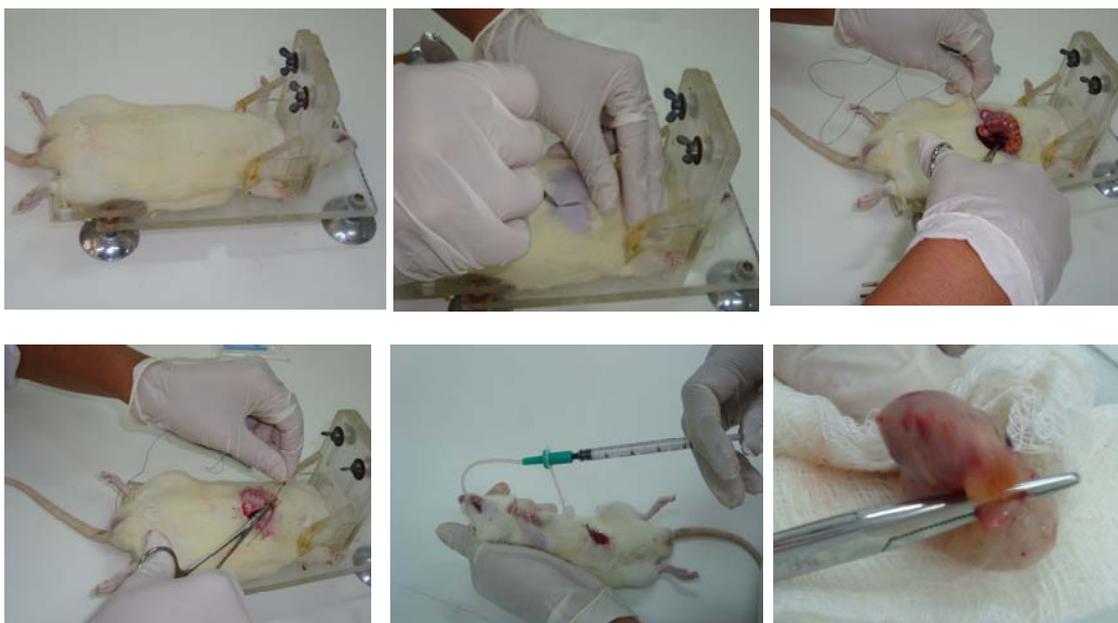


FIGURA 8 – Técnica da ligadura pilórica

Após foram realizadas duas técnicas para avaliação do pH gástrico:

#### 5.3.5.1 Modelo do pH com acréscimo de água

O modelo do pH com acréscimo de água é descrito por Shay *et al.* (1945). O estômago foi aberto ao longo da curvatura menor, o resíduo gástrico coletado em becker sendo medido seu volume em seringa graduada, uma para cada resíduo e a mucosa lavada com 3 ml de ABD . Os tubos foram centrifugados (1500 rpm x 30 min. em CENTRÍFUGA EXCELSA® II MODELO 206 MP FANEM® SÃO PAULO - BRASIL), e o pH medido pelo pHmetro.

#### 5.3.5.2 Modelo do resíduo gástrico puro

O modelo do pH descrito por Shay (1945), foi modificado pelo autor: o estômago foi aberto ao longo da curvatura menor o resíduo gástrico coletado em

becker e medido o volume em seringa graduada, sendo uma para cada resíduo, e o pH medido pelo pHmetro.

#### **5.4 AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA**

As análises estatísticas dos resultados foram analisadas utilizando-se o Programa GraphPad Prism 5. Utilizaram-se os seguintes testes estatísticos:

- Para análise das lesões no estômago, utilizou-se a Análise de Variância (Anova) + Comparação múltipla com o teste de Tukey (testes paramétricos).
- Para análise do pH do estômago, utilizou-se o Kruskal–Wallis + Comparação múltipla com o teste de Dunn (testes não paramétricos).

Considerou-se o nível de significância de 5%, ou seja, os dados foram estatisticamente significantes para  $p < 0,05$ .

#### **5.5 ASPECTOS ÉTICOS**

Todo o experimento obedeceu aos princípios éticos em experimentação animal, respeitando-se a Legislação Brasileira de Animais de Experimentação regulamentada pela Lei Federal 6.638 (1979), preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano, sob o protocolo nº 04 A / 2009.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

**TABELA 1**  
**Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSO) sobre as lesões gástricas induzidas por estresse em ratos.**

Grupos	Estatística Descritiva*			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	20,10 ± 22,3	13,20	1,67	132,80
Cimetidina	5,54 ± 5,8	3,63	0,44	26,86
Girassol 250 mg	13,92 ± 9,5	9,46	2,20	32,45
Girassol 500 mg	22,42 ± 33,5 ***	6,82	0,44	138,60
Girassol 1000 mg	12,75 ± 14,2	7,82	0,22	78,10
Girassol 2000 mg	24,42 ± 42,7 ***	7,86	0,22	149,20

\* Aplicação da ANOVA: valor-p = 0,0096

\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (água)

\*\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (Cimetidina)

Pode-se observar pelos dados da TAB. 1, referente o efeito do EHSO sobre as lesões gástricas induzidas por estresse em ratos Wistar, que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados (p = 0,0096). O girassol, nas dosagens de 500 e 2000mg/Kg, apresentou os maiores valores de média; 22,42 e 24,42, respectivamente, tendo significância estatística com o controle (Cimetidina 150mg/Kg) (p>0,05). Enquanto o girassol nas dosagens de 250 e 1000mg/Kg apresentou médias de 13,92 e 12,75, respectivamente, não havendo diferença estatisticamente significativa com nenhum controle (água ou cimetidina) (p>0,05). Dessa forma, acredita-se que o girassol nas dosagens de 250mg e 1000mg/Kg apresenta algum efeito protetor sobre a mucosa gástrica.

Úlceras provocadas por estresse são devidas a fatores psicológicos e fisiológicos (MILLER, 1996). O estresse induz a peroxidação lipídica a partir do aumento dos níveis de peroxidase lipídica. A consequência desse processo é o aumento da geração de espécies livres de oxigênio reativo, ocasionando, conseqüentemente, dano oxidativo, que é considerado fator comum na patogenia de

diferentes modelos experimentais e clínicos de úlcera (GOEL; BHATTACHARYA, 1991; SAIRAM *et al.*, 2002).

No presente estudo, as lesões gástricas em animais submetidos ao estresse diminuiu significativamente em relação ao controle, quando os mesmos foram tratados com (EHSG) nas doses de 250 e 1000mg/kg com Cimetidina,  $13,92 \pm 9,5$ ,  $12,75 \pm 14,2$  respectivamente; essas dosagens sugerem proteção contra as lesões gástricas no estresse (TAB. 1).

O óleo de girassol possui alta concentração de ácido linoléico que, por sua vez, é o mais potente mediador pró-inflamatório, causando migração de granulócitos e macrófagos, ou seja, ele é essencial para regulação dos eventos bioquímicos que precedem a mitogênese fibroblástica, uma vez que estimula alguns fatores de crescimento celular, de acordo com estudos realizados por Glasgow e Eling (1990).

Cabe ressaltar que, no estudo de Goel *et al.* (1987), a úlcera induzida pelo modelo de estresse, a administração oral duas vezes ao dia de óleo lapachol 5 mg/kg, durante 3 dias, promoveu uma redução de 56% do índice de úlceras. Neste mesmo trabalho, foi descrito que o lapachol não afetou nenhum parâmetro secretório, exceto o conteúdo de proteínas do suco gástrico, que foi reduzido significativamente.

Cabe salientar que existem evidências sólidas que indicam que o estresse fisiológico gera úlcera gástrica e prejudica a resposta ao tratamento, assim, o estresse fisiológico funciona como um cofator com o *H. pylori* para a formação da úlcera gástrica (LEVENSTEIN, 1998).

**TABELA 2**  
**Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSg) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em ratos.**

Grupos	Estatística Descritiva *			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	20,10 ± 22,3	13,20	1,67	132,80
Etanol	37,67 ± 61,9	17,09	0,44	410,40
Cimetidina + Etanol	19,84 ± 15,7	16,28	3,85	78,78
Girassol 250 + Etanol	22,05 ± 18,1	15,84	0,66	87,47
Girassol 500 + Etanol	27,12 ± 31,1	14,80	0,44	152,00
Girassol 1000 + Etanol	24,72 ± 25,3	15,75	2,86	108,30
Girassol 2000 + Etanol	31,16 ± 36,2	15,85	1,21	200,00

\* Aplicação da ANOVA: valor-p = 0,0743

\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (água)

\*\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (etanol)

\*\*\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (Cimetidina+Etanol)

Com referência ao efeito do EHSg sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em ratos Wistar (TAB. 2), é possível verificar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados ( $p = 0,0743$ ). O girassol nas dosagens de 250mg e 1000mg/Kg apresentou os menores valores de média; 22,05 e 24,72, respectivamente. Enquanto os maiores valores de média foram encontrados no girassol com dosagem de 500mg/Kg (27,12) e 2000mg/Kg (31,16).

