

MÍRIAM ELIAS CAVALLINI

*ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO ENTRE AS
LESÕES AGUDAS DA MUCOSA GÁSTRICA DE RATOS,
INDUZIDAS PELA INDOMETACINA E CELECOXIB E A
CITOPROTEÇÃO COM O
USO DE OMEPRAZOL E MISOPROSTOL*

CAMPINAS

2002

MÍRIAM ELIAS CAVALLINI

***ESTUDO EXPERIMENTAL COMPARATIVO ENTRE AS
LESÕES AGUDAS DA MUCOSA GÁSTRICA DE RATOS,
INDUZIDAS PELA INDOMETACINA E CELECOXIB E A
CITOPROTEÇÃO COM O
USO DE OMEPRAZOL E MISOPROSTOL***

*Tese de Doutorado apresentada à Pós-Graduação
da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas para
obtenção do título de Doutora em Cirurgia, área
de Pesquisa Experimental.*

ORIENTADOR : Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo

CO-ORIENTADOR : Prof. Dr. Konradin Metze

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
UNICAMP**

C314e Cavallini, Míriam Elias
Estudo experimental comparativo entre as lesões agudas da mucosa gástrica de ratos, induzida pela indometacina e celecoxib e a citoproteção com o uso de omeprazol e misoprostol / Míriam Elias Cavallini. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientadores : Nelson Adami Andreollo, Konradin Metze
Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. *Agentes antiinflamatórios. 2. Estômago. 3. *Farmacologia experimental. 4. *Mucosa gástrica. I. Nelson Adami Andreollo. II. Konradin Metze. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	THUNICAMP
	C314e
V	EX
TOMBO BC	56722
PROC.	26/11/04
C	☐
D	☒
PREÇO	12,00
DATA	19/01/2004
Nº CPD	

CM00192979-6

BIBID. 309600

Banca examinadora da tese de Doutorado

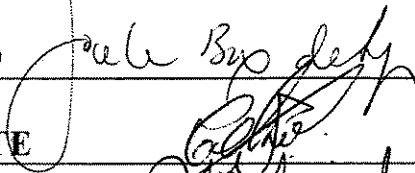
Orientador: Prof. Dr. NELSON ADAMI ANDREOLLO

Membros:

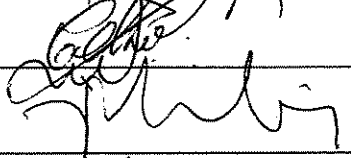
1. Prof. Dr. NELSON ADAMI ANDREOLLO



2. Prof. Dr. JOSÉ LUIZ BRAGA DE AQUINO



3. Prof. Dr. CELSO VIEIRA DE SOUZA LEITE



4. Prof. Dr. JUVENAL RICARDO NAVARRO GÓES



5. Prof. Dr. LUIZ ROBERTO LOPES

Curso de pós-graduação em Cirurgia, da Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 19/12/2002

DEDICATÓRIA

Para os meus pais, Gabriel e Roseli,

Renato, meu marido,

meus irmãos, Gabriel e Camila,

sobrinhos, Beatriz, Helena, Gabriel e

Guilherme .

Para toda a minha família e amigos ...

...todos eles que são o meu porto

seguro, refúgio de carinho ... o

sentido da minha vida,

com todo o meu amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo, orientador, amigo e exemplo de ser humano profissional e ético, que, com sua dedicação constante e simplicidade, acreditou em mim.

Ao Prof. Dr. Konradin Metze, co-orientador desta pesquisa, pelas sugestões, realização dos exames histológicos, análises estatísticas e disposição em ajudar-me.

Ao Renato, pelo amor, paciência, companheirismo ...

Aos meus pais, Gabriel e Roseli, pelo estímulo, aconselhamentos e amor para seguir esse caminho.

Aos meus queridos irmãos, sobrinhos, cunhados, avó Rosa e familiares, que sempre me deram força para lutar pelos grandes sonhos e ideais.

À Marina Rachel Araujo, bióloga do NMCE da Unicamp, pela constante dedicação na fase experimental da pesquisa, e pela amizade nos momentos divertidos, os quais tornaram a realização deste trabalho tão agradável.

À Maria Madalena de Abreu Rodrigues e Ricardo Luís da Silva, que também se dedicaram na fase experimental desta pesquisa.

À Prof^a. Dra. Rachel Lewinsohn, que, com sua experiência de vida acadêmica, serviu-me de estímulo.

Ao Paulo César Segala e Wenderval Rabelo de Oliveira, pela amizade, disposição, ajuda, e competência profissional na área da informática, fundamental para a realização deste trabalho.

Aos queridos Tânia Cristina Teixeira, Vicente Messias Arroio, Arthur Carlos Bertocco, amigos especiais, que me estimularam e ajudaram a coletar dados para a realização deste trabalho.

À Ana Lúcia Scagnolato de Almeida Leme, pela atenção, dedicação e orientações sobre as referências bibliográficas.

À Marilda Eriko Hanagusku, pela amizade, atenção e competência nos ensinamentos da língua inglesa, que tanto me ajudou na realização deste trabalho.

À Comissão de Pós-Graduação em Cirurgia da FCM/Unicamp, coordenada pelo Prof. Dr. Mario Mantovani, pela dedicação e compromisso.

À Vera Maria Barbosa e Carla Castanho Demonte, secretárias da Pós-Graduação em Cirurgia da FCM/Unicamp, pela acolhida, dedicação e atenção.

Ao José Maria Otávio, do Laboratório de Multimídia do Gastrocentro da Unicamp, pela ajuda na área de informática.

Ao Departamento de Estatística da FCM/Unicamp, pela atenção e realização dos dados estatísticos pelas Sras. Cleide Aparecida M. Silva e Eliani Guelli.

À Diretoria de Apoio Didático, Científico e Computacional da FCM/Unicamp, especialmente à Sílvia Auxiliadora de Lúcio, que com competência e dedicação, colaboraram na revisão, correção e editoração final deste estudo.

Aos meus alunos de graduação em Farmácia e Pós-Graduação *Lato Sensu* em Farmácia Hospitalar, da Universidade Metodista de Piracicaba – Unimep, que me estimularam a concretizar este sonho.

Aos professores e amigos da Universidade Metodista de Piracicaba – Unimep.

Aos funcionários da Biblioteca da Unicamp - Campinas, pela ajuda e dedicação.

Aos animais de laboratório, que inocentemente serviram à ciência, o meu respeito e gratidão.

À Universidade Estadual de Campinas – Unicamp, pela oportunidade e acolhimento para a obtenção da titulação, e o meu orgulho de ter sido aluna.

A todos que contribuíram para que meu sonho se tornasse realidade, a minha eterna gratidão...

“A realização de um trabalho só é possível através da colaboração mútua, da soma de muitas energias.

A parceria e o compromisso criam confiança, habilidade e respeito.

O sincronismo de todos e a valorização da capacidade de cada ser humano, por mais singela que possa parecer, produzem resultados notáveis.

... Eis a fórmula do sucesso”.

	PÁG.
RESUMO	<i>xxxi</i>
.....	
ABSTRACT	<i>xxxv</i>
.....	
1-	39
INTRODUÇÃO	
.....	
1.1- Revisão da literatura.....	44
1.1.1- Antiinflamatórios não esteroidais (AINEs).....	44
1.1.1.1- Histórico dos AINEs.....	44
1.1.1.2- Mecanismo de ação dos AINEs convencionais.....	44
1.1.1.3- Inibição da biossíntese das prostaglandinas pelos AINEs e ciclooxigenase dos ácidos graxos (COX ₁ e COX ₂).....	47
1.1.1.4- Classificação dos AINEs convencionais.....	47
1.1.1.5- Atividades terapêuticas dos AINEs.....	49
1.1.1.6- Efeitos colaterais do tratamento com AINEs.....	50

1.1.2-	Citoprotetores	51
gástricos.....		
1.1.2.1-	Farmacologia celular da secreção	51
gástrica.....		
1.1.2.2-	Histórico das	52
prostaglandinas.....		
1.1.2.3-	Classificação terapêutica dos	53
citoprotetores.....		
2-		55
OBJETIVOS.....		
.....		
3-	MATERIAL	E 59
MÉTODOS.....		
3.1-		61
Animais.....		
3.2-		61
Acondicionamento.....		
3.3-		61
Manipulação.....		

3.4-		Drogas	62
utilizadas.....			
3.5-	Materiais utilizados no transcorrer do		62
experimento.....			
3.6-	Materiais utilizados para exerece das peças		63
anatômicas.....			
3.7-	Materiais utilizados na análise		64
macroscópica.....			
3.8-	Materiais utilizados na análise		65
microscópica.....			
3.9-	Grupos	de	66
animais.....			
3.10-	Diluição	das	69
drogas.....			
3.11-	Administração	das	69
drogas.....			
3.12-			69
Alimentação.....			
.....			
3.13-	Observação	dos	70
animais.....			
3.14-	Eutanásia	dos	70
animais.....			
3.15-		Análise	70
macroscópica.....			
3.16-		Análise	71
microscópica.....			

3.17- Correlações dos achados histopatológicos e respectivas análises estatísticas.....		73
.....		
4-		75
RESULTADOS.....		
.....		
4.1- Análise		77
macroscópica.....		
4.2- Análise		87
microscópica.....		
5-		95
DISCUSSÃO.....		
.....		
5.1- A pesquisa experimental e os animais.....		97
5.2- A literatura atual sobre os AINEs: indometacina e celecoxib.....		98
.....		
Indometacina.....		98
.....		

5.2.1- terapêuticos.....	Usos	99
5.2.2- colaterais.....	Efeitos	100
Celecoxib.....		101
.....		
5.2.3- terapêuticos.....	Usos	103
5.2.4- colaterais.....	Efeitos	103
5.3- A literatura atual sobre os citoprotetores: omeprazol e misoprostol.....		104
Omeprazol.....		104
.....		
5.3.1- colaterais.....	Efeitos	106
5.3.2- terapêuticos.....	Usos	106
Misoprostol.....		107
.....		
5.3.3- terapêuticos.....	Efeitos	107
5.3.4- colaterais.....	Efeitos	108
5.4- Funções da COX-1 e COX-2 e inibição seletiva da COX- 2.....		109
5.5- Modelos experimentais de úlceras pépticas e lesões		110

agudas.....

5.6- Considerações 112
finais.....

6- 117

CONCLUSÃO.....

.....

7- **REFERÊNCIAS** 119

BIBLIOGRÁFICAS.....

8- 128

APÊNDICES.....

.....

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

<i>ad libitum</i>	à vontade
AAA	antiinflamatório, analgésico, antipirético
AINE	antiinflamatório não esteroideal
AINEs	antiinflamatórios não esteroideais
AMPcíclico	monofosfato de 3,5-adenosina cíclico
CEMIB	Centro de Bioterismo da Unicamp
cm²/animal	centímetro quadrado por animal
C_{máx}	concentração máxima
<i>Co</i>	company
COX 1	ciclooxigenase dos ácidos graxos 1 (isoforma constitutiva)
COX 2	ciclooxigenase dos ácidos graxos 2 (isoforma induzida)
et al.	e outros
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FNT	fator de necrose tumoral
HCl	ácido clorídrico
H⁺, K⁺-ATPase	“bomba de prótons”(hidróxido, potássio-ATPase)
HE	coloração com hematoxilina e eosina
IL-1	interleucina-1
IL-8	interleucina-8
lesões/cm²	lesões por centímetro quadrado
mg/dia	miligrama por dia

mg/rato	miligrama por rato
ml/rato	mililitro por rato
NaOH	hidróxido de sódio
NMCE	Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Unicamp
P450	citocromo P450 do fígado
PG	prostaglandina
PGE 1	prostaglandina E1
PGE 2	prostaglandina E2
PGF 1α	prostaglandina F1 α
PGF 2 α	prostaglandina F2 α
PGI 2	prostaglandina I2
pH	logarítmo do inverso da concentração de íons hidrogênio
SC-58635	celecoxib
SPF	<i>Specific pathogen Free</i>
TXA 2	tromboxano A2
μg	micrograma
5-HT	5-hidroxitriptamina (serotonina)
°C	graus centígrados

	PÁG.
Tabela 1- Classificação dos AINEs convencionais.....	48
Tabela 2- Efeitos colaterais dos AINEs.....	50
Tabela 3- Classificação dos citoprotetores gástricos.....	53
Tabela 4- Número de lesões em 20 animais, totalizando 3 lesões por cm ² (média das lesões: 0,15 lesões por cm ² /animal).....	131
Tabela 5- Número de lesões em 20 animais, totalizando 271 lesões por cm ² (média das lesões: 13,55 lesões por cm ² /animal).....	132
Tabela 6- Número de lesões em 20 animais, totalizando 4 lesões por cm ² (média das lesões: 0,2 lesões por cm ² /animal).....	133
Tabela 7- Número de lesões em 20 animais, totalizando 371 lesões por cm ² (média das lesões: 18,55 lesões por cm ² /animal).....	134
Tabela 8- Número de lesões em 20 animais, totalizando 9 lesões por cm ² (média das lesões: 0,45 lesões por cm ² /animal).....	135
Tabela 9- Número de lesões em 20 animais, totalizando 325 lesões por cm ² (média das lesões: 16,25 lesões por cm ² /animal).....	136

	cm ² /animal).....	
Tabela	Número de lesões em 10 animais	– 137
10-	controle.....	

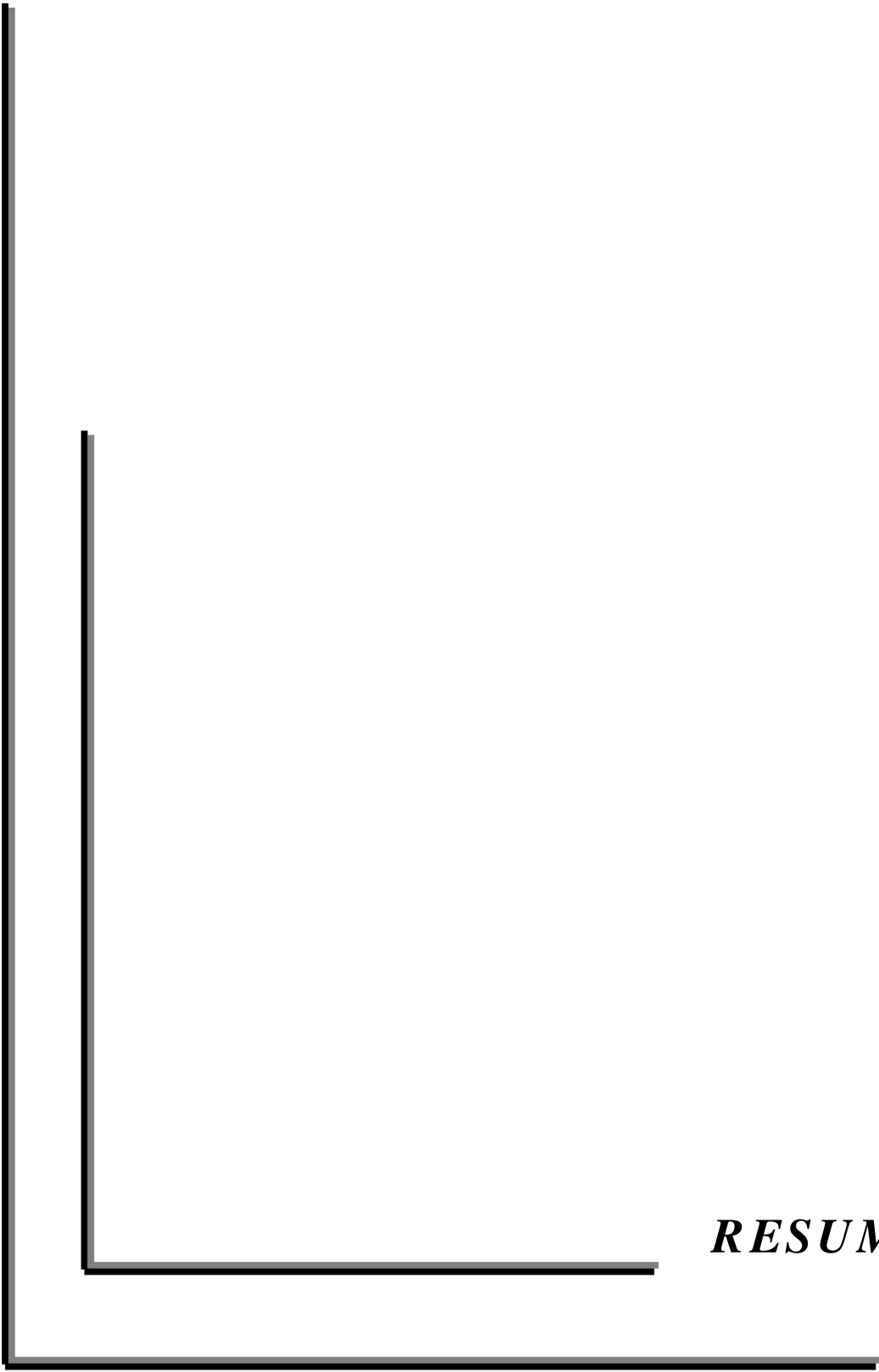
	PÁG.
Figura 1- Placa de vidro plana de 10x10 cm, quadriculada (1cm x 1cm).....	70
Figura 2- Estômago aberto, com placa de vidro plana quadriculada sobreposta, expondo a mucosa, demonstrando a metodologia de contagem das lesões por cm ²	71
Figura 3- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo A1.....	77
Figura 4- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo A2.....	78
Figura 5- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo B1.....	80
Figura 6- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo B2.....	81
Figura 7- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo C1.....	83
Figura 8- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo C2.....	84
Figura 9- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo D.....	86
Figura 10- Úlcera aguda com intensa reação inflamatória e edema (animal do grupo C2 – indometacina) – coloração pelo HE – (20 x).....	88