Na comparação múltipla dos grupos estudados, pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre o girassol (nas quatro dosagens) e os grupos controles (água, etanol e cimetidina + etanol) ( $p > 0,05$ ). Cabe salientar que, mesmo não havendo diferença estatística, o girassol nas dosagens 250 e 1000 mg/Kg apresentou valores de média menores que as outras dosagens, assim como foi encontrado no modelo induzido por estresse (TAB. 1).

As lesões gástricas induzidas por etanol são resultantes de danos diretos às células da mucosa, decorrentes da hiperoxidação de lipídeos e da formação de radicais livres que atacam moléculas como enzimas, proteínas ou receptores. Desta forma, compostos antioxidantes podem ser ativos neste modelo experimental,

produzindo atividade antiulcerogênica (PUURUNEN, HUTTUNEN e HIRVONEN, 1980; PIHAN, REGILLO e SZABO, 1987).

Para Mizui e Doteuchi (1983) o modelo de indução por etanol avalia, entre outras, a atividade de substâncias citoprotetoras. O etanol produz lesões necróticas na mucosa gástrica, e a presença de ácido clorídrico acelera e agrava esse processo. Enquanto, conforme Robert (1979), as ulcerações induzidas por etanol não são inibidas por substâncias que interferem na secreção de ácido, como a cimetidina, mas são inibidas por agentes que aumentam os fatores de defesa da mucosa, como, por exemplo, as prostaglandinas.

Valem mencionar que o mecanismo da lesão induzida por etanol é bastante variado, incluindo a redução da secreção de bicarbonato e da produção de muco, danos ao fluxo sanguíneo gástrico e lesão de células da mucosa (BIRDANE *et al.*, 2007; MARHUENDA *et al.*, 1993).

As lesões gástricas induzidas por etanol são também associadas à produção excessiva de radicais livres, que atacam constituintes celulares essenciais como ácidos nucléicos, proteínas e lipídeos (LA CASA *et al.*, 2000).

Já o aumento do conteúdo de peróxidos lipídicos e radicais livres derivados de oxigênio resulta em alterações significativas em nível celular e causam danos às membranas, morte celular, esfoliação e erosão epitelial (BIRDANE *et al.*, 2007).

**TABELA 3**  
**6.3 Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos.**

Grupos	Estatística Descritiva *			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	20,10 ± 22,3	13,20	1,67	132,80
Indometacina	26,33 ± 16,9	10,18	0,66	139,40
Cimetidina+Indometacina	8,54 ± 2,4	5,50	0,44	80,30
Girassol 250 + Indometacina	7,73 ± 9,3 ***	5,11	0,22	69,85
Girassol 500 + Indometacina	23,65 ± 42,6 ****	11,22	0,44	215,70
Girassol 1000 + Indometacina	19,54 ± 20,1 ****	12,21	0,26	97,57
Girassol 2000 + Indometacina	25,47 ± 41,8 ****	9,13	0,66	202,60

\* Aplicação da ANOVA: valor-p < 0,0001

\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (Água)

\*\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (Indometacina)

\*\*\*\*Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (Cimetidina+Indometacina)

Com relação ao efeito do EHSG sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos, pode-se verificar que houve diferença estatisticamente entre os grupos avaliados ( $p < 0,0001$ ) (TAB. 3). O girassol na dosagem de 250mg/Kg apresentou o menor valor de média (7,73) e nas demais dosagens encontradas os maiores valores de média.

Ao realizar a comparação múltipla entre os grupos, observa-se que o girassol (250mg/Kg) apresentou diferença significativa com o controle (Indometacina) ( $p < 0,05$ ) e o girassol nas dosagens de 500, 1000 e 2000mg/Kg apresentou diferença estatisticamente significativa com o grupo controle (cimetidina + indometacina) ( $p < 0,05$ ). Assim, acredita-se que o girassol 250mg/Kg apresenta algum efeito protetor sobre a mucosa gástrica, como foi encontrado também no modelo induzido pelo estresse (TAB. 1).

Em estudo de Farsam *et al.* (2000), os resultados do teste de atividade antiulcerogênica mostraram que, após indução das lesões ulcerativas por indometacina, a dose de 100 mg/kg do extrato etanólico reduziu o índice de lesões ulcerativas em 16,11% ( $p < 0,05$ ), enquanto 200 mg/kg produziram 27,71% ( $p < 0,01$ ) de inibição. A dose de 200 mg/kg reduziu o volume gástrico e aumentou o pH de

forma significativa. A dose de 200 mg/kg reduziu as lesões ulcerativas em 32,26% ( $p < 0,001$ ) e volume gástrico em 27,07% após indução de úlceras por etanol. O pH do suco gástrico aumentou nas doses de 100 ( $2,12 \pm 0,12$ ) e 200 mg/kg ( $2,62 \pm 0,19$ ) quando comparadas ao controle ( $1,87 \pm 0,19$ ).

A atividade anti-inflamatória do extrato etanólico de *E. erythropappus*, sugerida no teste da formalina, foi confirmada pelo modelo do edema da pata induzido por carragenina através da redução do volume deslocado. Como agente inflamatório, a carragenina induz inflamação pela liberação de prostaglandinas, ocasionando a formação de um edema. Anti-inflamatórios não-esteróides, como a indometacina, inibem a ciclooxigenase, reduzindo a biossíntese de prostaglandina. Provavelmente, o extrato testado possui ação semelhante a este anti-inflamatório (FARSAM *et al.*, 2000).

Em pesquisa realizada por Wallace (2001), os resultados indicam que o extrato etanólico de *E. erythropappus* previne lesões gástricas, reduz o suco gástrico e aumenta o pH gástrico após indução de úlceras por indometacina e por etanol. A ulceração gástrica induzida por indometacina é decorrente da inibição da síntese de prostaglandinas.

As lesões gástricas induzidas por etanol, segundo Kinoshita *et al.* (1995), envolvem a depressão dos mecanismos de defesa gástrica, assim como a redução da produção do muco, do fluxo sanguíneo da mucosa gástrica, da secreção de bicarbonato, da glutathione endógena e das prostaglandinas. Além disso, a ação do etanol aumenta a liberação de histamina, influxo de cálcio, geração de radicais livres e produção de leucotrienos (GLAVIN e SZABO, 1992).

**TABELA 4**  
**Efeitos do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSO) sobre o pH gástrico de ratos, utilizando os modelos de adição de água e resíduo gástrico puro e a correlação entre esses modelos.**

Grupos	Modelos ***							
	Adição de água *				Resíduo gástrico puro **			
	Estatística Descritiva				Estatística Descritiva			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	0,82 ± 0,13	0,82	0,64	1,02	0,63 ± 0,09	0,68	0,47	0,70
Cimetidina	1,15 ± 0,55	1,01	0,67	2,08	0,94 ± 0,43	0,83	0,58	1,68
Girassol 250	0,95 ± 0,38	0,83	0,66	1,60	0,66 ± 0,19	0,61	0,55	1,01
Girassol 500	0,74 ± 0,19	0,63	0,57	1,01	0,56 ± 0,09	0,53	0,46	0,70
Girassol 1000	0,75 ± 0,20	0,69	0,57	1,10	0,62 ± 0,20	0,55	0,45	0,97
Girassol 2000	0,69 ± 0,12	0,70	0,52	0,86	0,56 ± 0,10	0,60	0,41	0,68

\* Aplicação do Kruskal-Wallis: valor-p = 0,3088

\*\* Aplicação do Kruskal-Wallis: valor-p = 0,1990

\*\*\* Aplicação do Kruskal-Wallis: valor-p = 0,0132

NOTA: Comparação múltipla (Teste de Dunn) =  $p > 0,05$

Os dados da TAB. 4 apresentam os efeitos do EHSO via SOG sobre o pH do resíduo gástrico dos ratos tratados. Pode-se observar que tanto pelo modelo da adição da água quanto pelo modelo do resíduo gástrico puro, ao se aplicar o Teste Kruskal-Wallis, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos controles e grupos tratados ( $P = 0,3088$  e  $p=0,1990$ , respectivamente), assim como não houve significância estatística entre esses grupos ao se realizar a comparação múltipla ( $p>0,05$ ).

Vale ressaltar que, ao realizar a comparação entre os dois modelos (adição de água e resíduo gástrico puro), houve diferença estatisticamente significativa entre eles ( $p=0,0132$ ). Dessa forma, os valores de pH são diferentes quando se realizam as duas técnicas, ou seja, no modelo de adição de água, o pH de todos os grupos estudados são maiores (TAB. 4).