Figura 11-	Úlcera aguda com intenso edema (animal do grupo A2 - omeprazol +indometacina) – coloração pelo HE – (20 x).....	91
Figura 12-	Intenso edema na submucosa em margem de lesão (animal do grupo C2 – indometacina) – coloração pelo HE – (20 x).....	93
Figura 13-	Erosão focal com discreto edema na submucosa (animal do grupo B2 – misoprostol + indometacina) – coloração pelo HE – (20 x)...	94

LISTA DE GRÁFICOS

	<i>PÁG.</i>
Gráfico 1- Média de lesões por cm ² /animal no grupo de animais que receberam respectivamente celecoxib (A1) e indometacina (A2), após pré-tratamento com omeprazol.....	79
Gráfico 2- Média de lesões por cm ² /animal no grupo de animais que receberam respectivamente celecoxib (B1) e indometacina (B2), após pré-tratamento com misoprostol.....	82
Gráfico 3- Média de lesões por cm ² /animal no grupo de animais que receberam respectivamente celecoxib (C1) e indometacina (C2)...	85
Gráfico 4- Diagrama “Box and Whiskers” do estudo microscópico da porcentagem da mucosa com lesão, mostrando os <i>percentis</i> 5, 25, 50, 75 e 95 de cada grupo estudado.....	87
Gráfico 5- Diagrama “Box and Whiskers” do estudo microscópico da média da extensão/lesão em mm, mostrando os <i>percentis</i> 5, 25, 50, 75 e 95 de cada grupo estudado.....	89
Gráfico 6- Diagrama “Box and Whiskers” do estudo microscópico da média da profundidade das lesões em porcentagem, mostrando os <i>percentis</i> 5, 25, 50, 75 e 95 de cada grupo estudado.....	90
Gráfico Diagrama “Box and Whiskers” do estudo microscópico do	

7- quociente da média do edema, mostrando os *percentis* 5,
25, 50, 75 e 95 de cada grupo 92
estudado.....



RESUMO

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.

Uma nova classe de AINEs, os “coxibs”, representam importante avanço farmacológico no tratamento antiinflamatório, parecendo reduzir a incidência de lesões do trato gastrintestinal, agindo como inibidores seletivos da COX-2 (ou indutiva), que surge numa situação de inflamação.

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.

Os objetivos desta pesquisa foram 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, a saber: **grupo A**, subdividido em grupo A1 e A2 – pré-tratamento com omeprazol (20 mg/rato) durante sete dias, do 7º para o 8º dia de jejum de ração e água *ad libitum*, no oitavo dia administração dos AINEs, sendo A1 (20 ratos) receberam celecoxib (1mg/rato) e A2 (20 ratos) receberam indometacina (12,5mg/rato), e jejum de mais seis horas. O **grupo B**, subdividido em grupo B1 e B2 – pré-tratamento com misoprostol (20µg/rato) durante sete dias, do 7º para o 8º dia de jejum de ração e água *ad libitum*, no oitavo dia administração dos AINEs, sendo B1 (20 ratos) receberam celecoxib (1mg/rato) e B2 (20 ratos) receberam indometacina (12,5mg/rato), e jejum de mais seis horas. O **grupo C** não recebeu citoproteção durante sete dias, do 7º para o 8º dia jejum de ração e água *ad libitum*, no oitavo dia administração dos AINEs, sendo C1 (20 ratos) receberam celecoxib (1mg/rato) e C2 (20 ratos) receberam indometacina (12,5mg/rato), e

jejum de mais seis horas e **grupo D** – grupo controle, no qual dez ratos foram observados durante sete dias, do 8º para 9º dia jejum da ração por 24 horas e água *ad libitum*. A seguir, no 9º dia (de todos os grupos), os estômagos eram removidos e avaliados macro e microscopicamente para a identificação das lesões gástricas.

Na análise macroscópica, os resultados dos grupos A2, B2 e C2 apresentaram número de lesões por cm²/animal significativamente elevados, sendo respectivamente 18,55 lesões por cm²/animal, 16,25 lesões por cm²/animal e 13,55 lesões por cm²/animal.

Na análise microscópica, os resultados da porcentagem da mucosa com lesão, mostraram diferenças significativas entre os grupos A1, B1, C1 quando comparados com os grupos A2, B2 e C2 ($p < 0,0001$). Os resultados da média da extensão/lesão e da média da profundidade das lesões não mostraram diferenças estatísticas significativas entre os grupos A2, B2 e C2. O resultado da média do edema mostrou diferença estatística significativa entre os grupos A2 e D; B2 e C2 e entre C2 e D ($p < 0,05$).

Portanto, pode-se concluir:

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.

Considerando-se a análise microscópica da média do edema, o grupo de animais que recebeu misoprostol como citoprotetor apresentou menor média em comparação ao grupo que recebeu o omeprazol.



ABSTRACT

The risks of gastric injuries for patients who use conventional NSAIDs are high due to their side effects resulting from the lowering of biosynthesis of gastric prostaglandins, which work as a protection substance of the gastric mucous membrane.

A new category of NSAIDs, the “coxibs”, represent an important pharmacological advance on the anti-inflammatory treatment, seeming to reduce the incidence of gastrointestinal, acting as select inhibitor of COX-2 (or inductive), which arises in a inflammation. The physicopathology of the peptic ulcer can be considered as an unbalance among the injury agents (acid, pepsine, infection by *H. pylori*). The treatments are usually led to the reduction of such injuries agents, but the protection of the gastric and duodenal mucosa with the named cytoprotective can also be strengthened.

The aims of this research were to evaluate and compare macro and microscopically the intense injuries of the gastric mucosa of rats which were caused by NSAIDS celecoxib and indomethacin and the gastric cytoprotective with omeprazol and misoprostol.

One hundred and thirty “Wistar” (species) rats were analyzed, average weight 200 g, distributed in four groups, such as: Group A, subdivided in groups A1 and A2 – pre-treatment with omeprazol (20 mg/rat) during seven days, from the 7th to the 8th day – fast of food and water *ad libitum*, on the 8th day – use of NSAIDS, concerning A1 (20 rats) were given celecoxib (1mg/rat) and A2 (20 rats) were given indomethacin, more 6 hours fast. The Group B, subdivided in group B1 and B2 – pre-treatment with misoprostol (20mg/rat) during seven days, from the 7th to the 8th day – fast of food and water *ad libitum*, on the 8th day use of NSAIDS, concerning B1 (20 rats) were given celecoxib (1 mg/ rat) and B2 (20 rats) were given indomethacin (12.5 mg/rat), six hour fast. The Group C: were not given cytoprotective during seven days, from the 7th to the 8th day - fast of food and water *ad libitum*, on the 8th day of NSAIDS use, concerning C1 (20 rats) were given indomethacin (12.5 mg/ rat), more 6 hour fast and Group D – control group, concerning 10 rats were observed during seven days, from the 8th to the 9th day, fast

of food for 24 hours and water *ad libitum*. On the 9th day, the stomachs were taken out and were macro and microscopically evaluated for the identification of the gastric injuries.

On the macroscopic analysis, the results of the groups A2, B2 and C2 presented a remarkable high number of injuries for cm² /animal, concerning 18.55 injuries for cm² /animal, 16.25 injuries for cm² /animal and 13.55 injuries for cm²/animal, respectively.

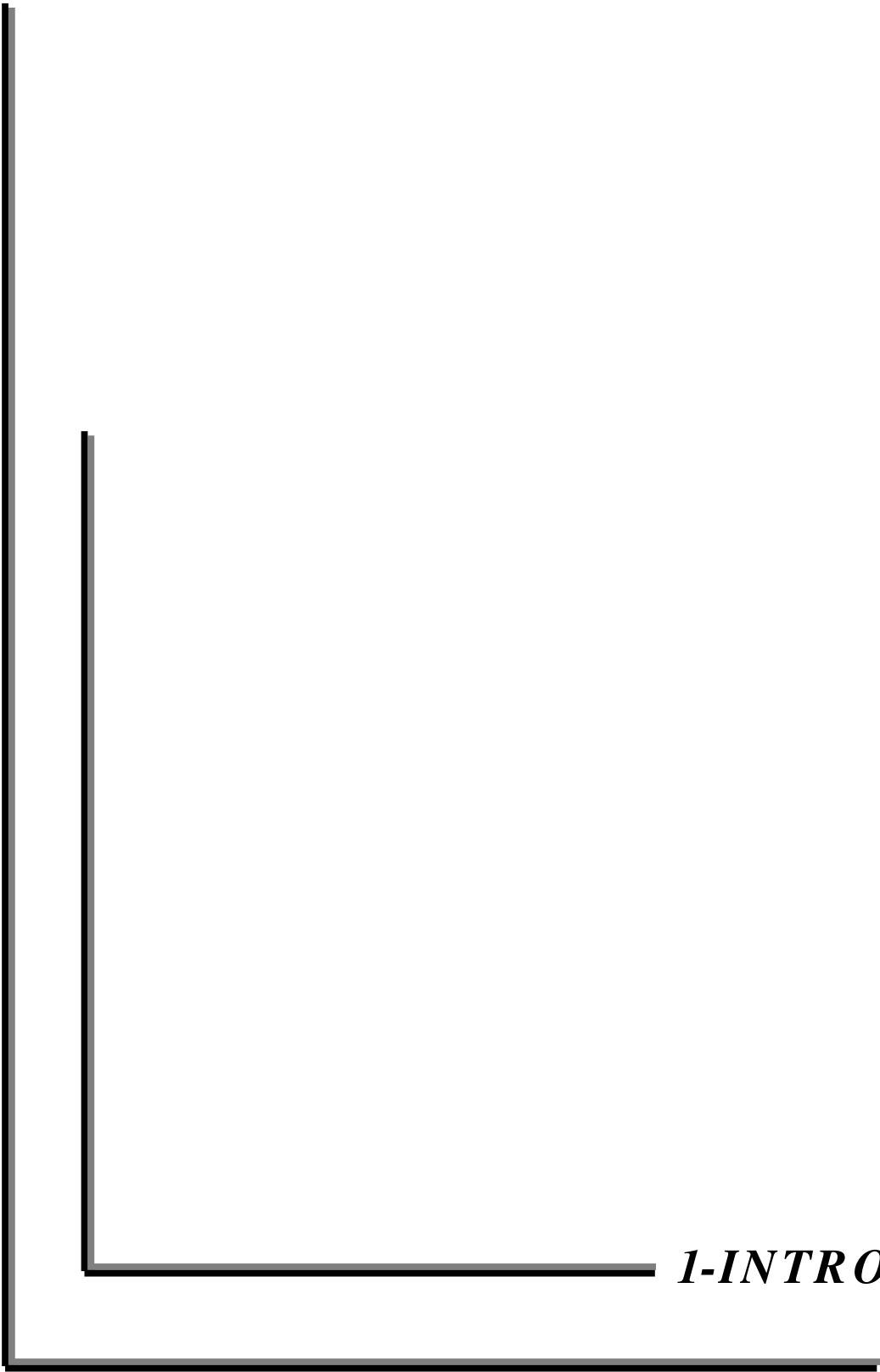
On the microscopic analysis, the results of the percentage of the injured mucosa, presented expressive difference among the groups A1, B1, C1 when compared to the groups A2, B2, C2 ($p < 0.0001$). The results of the average of the length/injury and the average of the depth of the injuries did not present expressive statistics differences among the groups A2, B2 and C2. The result of the average of the edema presented expressive statistics difference among the groups A2 and D; B2 and C2 and between C2 and D ($p < 0.05$).

Therefore we can conclude:

Indomethacin on the applied concentration causes a great number of macroscopic and microscopic injuries to gastric mucosa of rats when compared to celecoxib which does not cause it;

Omeprazol and misoprostol on the applied concentrations do not present macroscopic and microscopic effectiveness on the gastric cytoprotective of rats, when applying indomethacin;

Considering the microscopic analysis of the average of the edema, the group of animals, which was given misoprostol as cytoprotective, presented a lower average compared to the group which was given omeprazol.



A literatura especializada mostra que 300 milhões de pessoas no mundo todo utilizam os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs), e 1,2% da população dos Estados Unidos ingerem estes agentes diariamente, consumindo mais que 40 bilhões de tabletes de aspirina. Também são estimadas 100 milhões de prescrições de AINEs anualmente (BATEMAN, 1994; PAULUS, 1985).

Outro dado importante é que no mundo todo o número de pessoas com idade maior que 65 anos será de aproximadamente 750 milhões até o ano 2050. Esse aumento irá influenciar na pressão econômica sob os sistemas de saúde. Atualmente, pessoas idosas contabilizam 60% dos gastos com saúde, acarretando 35% em internações hospitalares e 47% dos hospitais-dia. Oito por cento da população idosa apresenta pelo menos uma doença crônica, e a maioria apresenta duas. O consumo de medicamentos aumenta com a idade, principalmente devido ao aumento do número de doenças.

O uso de vários medicamentos pode complicar o diagnóstico e tratamento das doenças digestivas, podendo também causar sintomas e distúrbios gastrintestinais. Vale salientar que as doenças digestivas são causas importantes de morbi e mortalidade no idoso (SCHNEIDER, 1999).

A proporção de pacientes idosos, apresentando sangramento no trato gastrintestinal superior, aumentou no século passado. Esse aumento não pode ser explicado somente pelas mudanças demográficas (ALLAN e DYKES, 1976). As pessoas com idade superior a 60 anos somam 35% a 45% de todos os casos de ocorrência de sangramento no trato gastrintestinal superior, e as mulheres representam 60% desses casos (SCHILLER et al., 1970; SILVERSTEIN et al., 1981).