Outro dado que merece ser destacado é que, dos quatro grupos tratados com girassol, a dosagem de 250mg/Kg apresentou maior valor de pH, tanto pelo modelo de adição de água quanto pelo resíduo gástrico puro (TAB. 4). Acredita-se, assim,

que nessa dosagem ocorre maior proteção gástrica, como observado nas tabelas anteriores.

Souza-Formigoni *et al.* (1991) e Antônio e Souza-Brito (1998), avaliando o potencial antiulcerogênico da *M. ilicifolia* e da *M. aquifolium*, respectivamente, verificaram que as mesmas protegem a mucosa gástrica, quando comparadas com a cimetidina. Nesses estudos foram observados também que a proteção gástrica é acompanhada pelo aumento do pH.

Os resultados do presente estudo vão ao encontro daqueles obtidos por Gonzalez e Di Stasi (2003) que concluíram que os flavonóides podem ser reconhecidos como compostos ativos contra lesões gástricas. Cabe mencionar que os autores utilizaram a técnica de remoção do estômago, com uma pequena incisão feita próximo ao piloro e o pH gástrico medido, usando indicador de pH (Merck).

Tariq e Al Moutaery (2005) descreveram a ação protetora gástrica da menadiona, composto presente na *Tabebuia avellanedae*. Esses autores verificaram que a administração de menadiona via oral em ratos, reduziu a acidez gástrica, utilizando o modelo de ligadura do piloro, e protegeu a mucosa gástrica contra lesões induzidas por etanol.

## 7 CONCLUSÃO

Diante do trabalho exposto, conclui-se que:

- O EHSO, nas dosagens 250 e 1000mg/kg, parece apresentar proteção contra as lesões gástricas no modelo pelo estresse.
- No modelo de indução de úlcera gástrica por etanol, o EHSO apresentou atividade dose-dependente, sendo que a dose de 250 e 1000 mg/kg mostrou valores de média menores que as outras dosagens, assim como foi encontrado no modelo induzido pelo estresse em relação ao grupo controle, indicando provável proteção gástrica.
- A indometacina na concentração empregada provocou número significativo de lesões macro e microscópicas na mucosa gástrica de ratos. No modelo de indução de úlcera gástrica por indometacina, a dosagem de EHSO 250mg/kg sugeriu uma provável proteção gástrica.
- Em relação ao resíduo gástrico puro, verificou-se que este é mais ácido que pela técnica de adição de água, significando que esta última técnica está aumentando o pH. Dessa forma, é possível comprovar que a técnica do resíduo gástrico puro é mais indicada e mais prática.

Assim, os dados obtidos na administração do EHSO não contrariam seu uso popular, não somente pela atividade observada, embora estudos clínicos devam ser

realizados para confirmação dessa hipótese, assim como para verificar a eficácia das técnicas para verificação do pH gástrico.

Por fim os resultados tornam a planta interessante alvo de estudo, visando ao desenvolvimento de fitomedicamentos ou à busca de novas entidades químicas com ação antiulcerogênica.

## REFERÊNCIAS

ABITBOL, R.A. Doença ulcerosa péptica. In: **Medstudents**: Rotinas de Clínica Médica. Disponível em: <<http://www.medstudents.com.br/rotinas/clinmed/dup.htm>>. Acesso em: 20 jan. 2005.

AME - **Dicionário de administração de medicamentos na enfermagem**. 5.ed. São Paulo: EPUB, 2007/2008.

AMERICAN SOCIETY OF HEALTH SYSTEM-FARMACÊUTICOS, Inc. Bethesda, Maryland Copyright 2008.

ANTÔNIO, M.A.; SOUZA-BRITO, A.R.M. Oral anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities of a hydroalcoholic extract and partitioned fractions of *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). **J Ethnopharmacol**, n.61, p.215-228, 1998.

ARRIETA, J. et al; Purification of gastroprotective triterpenoids from the stem bark of *Amphipterugium adstringens*; role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. **Planta Med.**, v.69, n.10, p.905-909, 2003.

BASILE, A. C. et al. Pharmacological assay of *Casearia sylvestris*. I: Prevetiv anti-ulcer activity and toxicity of the leaf crude extract. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 30, p. 185-197, 1990.

BERTOLINI, A.; OTTANI, A.; SANDRINI, M. "Dual acting anti-inflammatory drugs: a reappraisal". **Pharmacological Research**, v.44, p.37-50, 2001.

BI, L.C.; KAUNITZ, J.D. Gastroduodenal mucosal defense: an integrated protective response. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v.19, p.526-532, 2003.

BIRDANE, F.M. et al. I. Beneficial effects of *Foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. **World J Gastroenterol**, v.13, p.607-611, 2007.

BLASER, M.J. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. **The Journal of Infectious Diseases**, v.161, p. 626-633, 1990.

BOLDI, A. Libraries from natural products-like scaffolds. **Curr. Opin. Chem. Biol.**, v.8, p.281-286, 2004.

BORRELLI, F.; IZZO, A.A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytotherapy Research**, v. 14, p. 581-591, 2000.

BURN, G.O.; BURN, M.M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fatty acid from diet. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 82, p. 435-467, 1929.

BURN, G.O.; BURN, M.M. The nature of fatty acids essential in nutrition. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 86, p. 587-621, 1930.

BURR, H.; BURR, M. **AGES in epitelial homeostasis**. Califórnia : American Society of Dermatology, 1979.

BURR, H.; BURR, M. **AGES in epitelial homeostasis**. Califórnia : American Society of Dermatology, 1994.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin América. A personal view. **J. Ethnopharmacol.**, v.100, p.131-134, 2005.

COMUNIDADE Espiritual. Disponível em: <<http://www.comunidade-espiritual.com>>. Acesso em: 14 de mar.2009.

CRUZ, G.L. **Dicionário de Plantas úteis do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1982. p. 141-42.

DECLAIR, V; CARMONA, M. **Ácidos graxos essenciais**: protetores celulares dos mecanismos agressivos da lesão hipóxica. São Paulo: Dermatologica Atual, 1994.

DEMBINSKI, A. et al. T. Role of capsaicin sensitive nerve and histamine, H1, H2 and H3 receptors in the gastroprotective effect of histamine against stress ulcer in rats. **Eur. J. Pharmacol.**, v.508, p.211-222, 2005.

DI STADI, L. C. **Plantas medicinais arte e ciências**. São Paulo: UNESP, 2003. p.65-67.

DJAHANGUIRI, B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. **Scand. J. Gastroenterol.**, v.4, p. 265, 1969.

EASTWOOD, G.L. Is Smoking Still Important in the Pathogenesis of Peptic Ulcer Disease? **Journal of Clinical Gastroenterology**. v.25, Suppl.1:S1-S7, 1997.

EKBLAD, E.; MEI, Q.; SUNDLER, F. Innervation of the gastric mucosa. **Micros. Res. Tech.**, v.48, p.241-257, 2000.

EL-OMAR, E.M. et al. A. Increased prevalence of precancerous changes in relatives of gastric cancer patients: Critical role of Helicobacter pylori. **Gastroenterology**. v. 118, p. 22-30, 2000.

EMANUELE, M.A.; WEZEMAN, F.; EMANUELE, N.V. Alcohol`s effects on female reproductive function. **Alcohol Res Health**, v.26, p.274-281, 2002.

FARSAM H.; AMANLOU, M. DEHPOUR, A.R.; JAHANIANI, F. Anti-inflammatory and analgesic activity of Biebersteinia multifida DC. root extract. **J Ethnopharmacol**, n. 71, p.443-447, 2000.

FERRANDO, J. Ensayo clinico de um preparado tópico conteniendo: urea,aceite de Helianthus annus, aceite de Oenothera biennis, aceite de gérmen de trigo y piruvato sódico, sobre diversos processos cultaneos hiperqueratosicos. **Medicina Cutânea Ibero-Latino-Americana**, Barcelona, v.14, n.2, p.133-137, 1986.

FERREIRA, S.H. (org.) **Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1998.

FONTE, N.N.A. Complexidade das Plantas Medicinais: Enfoque Farmacêutico. In: CORREIA JR, C.; GRAÇA, L.R.; SCEFFER, M.C. **Complexo Agroindustrial das Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares no Estado do Paraná – Diagnóstico e Perspectivas**. Curitiba: EMATER, 2004. p.24-45.

GLASGOW, W.C.; ELING, G.T. Epidermal growth factor simulates linoleic acid metabolic in BAB/C 3T3 fibroblast. **Molecular Pharmacology**, Bethesda, v.38, p.503-510, 1990.

GAUGHAN, E.M. Managing tendinitis in horses. **Vet Med**, n.898, p.789-94, 1994.

GLAVIN, G.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. **The FASEB Journal**, v.6, p.825-831, 1992.

GOEL, R.K.; BHATTACHARYA, S.K. Gastroduodenal mucosal defense and mucosal protective agents. **Indian J Exp Biol**, v.29, p.701-714, 1991.

GOEL, R.K. et al. V. Effect of Lapachol, a naphthoquinone isolated from *Tectona grandis*, on experimental peptic ulcer and gastric secretion. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.39, p.138-140, 1987.

GLAVIN, G.B.; SZABO, S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. **FASEB Journal**, v. 6, p. 825-831, 1992.

GONZALEZ, F.G; DI Stasi, L.C. Antiulcerogenic and analgesic activities of the leaves of *Wilbrandia ebracteata* in mice. *Phytomedicine*, v. 9, p.125-134, 2003.

GILANI, A.H.; ATTA-UR-RAHMAN. Trends in ethnopharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, p.43-49, 2005.

HARTOP, P.J. et al. The repair of impaired epidermal barrier function in rats by the cutaneous application of linoleic acid. **British Journal of Dermatology**, Oxford, v. 94, p.13-21, 1976.

HARRIS, D.C. Medida do pH com um eletrodo de vidro. In: **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. cap.15-5, p.312-319.

JEZYK, P.F. Mucopolysaccharidosis in a cat with arylsulfatase B deficiency: A model of maroteaux-Lamy syndrome. **Science**, v. 198, p.834, 1977.

JONES, J.I.W.; HAWKEY, C.J. Physiology and organ-related pathology of the elderly: stomach ulcers. **Best Pract. & Res. Clin. Gastroenterol.**, v.15, n.6, p.943-961, 2001.

KATZUNG, B.G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p.635-642.

KINOSHITA, M.; TSUNEHISA, N.; TAMAKI, H. Effect of a combination of ecabet sodium and cimetidine on experimentally induced gastric-lesions and gastric-mucosal resistance to ulcerogenic agents in rats. **Biol Pharm Bull**, v,18, p. 223-226, 1995.

KOCH, S.A., LANGLOSS, J.M. ; SCHIMIDT, G.M. Corneal epithelial inclusion cysts in four dogs. **JAAHA** , p.1164-1190, 1974.

LAFEPE - Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – Disponível em: //http://www.lafepe.pe.gov.br. Acesso em: 5 de dez. 2006.

LA CASA, C. et al. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. **J Ethnopharmacol**, v. 71, p.45-53, 2000.

LEE, A.;et al. Local acid production and Helicobacter pylori: a unifying hypothesis of gastroduodenal disease. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**. v.7, p. 461-465, 1995.

LEVENSTEIN, S. Stress and peptic ulcer: life beyond helicobacter. **BMJ (Clinical research ed.)**, v.316, p.538-541, 1998.

LÉVESQUE, H.; LAFONT, O. Aspirin throughout the ages: a historical review. **La Revue de Médecine Interne**, Paris, v.21, n.1, p.8-17, 2000.

LIDE, D. R. (ed.), TAYLOR; FRANCIS. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. 88.ed (Internet version 2008). Boca Raton, FL. Disponível em: <[www.hbcnetbase](http://www.hbcnetbase.com)>. Acesso em: 1 maio 2008.

LINN, D.S.; SHERPHED, M.I. Evolution of vitamin F. **Drug Cosmetic Industrial**, Washington, v.38, p.329, 1986.

LIPTAK, J.M. An overview of the topical management of wounds. **Australian Veterinary Journal**, Artamon, v. 75, n.6, p.408-413, 1997.

LIPOF, T.; SHAPIRO, D.; KOZOL, R.A. Surgical perspectives in peptic ulcer disease and gastritis. **World Journal of Gastroenterology**. v.20, p.3248-3252, 2006.

MANDELBAUM, S.H.; DISANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares- Parte I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p.393-410, jul./ago. 2003.

MARQUES, S.R. et al. Efeitos da aplicação tópica de óleo de sementes de girassol em feridas cutâneas, em carneiros. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.19, n.3, p.1-13, maio/jun. 2004.

MARHUENDA, E.; MARTIN, M.J.; ALARCON DE LA LASTRA, C. Antiulcerogenic activity of aescine in different experimental models. **Phytother Res**, v.7, p.13-16, 1993.

MEDICAMENTOS on line. Disponível em:  
<<http://www.netdrugs.info/images/moleculas.com>>. Acesso em: 14 de mar.2009.

MILANI, S.; CALABRÒ, A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. **Microscopy Research and Technique**, v. 53, p.360-371, 2001.

MILLER, T.A.. Mechanism of stress-related mucosal damage. **Am J Med**, v.83, p. 8-14, 1997.

MIZUI, T.; DOTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. **Jpn J Pharmacol**, v.33, p.939-945, 1983.

NEWTON, J. Effect of age related changes in gastric physiology on tolerability of medications for older people. **Drugs Aging**, v.22, n.8, p.655-661, 2005.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamental de farmacobotanica**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1997. p. 157-63.

ONO, I.; ZHOU, L.J.; TATESHITA, T. Effects of a collagen matrix containing protaglandin E on wound contraction. **Journal of Dermatological Science**, v. 25, p.106-115, 2001.

PARSONNET, J.; HANSEN, S.; RODRIGUEZ, L. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. **The New England Journal of Medicine**, v.330, p. 1267-1271, 1994

PARRY, D.A.D.; CRAIG, A.S. Growth and development of collagen fibrils in connective tissue. In: RUGGERIC A, MOTTA PM (eds). **Ultrastructure of the connective tissue matrix**. Haghe: Martinus Nihoff,1984. p.34 – 64.

PIHAN, G.; REGILLO, C.; SZABO, S. Free radicals and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric mucosal injury. **Dig Dis Sci**, v.32, p.1395-1401, 1987.

PORTAS, A.A. **Produção artesanal de óleo de girassol**. Campinas: Cati, 2001. p.1-10.

PRESS, J. **Serum lipidic alterations by the use of sunflower oil on topical applications**. Norwalk: ARCH, 1975.

PROTTEY, C.; HARTOP, P.J.; PRESS, M. Correction of cutaneous manifestations of essential fatty acids deficiency in man by application of sunflower seed oil to the skin. **Journal of Investigative Dermatology**, Malden, v. 64, p. 228, 1975.

PROTTEY C. Investigation of functions of essential fatty acids in the skin. **British Journal of Dermatology**, Oxford, v.97, p.29-47, 1977.

PUURUNEN, J.; HUTTUNEN, P.; HIRVONEN, J. Is ethanol-induced damage of the gastric mucosa a hyperosmotic effect: comparative studies on the effects of ethanol, some other hyperosmotic solutions and acetylsalicylic acid on rat gastric mucosa. **Acta Pharmacol Toxicol**, n. 47, p.321-327, 1980.

RANG, H.P; DALE, M.M; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 585-587.

ROBERT, et al. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. **Gastroenterol**, v.77, p.433-443, 1979.

ROBERT, A. Cytoprotection by prostaglandins. **Gastroenterology**, v.77, p.761-767, 1979.

REPETTO, M.G.; LLESUY, S.F. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.35, p.523-534, 2002.

RESENDE, J.M. et al. **Rev. Goiana méd**, v.29, p.41-49, jan/jun. 2000.

SAIRAM, K. et al. Antiulcerogenic effect of methanolic extract of *Embllica officinallis*: an experimental study. **J Ethnopharmacol**, v.82, p.1-9, 2002.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G.; YESILADA, E. Traditional medicine and gastroprotective crude drugs. **J. Ethnopharmacol.**, v.100, p.61-66, 2005.

SCHUBERT, M. Gastric secretion. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v.21, p.636-643, 2004.

SHAY, H.; et al. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in rat. **Gastroenterol.**, v.5, p.43-61, 1945.

SHEPERD, H.; LINN, K.L. **AGE applications on epitelial lesion**. New York: American Journal of Dermatology, 1986.

SINCLAIR, H. M.; BASNAYEKE, V. Skin permeability in deficiency of essential fatty acids. **Journal of Physiology**, Cambridge, v.126, p.55, 1954.

SINCLAIR, G.L.; SINCLAIR, J. **AGE uses in especific dermatoses**. New York: Macmillan, 1989.

SOUZA-FORMIGONI, M.L.O. et al. Antiulcerogenic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. **J Ethnopharmacol**, v.34, p.21-27, 1991.

SORBYE H.; SVANES, K. The role of blood flow in gastric mucosal defence, damage and healing. **Digestive Diseases**, v.5, p.305-317, 1994.

SÜLEYMAN, H.; DEMIRCAN, B.; KARAGÖZ, Y. "Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors". **Pharmacological reports**, v.59, p.247-58, 2007.

SZABO, S., Mechanisms of gastric mucosal injury and protection. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v.13, p.21-34, 1991.

TAKAGI, K.; OKABE, S. The effects of drugs on the production and recovery processes of the stress ulcer. **Japanese Journal of Pharmacology**, v.18, p.9-18, 1968.

TARIQ, M.; AL MOUTAERY, A. Menadione protects gastric mucosa against ethanol induced ulcers. **The Experimental and Toxicological Pathology**, v. 56, n.6, p.393-399, 2005.