Estes dados são muito importantes, uma vez que o aumento da idade é diretamente correlacionado com o aumento da taxa de hospitalização por hemorragias no trato gastrintestinal superior (mesmo após correção da distribuição da idade pelo total da população) (ALLAN e DYKES, 1976; LONGSTRETH, 1995).

Na população de pacientes com artrite reumatóide, estima-se 20.000 hospitalizações e 2.600 mortes por ano, devido à toxicidade relacionada aos AINEs. Extrapolando estes dados para toda a população usuária de AINEs nos Estados Unidos, mais de 100.000 hospitalizações e 10.000 a 20.000 mortes por ano são devidas a complicações gastrintestinais relacionadas aos AINEs, com um custo excedendo 4 bilhões por ano (FRIES, 1991).

Os riscos de úlcera e lesões gástricas agudas para pacientes que utilizam apenas um antiinflamatório não esteroide é relativamente baixo e de difícil quantificação. Estas estimativas são resultados de estudos sobre dados de hospitalização (por meio de casos controlados), examinando as complicações das úlceras relacionadas aos AINEs e estudos endoscópicos que detectam até mesmo lesões assintomáticas, pouco prejudiciais (McCARTHY, 1989; BARRISON, 1991).

Assim como nos pacientes com mais de 60 anos, também pode acontecer com os jovens casos de ocorrência de lesões gástricas por AINEs (VREEBURG et al., 1997; SEGAL e CELLO, 1997).

Embora as erosões provavelmente sejam as precursoras da úlcera péptica, a possibilidade da progressão para uma lesão mais significativa é indefinida. Estudos endoscópicos de pacientes reumáticos que receberam por um longo período terapia com AINEs, confirmaram uma incidência alta de danos gástricos e duodenais. As úlceras pépticas foram registradas em 17% e erosões em 40%; para as úlceras duodenais os registros foram de 4% e erosões em 13%.

Resumidamente, aos dados prevalentes de úlcera gástrica desenvolvida em pacientes com artrite e tratados com AINEs tem sido estimada a ocorrência em 13%, comparados com 0,3% na população normal. (Estes dados não são distintos entre úlceras induzidas por AINEs versus úlceras induzidas por *H. pylori* exacerbadas pelos AINEs) (McCARTHY, 1989).

A fisiopatologia das lesões pépticas, por outro lado, pode ser considerada como um desequilíbrio entre os fatores agressivos (ácido, pepsina, infecção por *H. pylori*) e as defesas locais da mucosa, a secreção de bicarbonato, muco e prostaglandinas (PG). Embora o tratamento seja dirigido mais freqüentemente para a redução de fatores agressivos, ele pode também fortalecer as defesas mucosas do estômago e duodeno com os chamados agentes citoprotetores (McCARTHY, 1989).

Além disso, outras etiologias, não menos importantes das lesões gástricas, são a infecção por *H. pylori* e os antiinflamatórios não esteroidais (AINEs). Diante da confirmação da presença do *H. pylori* nas úlceras gástricas, é importante que seja instituída uma combinação apropriada de terapia antimicrobiana. Caso contrário, os citoprotetores podem ser administrados (BRUNTON, 1996).

Os antiácidos foram os únicos neutralizadores do ácido gástrico utilizados para o alívio da dor das úlceras, durante muitos anos. Embora a acidez gástrica tenha sido responsabilizada como o principal fator etiológico da úlcera péptica, as pesquisas direcionadas aos meios pelos quais a mucosa gástrica normalmente se protege de agentes agressivos sugeriram enfoques terapêuticos adicionais.

Os tratamentos atuais são dirigidos para a redução dos fatores agressivos e para o fortalecimento das defesas das mucosas do estômago e duodeno com os agentes citoprotetores.

Os fármacos que reduzem a secreção gástrica de ácido (antagonistas de receptores H₂ e os inibidores da bomba de prótons da célula parietal) promovem a cicatrização e são os mais utilizados. Os agentes citoprotetores (sucralfato, bismuto coloidal e o agonista de prostaglandina misoprostol) e os antiácidos também têm eficácia comprovada na literatura (BRUNTON, 1996).

1.1- REVISÃO DA LITERATURA

1.1.1- Antiinflamatórios não esteroidais (AINEs)

1.1.1.1- Histórico dos AINEs

O efeito medicinal da casca do salgueiro e de algumas outras plantas é conhecido há séculos por algumas culturas, sendo o seu ingrediente ativo um glicosídeo amargo conhecido como salicina, isolado pela primeira vez em sua forma pura por Leroux, em 1829, que também demonstrou seu efeito antipirético. A hidrólise da salicina produz glicose e álcool salicílico, o qual pode ser convertido em ácido salicílico, seja *in vivo* ou pela manipulação química. O salicilato de sódio foi usado pela primeira vez no tratamento da febre reumática e como antipirético em 1875 e a descoberta dos seus efeitos uricosúricos e da sua utilidade no tratamento da gota ocorreu logo depois (INSEL, 1996).

O sucesso enorme desse medicamento levou o químico Hoffman a preparar o ácido acetilsalicílico, baseado num antigo e esquecido trabalho realizado por Gerhardt em 1853. Depois da demonstração dos seus efeitos antiinflamatórios, este composto foi introduzido na medicina em 1899 por Dreser, sob o nome de aspirina (INSEL, 1996).

Nos primeiros anos do século XX, os salicilatos sintéticos substituíram os compostos mais dispendiosos obtidos das fontes naturais, e os principais benefícios terapêuticos da aspirina estavam demonstrados. Mais tarde, foram descobertos outros medicamentos que compartilhavam de algumas ou de todas essas ações, entre eles, apenas os derivados do para- aminofenol, que são usados atualmente. E nos últimos trinta anos, a começar pela indometacina, um grande número de outros agentes foi e está sendo introduzido na medicina de vários países (INSEL, 1996).

1.1.1.2- Mecanismo de Ação dos AINEs convencionais

Embora tenha sido demonstrado que os antiinflamatórios não esteroidais inibem várias reações realizadas *in vitro*, até 1971 não foi possível

estabelecer qualquer relação convincente quanto aos seus efeitos antiinflamatórios, antipiréticos e analgésicos (VANE, 1971).

Nessa época, havia alguma evidência de que as prostaglandinas participavam da patogenia da inflamação e febre e isto reforçou a hipótese de que a inibição da biossíntese destes autacóides poderia explicar algumas das ações clínicas desses medicamentos (HIGGS, G.A. et al., 1983). Muitas observações reforçaram este ponto de vista, incluindo-se a comprovação de que as prostaglandinas são liberadas sempre que as células são lesadas, aparecem nos exsudatos inflamatórios e os antiinflamatórios não esteroidais inibem a biossíntese e a liberação das prostaglandinas em todas as células testadas.

No entanto, esses medicamentos geralmente não inibem a formação dos licosanóides como os leucotrienos, que também contribuem para a inflamação, nem afetam a síntese de vários outros mediadores da inflamação (ABRAMSON e WEISSMAN, 1989; VANE, 1994; VANE e BOTTING, 1995).

Assim, é fundamental ressaltar o processo da inflamação e da dor. O processo inflamatório envolve uma gama de fenômenos que podem ser desencadeados por diversos estímulos, como: isquemia, interações antígeno-anticorpo, agentes infecciosos, entre outros. A resposta no âmbito macroscópico geralmente é acompanhada de sinais clínicos bem conhecidos como edema, eritema, hiperestesia e dor.

Tais respostas inflamatórias ocorrem em fases diferentes, cada qual mediada por diversos mecanismos:

- (1) Fase transitória aguda, caracterizada por vasodilatação localizada e aumento da permeabilidade vascular;
- (2) Fase subaguda, ou tardia, caracterizada principalmente pela infiltração de leucócitos e células fagocitárias;

- (3) Fase proliferativa crônica, com características de degeneração tecidual e fibrose.

Portanto, vários mecanismos estão envolvidos no processo inflamatório e a capacidade de desencadear uma resposta inflamatória é fundamental à sobrevivência, em vista dos diferentes patógenos e das lesões ambientais, embora em determinadas situações e doenças, a resposta inflamatória possa exacerbar e persistir sem qualquer benefício aparente (GALLIN et al., 1992; KELLEY et al., 1993).

O recrutamento das células inflamatórias para os locais de lesão envolve interações simultâneas de vários tipos de mediadores solúveis. Várias citocinas também desempenham um papel fundamental no processo inflamatório; especialmente a interleucina-1 (IL-1) e o fator de necrose tumoral (FNT). Outras substâncias também são muito importantes neste processo, como a histamina, um dos primeiros mediadores do processo inflamatório a ser identificado, além da bradicinina e a 5- hidroxitriptamina (serotonina, 5-HT) (DINARELLO, 1992).

A compreensão de que as prostaglandinas constituíam apenas uma fração dos produtos fisiologicamente ativos do metabolismo do araquidonato resultou das descobertas do tromboxano A₂ (TXA₂), da prostaciclina (PGI₂) e dos leucotrienos (HAMBERG et al., 1975; MONCADA, 1976; SAMUELSSON, 1983).

A descoberta por Vane, Smith e Willis, em 1971, de que a aspirina e medicamentos semelhantes inibiam a biossíntese de prostaglandinas, esclareceu o mecanismo de ação desses fármacos e foi um recurso essencial para a investigação do papel desses autacóides (do grego: *autos* (próprio) e *akos* (substância medicinal ou remédio) (VANE, 1971).

Os antiinflamatórios não esteroidais são classificados como analgésicos suaves, no entanto, esta classificação não está totalmente correta, pois, para avaliar a eficácia de um analgésico, é necessário levar em consideração o tipo e a intensidade da dor. Como exemplo, há alguns tipos de dor pós-operatória, para as

quais os antiinflamatórios não esteroidais podem ser mais eficazes do que os analgésicos opióides. Além disso, são particularmente eficazes nas situações em que a inflamação tenha produzido a sensibilização dos receptores da dor aos estímulos mecânicos ou químicos normalmente indolores. E a dor que acompanha a inflamação e a lesão tecidual provavelmente é resultante da estimulação local das fibras da dor e do aumento da sensibilidade (hiperalgesia), em parte devido à excitabilidade aumentada dos neurônios centrais da medula espinhal (“sensibilização central”) (KONTTINEN, 1994).

Os antiinflamatórios não esteroidais habitualmente não alteram a hiperalgesia ou dor causada pela ação direta das prostaglandinas, o que confirma o conceito de que os efeitos analgésicos desses medicamentos são em virtude da inibição da síntese das prostaglandinas. No entanto, alguns dados sugerem que o alívio da dor graças a esses compostos possa ocorrer por outros mecanismos além da inibição da síntese de prostaglandinas, como por exemplo, os efeitos antinociceptivos nos neurônios periféricos ou centrais (GEBHART e McCormack, 1994; KONTTINEN, 1994).

1.1.1.3- Inibição da biossíntese das prostaglandinas pelos AINEs e ciclooxigenase dos ácidos graxos (COX 1 e COX 2)

Conforme visto anteriormente, os principais efeitos terapêuticos dos AINEs estão relacionados à sua capacidade de inibir a produção das prostaglandinas, cuja síntese é realizada de forma progressiva, por um complexo de enzimas microssomiais e a primeira enzima que participa desta via é a sintase do endoperoxídeo da prostaglandina, também conhecida como ciclooxigenase dos ácidos graxos.

Existem duas isoformas dessa enzima, ciclooxigenases 1 e 2 (designadas como COX-1, COX-2). A primeira é uma isoforma constitutiva, encontrada nos vasos sanguíneos, estômago e rins, que age como citoprotetora gástrica enquanto a

COX-2 é induzida no contexto inflamatório pelas citocinas e mediadores da inflamação (SMITH, 1992).

1.1.1.4- Classificação dos AINEs convencionais

O quadro a seguir apresenta uma classificação dos fármacos analgésicos, antipiréticos e antiinflamatórios não esteroidais, baseada nos grupos químicos. Cada medicamento apresentado, inibe a ciclooxigenase por mecanismos diferentes, e seus principais efeitos terapêuticos e colaterais serão discutidos a seguir.

Tabela 1- Classificação dos AINEs convencionais

Classificação	Medicamentos
a) Derivados do ácido salicílico	aspirina, salicilato de sódio, trissalicilato de magnésio e colina, salsalato, diflunisal, ácido salicilalílico, sulfasalazina, olsalazina.
b) Derivados do para-aminofenol	Acetaminofeno
c) Ácidos indol e indeno acético	indometacina, sulindaco, etodolaco
d) Ácidos heteroaril acéticos	tolmetina, diclofenaco, cetorolaco
e) Ácidos arilpropiônicos	ibuprofeno, naproxeno, flurbiprofeno, cetoprofeno, fenoprofeno, oxaprozina.
f) Ácidos antranílicos (fenamatos)	ácido mefenâmico, ácido meclofenâmico
g) Ácidos enólicos	oxicams (piroxicam, tenoxicam) pirazolidinodionas (fenilbutazona, oxifentatrazona)
h) Alcanonas	nabumetona
(modificado de INSEL, 1996)	

A grande maioria dos AINEs relacionados na tabela acima é de ácidos orgânicos e, ao contrário da aspirina, funcionam como inibidores competitivos reversíveis da atividade da ciclooxigenase.

A aspirina modifica covalentemente a COX-1 e a COX-2, resultando desta forma na inibição irreversível da atividade das ciclooxigenases. Assim, esta é uma diferença importante da aspirina, já que a duração dos seus efeitos está relacionada à taxa de renovação das ciclooxigenases nos diversos tecidos-alvo. Na estrutura da COX-1, a aspirina acetila a serina 530 impede a ligação do ácido araquidônico ao local ativo da enzima e, desta forma, suprime a capacidade desta enzima de produzir prostaglandinas. Já na COX-2, a aspirina acetila uma serina homóloga na posição 516 (LECOMTE, 1994 ; O'NEILL, 1994).

Assim como os ácidos orgânicos, esses compostos, em geral, são bem absorvidos por via oral, ligam-se amplamente às proteínas plasmáticas e são excretados pela filtração glomerular ou secreção tubular. A duração da ação dos AINEs (que são inibidores reversíveis da ciclooxigenase), ao contrário da aspirina, cuja duração da ação é determinada pela taxa da síntese de novas enzimas ciclooxigenases, está relacionada principalmente à depuração farmacocinética dos medicamentos pelo organismo.

Embora existam evidências seguras de que as doses terapêuticas da aspirina e dos outros AINEs reduzam a biossíntese das prostaglandinas nos seres humanos e haja uma correlação razoavelmente direta entre a potência destes medicamentos como inibidores da ciclooxigenase e sua atividade antiinflamatória (VANE e BOTTING, 1987), a indometacina é uma exceção notável porque ela é mais potente nos testes inflamatórios do que no ensaio de inibição enzimática (INSEL, 1996).

1.1.1.5- Atividades terapêuticas dos AINEs

Todos os AINEs são antipiréticos, analgésicos e antiinflamatórios, porém existem diferenças importantes em suas atividades. Os motivos para tais

diferenças não estão totalmente esclarecidos, porém a sensibilidade diferenciada das enzimas em cada tecido pode ser muito importante. Por exemplo, o acetaminofeno é antipirético e analgésico, porém possui ação antiinflamatória fraca por possuir pouca atividade como inibidor da enzima ciclooxigenase (MARSHALL et al., 1987).