TESKE, M.; TRENTINI, A.M. **Herbarium**: compendio de fitoterapia. 3.ed. Curitiba: Editora Herbarium, 1997. p.86-88.

VANTORP, D.A. Essential fatty acids and prostaglandins. **Pure Appl Chem**,v. 24,n.2, p.117-122 , 1974.

VAN DORP, J. **Reparation of dermatoses by AGE actions**. Glasgow: American Journal of Dermatology, 1990.

VASCONCELOS, E. The usefulness of topical application on of essential fatty acids to prevent pressure ulcers, **Ostomy/Wound Management**, v.43, p.48-52, 1997.

VINATURO, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of trioactive principles from herbs. **Ultrasonics Sonochemistry**, Netherlands, v.8, n.3, p. 303-313, jul. 2001.

WALLACE, J.L. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. **Am J Med**. v.110, p.19-22, 2001.

WALLACE, J.L. Mechanisms of Protection and Healing: Current Knowledge and Future Research. **The American Journal of Medicine**, v.110, p.19-23, 2001a.

WALLACE, J. L. Pathogenesis of NSAID-induced gastroduodenal mucosal injury. **Best Practice ; Research Clinical Gastroenterology**, v.15, p.691-703, 2001b.

WALLACE, J L. Cyclooxygenase-2-derived lipoxin A4 increases gastric resistance to aspirin-induced damage. **Gastroenterology**, v.123, p.1598-1606, 2003.

WALLACE, J.L. COX-2: A Pivotal Enzyme in Mucosal Protection and Resolution of Inflammation. **The Scientific World Journal**. v.6, p.577-588, 2006.

WALLACE, J.L.; GRANGER, D. N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. **Faseb. Journal**, v.10, p.731-740, 1996.

WHITTLE, B.J.R. Mechanisms underlying intestinal injury induced by antiinflammatory COX inhibitors. **Eur. J. Pharmacol.**, v.500, p.427-439, 2004.

YAO, X.; FORTE, J. Cell biology of acid secretion by the parietal cell. **Annu. Rev. Physiol.**, v.65, p.103-131, 2003.

ZANOSCHI, C.; et al. The efficiency of some natural drugs in the treatment of burns. **Revista. Medico Chirurgicala**, Romania., v.95, p.63-65, 1991.

ZEVERING, Y.; JACOB, L.; MEYER, T.F. Naturally acquired human immune response against *Helicobacter pylori* and implications for vaccine development. **Gut**, v.45, p.465-474, 1999.

ZIBOH, V.A. The significance of polyunsaturated fatty acids in cutaneous biology. **Lipids**, Campaign, v. 31, p. 249-53, 1996.

## ANEXOS

### ANEXO - Aprovação do Comitê de Ética



#### PARECER N.º 04A/2009

O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP, da UNIFENAS, Setor de Experimentação Animal, tendo analisado, nesta data, o protocolo do projeto de pesquisa intitulado, **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA GÁSTRICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA SEMENTE DE GIRASSOL**, de autoria da Profa. Juslene Aparecida Oliveira da Costa, resolveu enquadrá-lo na categoria de aprovado.

Alfenas, 04 de maio de 2009.

Profª/Dra. Letizia Monteiro de Barros  
Coordenadora do CEP



## ANEXO B – Artigo Científico

### AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA GÁSTRICA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DA SEMENTE DE GIRASSOL (*HELIANTHUS ANNUS* LINNÉ)

Evaluation of the gastroprotective activity of the hydroalcoholic extract of  
sunflower (*Helianthus annus* Linné) seeds.

Juslene Aparecida Oliveira\*, Ana Maria Duarte Dias Costa\*\*, Fábio de Souza  
Terra\*\*\*, Marcelo Fabiano Gomes Boriollo\*\*\*\*, Evelise Aline Soares\*\*\*\*\*

\* Mestre em Saúde pela UNIFENAS, Especialista em Educação pela UFMG, em CTI pela UNIVAS, Professora no Curso de Enfermagem Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS.

\*\* Doutora em Farmacologia pela UNICAMP, Professora Titular do Curso de Medicina e Odontologia da Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS, e Coordenadora do Mestrado em Saúde da UNIFENAS.

\*\*\* Mestre em Saúde pela UNIFENAS, Professor no Curso de Enfermagem e Medicina da Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS e Doutorando em Enfermagem Fundamental pela Escola de Enfermagem em Ribeirão Preto da USP.

\*\*\*\*Doutor em Biologia Patologia Bucodental, pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Docente em Medicina ,Farmácia, Biomedicina e Nutrição na Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS.

\*\*\*\*\*Doutoranda e Mestre em Biologia Celular e Estrutural, área Anatomia, pela UNICAMP e Docente de Anatomia e Neuroanatomia na Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS.

#### Resumo

**Introdução:** Muitas substâncias de origem vegetal são utilizadas desde os primórdios da civilização com finalidade de melhorar a cicatrização. Dentre elas, foi demonstrado em ratos que o extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) tem provável efeito gastroprotetor. **Objetivos:** Avaliar quantitativa e qualitativamente a provável proteção gástrica do EHSG em relação ao estresse, do uso de indometacina e etanol; verificar a acidez (pH) gástrica por meio da ligadura pilórica (resíduo gástrico puro e com adição de água); e comparar diferenças dos valores do pH em ambas os modelos.

**Métodos:** Foram estudados 120 ratos (5 em cada grupo) da espécie *Rattus norvegicus albinus*, com peso de 150-230g, divididos em 24 grupos distintos, os

quais receberam os seguintes tratamentos: EHSG: 250mg/kg, 500mg/kg, 1000mg/kg e 2000mg/kg; etanol 0,5ml; cimetidina 60mg/kg; indometacina 20mg/kg; água 1ml; ligadura de piloro (água; cimetidina e EHSG). Os dados foram analisados utilizando o programa Grand Pad Prism 5 com aplicação de testes estatísticos considerando o nível de significância de 5%. **Resultados:** Os resultados do estudo mostraram que o EHSG nas dosagens 250 e 1000mg/kg sugerem proteção contra as lesões gástricas no estresse. No modelo de indução de úlcera gástrica por etanol, as dosagens de 250 e 1000 mg/kg apresentaram provável proteção gástrica, grupo utilizando EHSG 250 mg/kg + Indometacina a dosagem de 250 mg/kg também sugere proteção gástrica. Em relação ao valor de pH, o resíduo gástrico, quando verificado puro, é mais ácido que pelo modelo da adição da água, significando que este último modelo está aumentando o pH, comprovando assim que o modelo do resíduo gástrico puro é mais indicado e mais prático. **Conclusão:** Os dados obtidos no presente estudo mostram que o EHSG apresenta provável proteção gástrica em determinadas doses.

**Descritores:** *Helianthus annuus*. Úlcera Gástrica. Cimetidina. Indometacina. Estresse. Proteção Gástrica.

### Abstract

**Introduction:** Many substances obtained from plants have been used to improve cicatrization since long ago. Among them, the hydroalcoholic extract of sunflower seeds (HESS) has been shown to have a probable gastroprotective effect. **Objective:** To evaluate quantitatively and qualitatively the probable gastric protection of HESS in cases of stress, use of indomethacin and ethanol; to verify the gastric acidity (pH) by means of the pyloric ligation (pure and water-added gastric residue); and to compare differences in pH values in both techniques.

**Methods:** A total of 120 rats (5 in each group) of the species *Rattus norvegicus albinus*, weighing 150-230g were divided into 24 groups, which received the following treatments: HESS: 250mg/kg, 500mg/kg, 1000mg/kg and 2000mg / kg; ethanol; cimetidine; indomethacin; water; cimetidine and ethanol; cimetidine and endomethacin; pylorus ligation and water; pylorus ligation and cimetidine; HESS and ethanol; HESS and indomethacin; pylorus ligation and HESS.

**Results:** The results showed that HESS 250 mg/kg and 1000mg/kg suggest probable gastric protection in stress. In the ethanol-induced gastric ulcer model, the doses of

250 and 1000 mg / kg showed probable gastric protection; the HESS 250 mg / kg + indomethacin, the dose of 250 mg / kg suggests gastric protection. Regarding the pH, the gastric residue, when pure, is more acidic than water, thus indicating that the model of addition of 3 ml of water is increasing the pH, thus proving that the pure pH model is more appropriate and more practical. **Conclusion:** The data obtained in this study show that HESS probably provides gastric protection at certain doses.

**Key words:** *Helianthus*; Gastric ulcer; Cimetidine; Indomethacin; Stress; Gastric protection.

## **Introdução**

A história da cicatrização das feridas e o emprego da fitoterapia na sua reparação são tão antigos quanto a história da humanidade. As utilizações de plantas medicinais na prática datam desde 2.500 anos. Na natureza existem milhares de plantas com ação farmacológica. O Brasil, nesse aspecto, caracteriza-se por possuir grande riqueza de plantas, apesar de a maioria delas ser utilizada sem embasamento científico. Dentre os vários fitoterápicos utilizados pela população encontra-se o *Helianthus annus* Linné (girassol) (FONTE, 2004).