Os AINEs têm sua principal ação clínica como agentes antiinflamatórios no tratamento das doenças musculoesqueléticas como a artrite reumatóide e a osteoartrite, apesar de serem também utilizados em cólicas biliares, dores crônicas, dismenorréia primária. Geralmente os AINEs proporcionam apenas o alívio sintomático da dor e inflamação associadas à doença, porém sem interromper a progressão da lesão tecidual durante os episódios graves. Ensaios mostram que aproximadamente 35% a 40% dos pacientes com osteoartrites requerem o uso de AINEs. Outras pesquisas também revelam que em artrites crônicas, 57% dos tratamentos com AINEs requerem uso intermitente, e 43% o uso contínuo dos mesmos (BROOKS, 1998; SHAPIRO, 1988).

1.1.1.6- Efeitos colaterais do tratamento com AINEs

Os AINEs, além de possuírem várias atividades terapêuticas em comum, também apresentam vários efeitos colaterais indesejáveis, como mostra a tabela que se segue (BORDA e KOFF, 1992):

Tabela 2- Efeitos colaterais dos AINEs

Efeitos colaterais comuns aos AINEs:

- ulceração e intolerância gastrintestinais;
 - bloqueio da agregação plaquetária (inibição da síntese de tromboxanos);
 - inibição da motilidade uterina (prolongamento da gestação);
-

-
- inibição da função renal mediada pelas prostaglandinas;
 - reações de hipersensibilidade.
-

Dentre os efeitos colaterais citados acima, o mais comum, quanto às ocorrências, é a tendência a produzir ulceração gástrica ou intestinal que, em alguns casos, pode acompanhar-se de anemia secundária a sangramento. Outros autores mostram que pacientes utilizando AINEs por períodos longos têm risco relativo cerca de três vezes maior de desenvolver complicações gastrintestinais colaterais, em comparação com os pacientes que não usam estes medicamentos (GABRIEL et al., 1991).

A lesão gástrica causada por estes medicamentos pode ser induzida, pelo menos, por dois mecanismos diferentes. A administração por via oral dos AINEs, pode possibilitar a difusão retrógrada do ácido para a mucosa gástrica e produzir lesão tecidual, no entanto, a administração parenteral também pode causar lesão e sangramento em virtude da inibição da biossíntese das prostaglandinas gástricas, que funcionam como substâncias de proteção da mucosa gástrica (IVEY, K.J., 1988).

Os AINEs também inibem a secreção ácida do estômago, aumentam o fluxo sanguíneo da mucosa e estimulam a secreção do muco citoprotetor do intestino. Desta forma, a inibição da sua síntese pode tornar o estômago mais suscetível à lesão. Um fator relevante é que a administração do análogo da PGE 1- *misoprostol* – junto com o AINE pode ser benéfica na profilaxia das ulcerações duodenal e gástrica produzidas por estes medicamentos (GRAHAM et al., 1993).

SANDLER, 1989 observa que provavelmente dependem do bloqueio da síntese de prostaglandinas endógenas, incluem distúrbios da função plaquetária, prolongamento da gestação ou parto espontâneo e alterações da função renal, devendo-se principalmente aos seus abusos nas misturas analgésicas. Geralmente, as lesões renais manifestam-se inicialmente pelas reduções da função tubular,

podendo progredir para insuficiência renal irreversível se o uso destes medicamentos for prolongado. As mulheres são afetadas com maior frequência do que os homens, apresentando infecção urinária recorrente.

Mais recentemente, surge uma nova classe de antiinflamatórios não esteroidais com índice de complicações bem inferior que os tradicionais AINEs, intitulados de “coxibs”.

Trata-se de uma classe que representa um importante avanço farmacológico no tratamento antiinflamatório, reduzindo a incidência de lesões gastrointestinais, uma vez que são inibidores específicos da COX-2, a qual surge em uma situação de inflamação (WHELTON, 2001).

1.1.2- Citoprotetores gástricos

1.1.2.1- Farmacologia celular da secreção gástrica

A redução da acidez gástrica, em termos de regulação fisiológica da secreção de ácido pela célula parietal, divide-se em três vias:

- a) estimulação neural via nervo vago;
- b) estimulação endócrina via gastrina liberada pelas células G antrais;
- c) estimulação parácrina pela liberação local de histamina.

A estimulação vagal da ação da gastrina estimula a liberação de histamina, que por sua vez, ativa os receptores H_2 da célula parietal ligados à estimulação de adenilil ciclase, causando a ativação da via de AMP cíclico.

Os inibidores covalentes de H^+,K^+ -ATPase, tais como o omeprazol, inibem a secreção ácida, a via final comum na secreção gástrica de ácido. As prostaglandinas (PG), inibindo a atividade de adenililciclase estimulada por histamina na célula parietal, reduzem a atividade pela via dependente de AMP cíclico (AMPc) evocada por histamina, reduzindo assim a secreção ácida. As prostaglandinas também estimulam a secreção de muco e bicarbonato pelas células epiteliais superficiais adjacentes, contribuindo para os efeitos citoprotetores de

prostaglandinas endógenas da série E e para os efeitos protetores de análogos estáveis das PGE₁, tais como o misoprostol. A importância do papel das prostaglandinas na citoproteção é manifestada pelos efeitos ulcerogênicos dos AINEs (BRUNTON, 1996).

1.1.2.2- Histórico das prostaglandinas

Em 1930, dois médicos ginecologistas americanos, Kurzrok e Lieb, observaram que fatias do útero humano se relaxavam ou se contraíam quando expostas ao sêmen humano. Anos após, Goldblatt na Inglaterra e Von Euler na Suécia, descreveram, independentemente, as atividades contráteis da musculatura lisa e vasodepressora no líquido seminal e glândulas reprodutoras acessórias. Von Euler descreveu a substância ativa como um ácido lipossolúvel, denominando-o como “prostaglandina” (VON EULER, 1973).

Mais de vinte anos se passaram antes da demonstração de que a prostaglandina era, na verdade, uma família de compostos típicos e, as estruturas de duas delas – prostaglandina E₁ (PGE₁) e prostaglandina F₁ α (PGF₁α) – foram esclarecidas em 1962. Pouco tempo depois, mais prostaglandinas foram caracterizadas e estas, ao contrário das outras, eram ácidos carboxílicos insaturados de 20 carbonos com um anel de ciclopentano. E finalmente, quando a estrutura global das prostaglandinas tornou-se conhecida, sua relação com os ácidos graxos essenciais foi esclarecida.

Em 1964, Bergström e colaboradores e Van Dorp e associados conseguiram, independentemente, a biossíntese da PGE₂ a partir do ácido araquidônico, usando homogenatos da vesícula seminal do carneiro (SAMUELSSON, 1972).