O girassol (*Helianthus annus*) é uma planta originária do México, cresce bem na Europa Central e na Rússia Meridional, necessitando de muito sol e de umidade. Possui sementes produtoras de óleo, ácido oléico e uma grande abundância de ácidos graxos não saturados, especialmente o ácido linoléico, que melhoram a quimiotaxia de leucócitos polimorfonucleares após injúria tecidual (MARQUES *et al.*, 2004).

A eficácia dos ácidos graxos essenciais em problemas relacionados com lesões de pele provocadas pela diminuição dos níveis de ácidos graxos na alimentação, como por exemplo, a cura dessas alterações mediante a sua

aplicação tópica, tem sido observada desde 1929 (BURN, 1929; BURN 1930; LINN e SHERPHED, 1986).

Vale mencionar que os benefícios cicatriciais e as ações do óleo de girassol, rico em triglicérides de cadeia média, confirmaram-se como a base para o desenvolvimento de compostos promotores da aceleração no processo de cicatrização de lesões de pele e mucosas (DECLAIR e CARMONA, 1994; JEZYK et al, 1977).

É importante destacar que os riscos de lesões gástricas em pacientes que utilizam AINEs convencionais são altos, devido aos seus efeitos colaterais decorrentes da inibição da biossíntese de prostaglandinas gástricas, que funcionam como substâncias de proteção da mucosa. A indometacina é um potente anti-inflamatório inibidor não seletivo da ciclooxigenase constitutiva (SÜLEYMAN; DEMIRCAN; KARAGÖZ, 2007).

Após a ingestão do etanol, a maior parte do álcool é absorvida pelo intestino delgado (80%) e estômago (20%) é rapidamente distribuído pelo organismo devido à sua alta solubilidade em água. Assim os anti-inflamatórios nãoesteróides, quando combinados com álcool, podem aumentar os riscos para o sangramento gastrintestinal por lesões na mucosa gástrica e aumento do tempo de sangramento (EMANUELLE, et al. ,2002).

O emprego do *Helianthus annus* na medicina popular tem sido ancorado em sua provável propriedade citoprotetora gástrica, justificando a necessidade de trabalhos científicos que comprovem tal fato.

O presente estudo teve como objetivo avaliar quantitativamente e qualitativamente a provável proteção gástrica do EHSO em relação ao estresse, ao uso de indometacina e etanol, e verificar a acidez (pH) gástrica por meio da ligadura

pilórica (resíduo gástrico puro e com adição de água) e comparar diferenças dos valores do pH em ambas as técnicas.

## **Materiais e Métodos**

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Fitofármacos da Universidade José do Rosário Vellano de Alfenas, respeitando-se a Legislação Brasileira de Animais de Experimentação regulamentada pela Lei Federal 6.638 (1979). Todo o experimento obedeceu aos princípios éticos em experimentação animal, preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano de Alfenas, sob o protocolo nº 04 A / 2009.

Foram utilizados 120 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, machos, com peso corporal médio de 150 - 230g, provenientes do biotério central da Universidade José do Rosário Vellano – Unifenas. Após desmame, os animais foram encaminhados ao laboratório de fitofármacos, tratados com água e ração *ad libitum* e mantidos com controle de temperatura a 25° e 12h no ciclo claro/escuro, em caixas de polipropileno adequadas à sua manutenção.

Os ratos foram divididos em 24 grupos distintos, os quais receberam o EHSG nas dosagens de 250mg/kg, 500mg/kg, 1000mg/kg e 2000mg/kg, etanol 0,5ml; cimetidina 60mg/kg; indometacina 20mg/kg; e água 1ml; grupos que foram submetidos à associação da cimetidina com etanol e indometacina; as 4 dosagens do EHSG com etanol 70% e indometacina; grupos submetidos à ligadura pilórica e administração de água, cimetidina, e as 4 dosagens de EHSG.

As lesões gástricas nos ratos foram induzidas por etanol, segundo o modelo descrito por Robert et al. (1979); por indometacina, conforme relatado por Djahanguiri (1969), e pelo estresse, descrito por Takagi e Okabe (1968).

Para testar a atividade protetora gástrica do extrato da semente do girassol, o mesmo foi administrado por via oral (gavagem) nas doses de 250, 500, 1000 e 2000 mg/kg, após jejum de 12 horas e água *ad libitum*. Após uma hora do pré-tratamento, foi administrado etanol 70% (0,5 ml/ animal, v.o.). Seis horas depois da administração do etanol, os animais foram eutanasiados na câmara de CO<sub>2</sub> e a parede abdominal exposta sendo o estômago localizado e removido. Após a remoção, o estômago foi mantido em placa de Petri, lavado com água destilada e aberto ao longo da curvatura

menor. O conteúdo gástrico foi desprezado, a mucosa lavada delicadamente com água destilada e esticada em placa de isopor. Depois deste procedimento, as mucosas foram fotografadas e introduzidas no programa *ImageLab* onde se verificou a quantidade e a área de cada lesão e a área total de cada mucosa.

O mesmo procedimento ocorreu em outros grupos, administrando-se a indometacina 20mg/kg, também por gavagem.

As lesões gástricas por estresse foram induzidas seguindo-se o método onde cada rato ficou imobilizado em um compartimento individual (tubo contensor), e a seguir imersos verticalmente, até o nível da região xifóide, em um reservatório contendo água corrente à temperatura de 25°C onde permaneceriam por 06 horas após terem sido submetidos a um jejum de 12 horas com água *ad libitum*. Após este período, os animais foram retirados do tubo contensor e submetidos à eutanásia.

Para determinação do índice de úlceras, após fotografia dos estômagos dos animais tratados e controles, foi determinado o índice de lesões com auxílio do programa *ImageLab*®, pela contagem e obtenção das medidas da área de cada lesão e área total das respectivas mucosas gástricas.

No modelo da ligadura pilórica, o conteúdo gástrico, acumulado durante 4 horas, foi avaliado em termos de volume secretado e leitura do pH. Para fazer a ligadura no piloro, os ratos em jejum (12 horas) foram anestesiados com Rompum® 20mg/ml e Ketamin-S(+)<sup>®</sup> 50mg/mL, posicionados em decúbito dorsal em contensor específico para cirurgia de pequenos animais. Através de uma incisão de cerca de 2 cm no abdômen, o estômago foi localizado e o piloro amarrado com fio de sutura seda 3-0 agulhado. Em seguida, a parede abdominal e a pele foram suturadas. Após, administrou-se água destilada (1ml/animal) por sondagem orogástrica (SOG) nos animais controle. A cimetidina 60 mg/kg e o EHSG nas concentrações de 250, 500, 1000 e 2000 mg/kg foram administrados por SOG nos animais tratados. Quatro horas após a cirurgia, os animais foram eutanasiados e seus estômagos removidos após pinçamento do esôfago para evitar perda do material secretado, lavado externamente com água destilada, secado com gaze e mantido em placa de Petri (SHAY, 1945).

Após, foram realizados 02 modelos para avaliação do pH gástrico. No modelo do pH com acréscimo de água, o estômago foi aberto ao longo da curvatura menor, o resíduo gástrico coletado em becker sendo medido o volume em seringa graduada, uma para cada resíduo, a mucosa foi então lavada com 3 ml de ABD. Os tubos foram centrifugados a 1500 rpm x 30 min e o pH medido pelo pHmetro. O modelo do

pH puro, o estômago foi aberto ao longo da curvatura menor, o resíduo gástrico coletado em Becker e foi medido o volume em seringa graduada, sendo uma para cada resíduo, e o pH medido pelo pHmetro (SHAY, 1945).

Por fim, os dados foram analisadas utilizando-se o Programa GraphPad Prism 5. Utilizaram-se os seguintes testes estatísticos: Para análise das lesões no estômago, utilizou-se a Análise de Variância (Anova) + Comparação múltipla com o teste de Tukey (testes paramétricos). A análise do pH do estômago utilizou-se o Kruskal–Wallis + Comparação múltipla com o teste de Dunn (testes não paramétrico). Considerou-se o nível de significância de 5%, ou seja, os dados foram estatisticamente significantes para  $p < 0,05$ .

## Resultados e Discussão

**TAB. 1 - Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) sobre as lesões gástricas induzidas por estresse em ratos.**

Grupos	Estatística Descritiva*			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	20,10 ± 22,3	13,20	1,67	132,80
Cimetidina	5,54 ± 5,8	3,63	0,44	26,86
Girassol 250 mg	13,92 ± 9,5	9,46	2,20	32,45
Girassol 500 mg	22,42 ± 33,5 ***	6,82	0,44	138,60
Girassol 1000 mg	12,75 ± 14,2	7,82	0,22	78,10
Girassol 2000 mg	24,42 ± 42,7 ***	7,86	0,22	149,20

\* Aplicação da ANOVA: valor-p = 0,0096

\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey):  $p < 0,05$  vs. Controle (água)

\*\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey):  $p < 0,05$  vs. Controle (Cimetidina)

Pode-se observar pelos dados da TAB. 1, referentes ao efeito do EHSG sobre as lesões gástricas induzidas por estresse em ratos, que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados ( $p=0,0096$ ). O girassol nas dosagens de 500 e 2000mg, apresentou os maiores valores de média: 22,42 e 24,42, respectivamente, tendo significância estatística com o controle (cimetidina) ( $p < 0,05$ ). Nas dosagens de 250 e 1000mg/kg, o girassol apresentou médias de 13,92 e 12,75, respectivamente, não havendo diferença estatisticamente significativa com nenhum controle (água ou cimetidina) ( $p > 0,05$ ). Dessa forma, acredita-se que o girassol, nas dosagens de 250mg/kg e 1000mg/kg, apresenta algum efeito protetor sobre a mucosa gástrica. Ulceras provocada por estresse são devidas a fatores psicológicos e fisiológicos (MILLER, 1996). O estresse induz a peroxidação lipídica a partir do aumento dos níveis de peroxidase lipídica (GOEL; BHATTACHARYA, 1991; SAIRAM, 2002).

Cabe ressaltar que, no estudo de Goel et al. (1987) com úlcera induzida pelo modelo de estresse, a administração oral duas vezes ao dia de óleo lapachol 5 mg/kg, durante 3 dias, promoveu uma redução de 56% do índice de úlceras. Neste mesmo trabalho, foi descrito que o lapachol não afetou nenhum parâmetro secretório, exceto o conteúdo de proteínas do suco gástrico, que foi reduzido significativamente.

Cabe salientar que existem evidências sólidas que indicam que o estresse fisiológico gera úlcera gástrica e prejudica a resposta ao tratamento; assim, o estresse fisiológico funciona como um cofator com o *H. pylori* para a formação da úlcera gástrica (LEVENSTEIN, 1998).

**TAB. 2 - Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em ratos.**

Grupos	Estatística Descritiva *			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	20,10 ± 22,3	13,20	1,67	132,80
Etanol	37,67 ± 61,9	17,09	0,44	410,40
Cimetidina + Etanol	19,84 ± 15,7	16,28	3,85	78,78
Girassol 250 + Etanol	22,05 ± 18,1	15,84	0,66	87,47
Girassol 500 + Etanol	27,12 ± 31,1	14,80	0,44	152,00
Girassol 1000 + Etanol	24,72 ± 25,3	15,75	2,86	108,30
Girassol 2000 + Etanol	31,16 ± 36,2	15,85	1,21	200,00

\* Aplicação da ANOVA: valor-p = 0,0743

\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (água)

\*\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (etanol)

\*\*\*\*Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (Cimetidina+Etanol)

Com referência ao efeito do EHSG sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em ratos (TAB. 2), é possível verificar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados (p = 0,0743). O girassol nas dosagens de 250mg/kg e 1000mg/kg apresentou os menores valores de média: 22,05 e 24,72, respectivamente. Enquanto os maiores valores de média foram encontrados no girassol com dosagem de 500mg/kg (27,12) e 2000mg (31,16).

Na comparação múltipla dos grupos estudados, pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa entre o girassol (nas quatro dosagens) e os grupos controles (água, etanol e cimetidina + etanol) (p>0,05). Cabe salientar que, mesmo não havendo diferença estatística, o girassol nas dosagens 250 e 1000 mg/kg apresentou valores de média menores que as outras dosagens, assim como foi encontrado no modelo induzido por estresse (TAB 1).

As lesões gástricas induzidas por etanol são resultantes de danos diretos às células da mucosa, decorrentes da hiperoxidação de lipídeos e da formação de radicais livres que atacam moléculas como enzimas, proteínas ou receptores. Desta forma, compostos antioxidantes podem ser ativos neste modelo experimental, produzindo atividade antiulcerogênica (PUURUNEN, HUTTUNEN e HIRVONEN, 1980; PIHAN, REGILLO e SZABO, 1987).

Para Mizui e Doteuchi (1983), o modelo de indução por etanol avalia, entre outras, a atividade de substâncias citoprotetoras. O etanol produz lesões necróticas na mucosa gástrica e a presença de ácido clorídrico acelera e agrava esse processo. Enquanto, conforme Robert et al (1979), as ulcerações induzidas por etanol não são inibidas por substâncias que interferem na secreção de ácido, como a cimetidina, mas são inibidas por agentes que aumentam os fatores de defesa da mucosa, como, por exemplo, as prostaglandinas.

**TAB. 3 Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos.**

Grupos	Estatística Descritiva *			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	20,10 ± 22,3	13,20	1,67	132,80
Indometacina	26,33 ± 16,9	10,18	0,66	139,40
Cimetidina+Indometacina	8,54 ± 2,4	5,50	0,44	80,30
Girassol 250 + Indometacina	7,73 ± 9,3 ***	5,11	0,22	69,85
Girassol 500 + Indometacina	23,65 ± 42,6 ****	11,22	0,44	215,70
Girassol 1000 + Indometacina	19,54 ± 20,1 ****	12,21	0,26	97,57
Girassol 2000 + Indometacina	25,47 ± 41,8 ****	9,13	0,66	202,60

\* Aplicação da ANOVA: valor-p < 0,0001

\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (Água)

\*\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (Indometacina)

\*\*\*\* Comparação múltipla (Teste de Tukey): p < 0,05 vs. Controle (Cimetidina+Indometacina)

Com relação ao efeito do EHSG sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em ratos, pode-se verificar que houve diferença estatística entre os grupos avaliados (p < 0,0001) (TAB. 3). O girassol na dosagem de 250mg/kg apresentou o menor valor de média (7,73) e nas demais dosagens encontradas, os maiores valores de média. Ao realizar a comparação múltipla entre os grupos,

observa-se que o girassol (250mg) apresentou diferença significativa com o controle (indometacina) ( $p < 0,05$ ) e o girassol nas dosagens de 500, 1000 e 2000mg/kg apresentou diferença estatisticamente significativa com o grupo controle (cimetidina + Indometacina) ( $p < 0,05$ ). Assim, acredita-se que o girassol 250mg/kg apresenta algum efeito protetor sobre a mucosa gástrica, como foi encontrado também no modelo induzido pelo estresse (TAB. 1).

Em estudo de Farsam et al. (2000), os resultados do teste de atividade antiulcerogênica mostraram que, após indução das lesões ulcerativas por indometacina, a dose de 100 mg/kg do extrato etanólico reduziu o índice de lesões ulcerativas em 16,11% ( $p < 0,05$ ), enquanto 200 mg/kg produziram 27,71% ( $p < 0,01$ ) de inibição. A dose de 200 mg/kg reduziu o volume gástrico e aumentou o pH de forma significativa. A dose de 200 mg/kg reduziu as lesões ulcerativas em 32,26% ( $p < 0,001$ ) e volume gástrico em 27,07% após indução de úlceras por etanol. O pH do suco gástrico aumentou nas doses de 100 ( $2,12 \pm 0,12$ ) e 200 mg/kg ( $2,62 \pm 0,19$ ) quando comparadas ao controle ( $1,87 \pm 0,19$ ).

Em pesquisa realizada por Wallace (2001), os resultados indicam que o extrato etanólico de *E. erythropappus* previne lesões gástricas, reduz o suco gástrico e aumenta o pH gástrico após indução de úlceras por indometacina e por etanol. A ulceração gástrica induzida por indometacina é decorrente da inibição da síntese de prostaglandinas.

**TAB. 4 - Efeitos do Extrato Hidroalcoólico da semente de Girassol (EHSG) sobre o pH gástrico de ratos, utilizando os modelos de adição de água e resíduo gástrico puro e a correlação entre esses modelos.**

Grupos	Modelos ***							
	Adição de água *				Resíduo gástrico puro **			
	Estatística Descritiva				Estatística Descritiva			
	Média $\pm$ DP	Mediana	Mínimo	Máximo	Média $\pm$ DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	0,82 $\pm$ 0,13	0,82	0,64	1,02	0,63 $\pm$ 0,09	0,68	0,47	0,70
Cimetidina	1,15 $\pm$ 0,55	1,01	0,67	2,08	0,94 $\pm$ 0,43	0,83	0,58	1,68
Girassol 250	0,95 $\pm$ 0,38	0,83	0,66	1,60	0,66 $\pm$ 0,19	0,61	0,55	1,01
Girassol 500	0,74 $\pm$ 0,19	0,63	0,57	1,01	0,56 $\pm$ 0,09	0,53	0,46	0,70
Girassol 1000	0,75 $\pm$ 0,20	0,69	0,57	1,10	0,62 $\pm$ 0,20	0,55	0,45	0,97
Girassol 2000	0,69 $\pm$ 0,12	0,70	0,52	0,86	0,56 $\pm$ 0,10	0,60	0,41	0,68

\* Aplicação do Kruskal-Wallis: valor-p = 0,3088

\*\* Aplicação do Kruskal-Wallis: valor-p = 0,1990

\*\*\*Aplicação do Kruskal-Wallis: valor-p = 0,0132

NOTA: Comparação múltipla (Teste de Dunn) =  $p > 0,05$

Os dados da TAB. 4 apresentam os efeitos do EHSG via SOG sobre o pH do resíduo gástrico dos ratos tratados. Pode-se observar que tanto pelo modelo da

adição da água quanto pelo modelo do resíduo gástrico puro, ao se aplicar o Teste Kruskal-Wallis, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos controles e grupos tratados ( $P = 0,3088$  e  $p=0,1990$ , respectivamente), assim como não houve significância estatística entre esses grupos ao se realizar a comparação múltipla ( $p>0,05$ ).

Vale ressaltar que, ao realizar a comparação entre os 2 modelos (adição de água e resíduo gástrico puro), houve diferença estatisticamente significativa entre eles ( $p=0,0132$ ). Dessa forma, os valores de pH são diferentes quando se realiza as duas técnicas, ou seja, no modelo de adição de água o pH de todos os grupos estudados são maiores (TAB. 4).

Outro dado que merece ser destacado é que, dos 4 grupos tratados com girassol, a dosagem de 250mg/kg apresentou maior valor de pH, tanto pelo modelo de adição de água quanto pelo resíduo gástrico puro (TAB. 4). Acredita-se, assim, que nessa dosagem ocorre maior proteção gástrica, como observado nas tabelas anteriores.

Souza-Formigoni et al. (1991) e Antônio e Souza -Brito (1998) avaliando o potencial antiulcerogênico da *M. ilicifolia* e da *M. aquifolium*, respectivamente, verificaram que as mesmas protegem a mucosa gástrica, quando comparadas com a cimetidina. Nesses estudos foram observados também que a proteção gástrica é acompanhada pelo aumento do pH.

Os resultados do presente estudo vão ao encontro daqueles obtidos por Gonzalez e Di Stasi (2003), que concluíram que os flavonóides podem ser reconhecidos como compostos ativos contra lesões gástricas. Cabe mencionar que os autores utilizaram a técnica de remoção do estômago, com uma pequena incisão feita próximo ao piloro, e o pH gástrico medido, usando-se indicador de pH (Merck).

Recentemente, Tariq e Al Moutaery (2005) descreveram a ação protetora gástrica da menadiona, composto presente na *Tabebuia avellanae*. Esses autores verificaram que a administração de menadiona via oral a ratos reduziu a acidez gástrica, utilizando o modelo de ligadura do piloro, e protegeu a mucosa gástrica contra lesões induzidas por etanol.

## Conclusões

Os dados obtidos no presente estudo permitem concluir que o EHSG apresenta provável proteção gástrica em determinadas doses (250 e 1000mg/kg). Em relação ao resíduo gástrico puro, verificou-se que este é mais ácido que pela técnica de adição de água, significando que esta última técnica está aumentando o pH. Dessa forma, é possível comprovar que a técnica do resíduo gástrico puro é mais indicada e mais prática.

Por fim, os resultados tornam a planta interessante alvo de estudo, visando ao desenvolvimento de fitomedicamentos ou à busca de novas entidades químicas com ação antiulcerogênica.

## Referências

ANTÔNIO, M.A.; SOUZA-BRITO, A.R.M. Oral anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities of a hydroalcoholic extract and partitioned fractions of *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). **J Ethnopharmacol**, n.61, p.215-228, 1998.

BURN, G.O.; BURN, M.M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fatty acid from diet. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 82, p. 435-67, 1929.

BURN, G.O.; BURN, M.M. The nature of fatty acids essential in nutrition. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 86, p. 587-621, 1930.

DECLAIR, V; CARMONA, M. **Ácidos graxos essenciais**: protetores celulares dos mecanismos agressivos da lesão hipóxica. São Paulo: Dermatologica Atual, 1994.

DI STADI, L. C. **Plantas medicinais arte e ciências**. São Paulo: UNESP, 2003. p.65-67.

DJAHANGUIRI, B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. **Scand. J. Gastroenterol.**, v.4, p. 265, 1969.

EMANUELE, M.A.; WEZEMAN, F.; EMANUELE, N.V. Alcohol's effects on female reproductive function. **Alcohol Res Health**. n.26, p.274-81, 2002.

FARSAM H, AMANLOU M, DEHPOUR AR, JAHANIANI F. Anti-inflammatory and analgesic activity of Biebersteinia multifida DC. root extract. **J Ethnopharmacol**, n. 71, p.443-447, 2000.

FONTE, N.N. A. Complexidade das Plantas Medicinais: Enfoque Farmacêutico. In: CORREIA JR, C.; GRAÇA, L.R.; SCEFFER, M.C. **Complexo Agroindustrial das Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares no Estado do Paraná – Diagnóstico e Perspectivas**. Curitiba: EMATER, 2004. p.24–45.

GOEL, R.K.; BHATTACHARYA, S.K. Gastroduodenal mucosal defense and mucosal protective agents. **Indian J Exp Biol**, n.29, p.701-714, 1991.

GOEL, R.K.; et al. Effect of Lapachol, a naphthoquinone isolated from Tectona grandis, on experimental peptic ulcer and gastric secretion. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.39, p.138-140, 1987.

GONZALEZ, F.G; DI Stasi, L.C. Antiulcerogenic and analgesic activities of the leaves of *Wilbrandia ebracteata* in mice. **Phytomedicine**, n. 9, p.125-134, 2003.

JEZYK, P. F. Mucopolysaccharidosis in a cat with arylsulfatase B deficiency: A model of maroteaux-Lamy síndrome. **Science**. 198: 834, 1977.

LEVENSTEIN, S. Stress and peptic ulcer: life beyond helicobacter. **BMJ (Clinical research ed.)**, v.316, p.538-541, 1998.

LINN, D.S.; SHERPHED, M.I. Evolution of vitamin F. **Drug Cosmetic Industrial**, Washington, v.38, p.329, 1986.

MARQUES, S.R.; et al. Efeitos da aplicação tópica de óleo de sementes de girassol em feridas cutâneas, em carneiros. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.19, n.3, p.1-13, maio/jun. 2004.

MILLER W.W. Using polysulfated glycosaminoglycan to treat persistent corneal erosions in dogs. **Vet Med**, n. 91, p.916-22, 1996.

MIZUI, T.; DOTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesion in rats. **Jpn J Pharmacol**, n.33, p.939-945, 1983.

PIHAN, G.; REGILLO, C.; SZABO, S. Free radicals and lipid peroxidation in ethanol- or aspirin-induced gastric mucosal injury. **Dig Dis Sci**, n.32, p.1395-1401, 1987.

PUURUNEN, J.; HUTTUNEN, P.; HIRVONEN, J. Is ethanol-induced damage of the gastric mucosa a hyperosmotic effect: comparative studies on the effects of ethanol, some other hyperosmotic solutions and acetylsalicylic acid on rat gastric mucosa. **Acta Pharmacol Toxicol**, n. 47, p.321-327, 1980.

ROBERT, A.; et al. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. **Gastroenterol**, v.77, p.433-443, 1979.

ROBERT, A. Cytoprotection by prostaglandins. **Gastroenterology**, n.77, p.761-767, 1979.

SAIRAM, K. et al. Antiulcerogenic effect of methanolic extract of *Emblica officinallis*: an experimental study. **J Ethnopharmacol**, n.82, p.1-9, 2002.

SHAY, H.; et al. simple method for the uniform production of gastric ulceration in rat. **Gastroenterol.**, v.5, p.43-61, 1945.

SHEPERD, H.; LINN, K.L. **AGE applications on epitelial lesion**. New York: American Journal of Dermatology, 1986.

SOUZA-FORMIGONI, M.L.O. et al. Antiulcerogenic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. **J Ethnopharmacol**, v.34, p.21-27, 1991.

SÜLEYMAN, H.; DEMIRCAN, B.; KARAGÖZ, Y. "Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors". **Pharmacological reports**, v.59, p.247-58, 2007.

TAKAGI, K.; OKABE, S. The effects of drugs on the production and recovery processes of the stress ulcer. **Japanese Journal of Pharmacology**, v.18, p.9-18,1968.

TARIQ, M.; AL MOUTAERY, A. Menadione protects gastric mucosa against ethanol induced ulcers. **The Experimental and Toxicological Pathology**. v. 56, n.6, p.393-399, 2005.

WALLACE, J.L. Mechanisms of protection and healing: current knowledge and future research. **Amer. J. Med**, v.110, p.19-23, 2001.