1.1.2.3- Classificação terapêutica dos citoprotetores

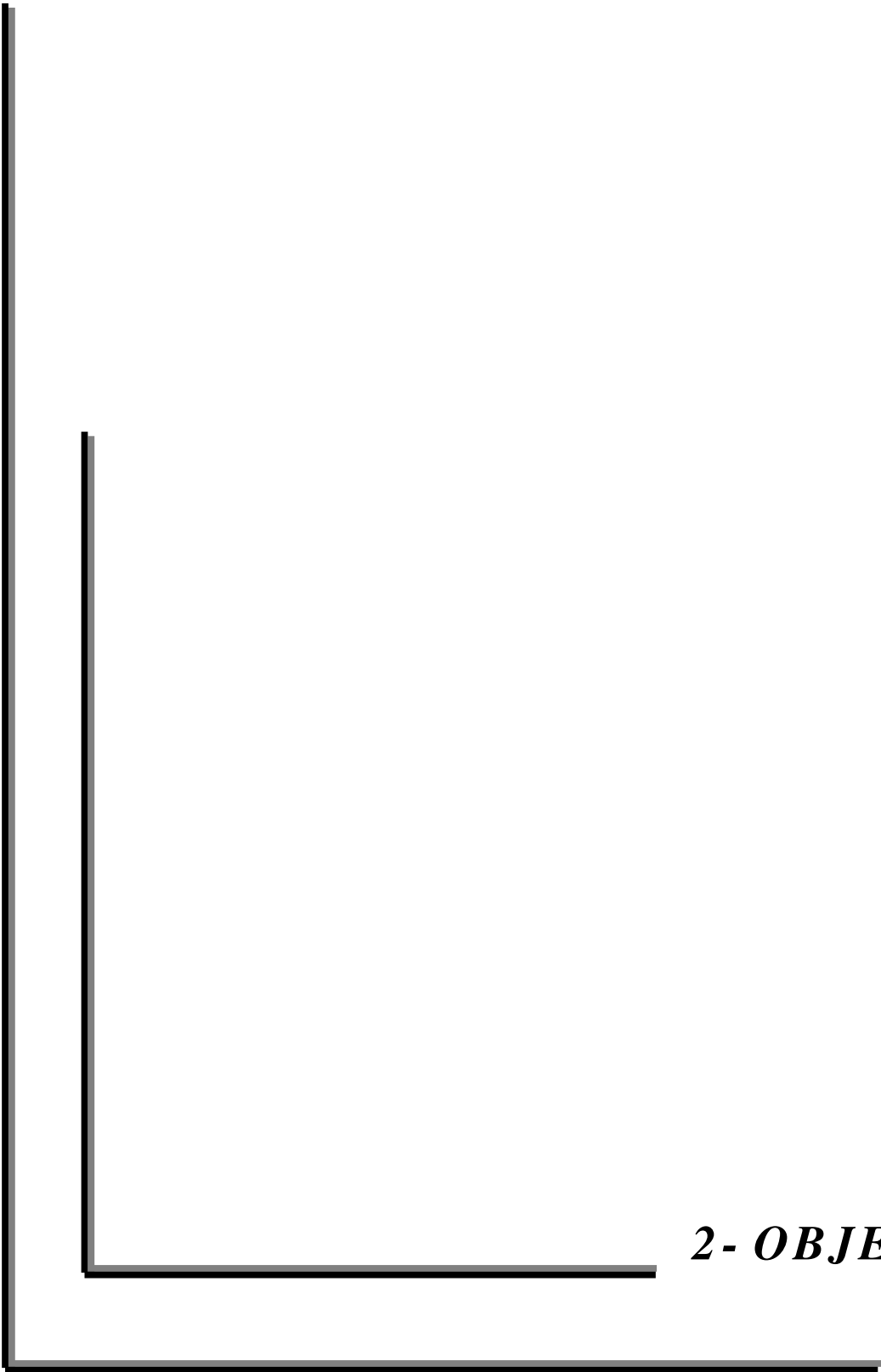
Diante da compreensão dos mecanismos que contribuem para o desenvolvimento da úlcera e particularmente de secreção gástrica de ácido, existem inúmeras estratégias terapêuticas, conforme classificação da tabela a seguir.

Tabela 3- Classificação dos citoprotetores gástricos

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

(modificado de BRUNTON,1996)

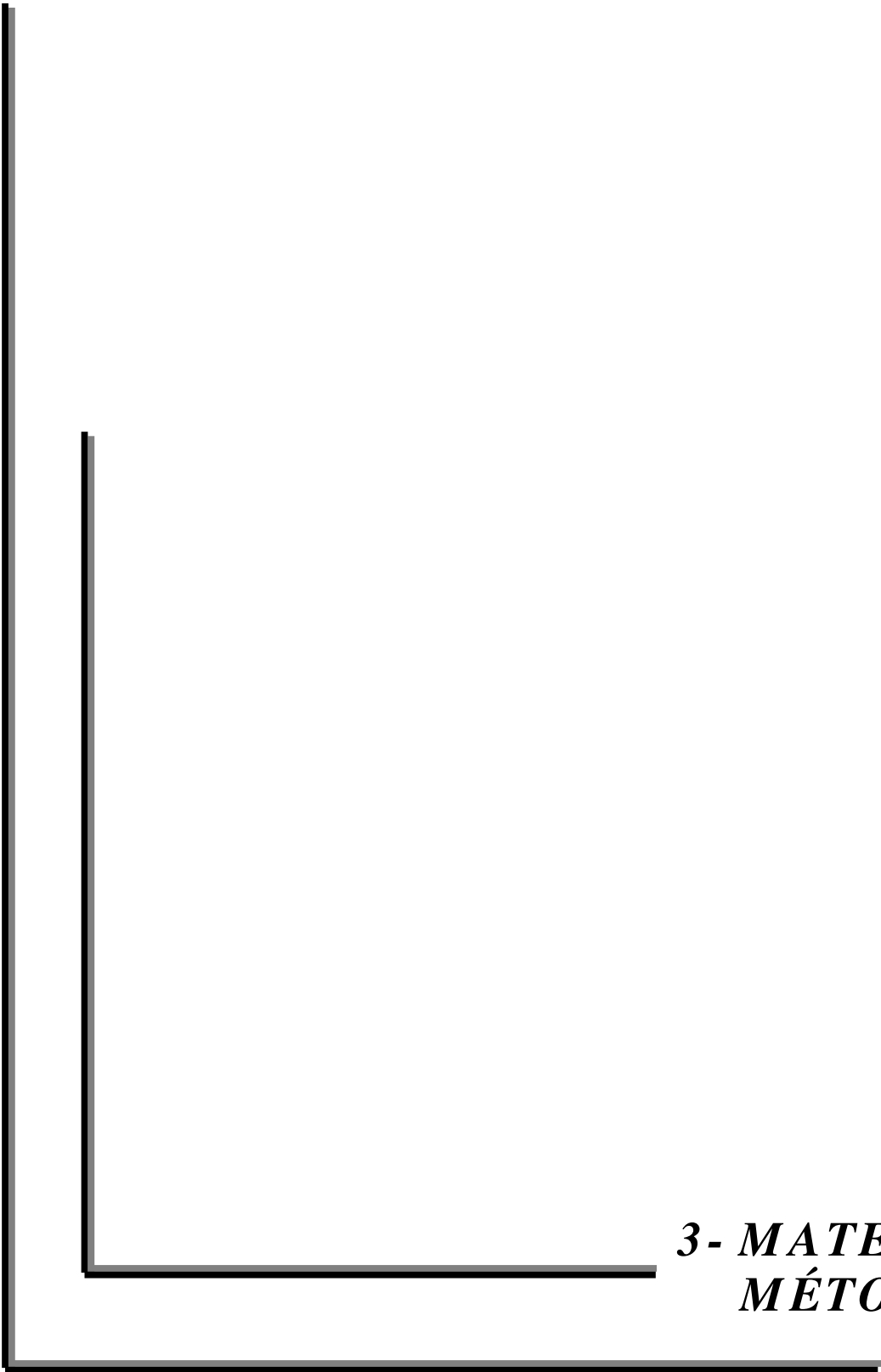
Considerando-se as estatísticas elevadas de lesões agudas provocadas nos usuários de AINEs em todo o mundo e a importância da classe dos citoprotetores gástricos, além dos avanços recentes com a introdução de medicamentos com inibição seletiva da COX- 2 oferecerem vantagens terapêuticas, já que esta isozima provavelmente está envolvida na produção das prostaglandinas, é que este trabalho investiga as lesões agudas causadas pelos antiinflamatórios indometacina e celecoxib e compara a ação citoprotetora do omeprazol e misoprostol.



2 - OBJETIVOS

Os objetivos específicos do presente trabalho, foram:

Comparar macro e microscopicamente as lesões agudas da mucosa gástrica de ratos provocadas pela indometacina com o celecoxib e a citoproteção do misoprostol com o omeprazol.



3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1- ANIMAIS

O experimento foi realizado no Laboratório de Enzimologia e Carcinogênese Experimental do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Unicamp (NMCE), após prévia aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) - Instituto de Biologia (IB), sendo utilizados 130 ratos da raça “Wistar” (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia mammalia*), todos machos, com três meses de idade e peso médio de 200g, fornecidos pelo Centro de Bioterismo da Unicamp (CEMIB).

Os animais foram criados no próprio CEMIB, em condições especiais, sendo, portanto, considerados saudáveis e livres de doenças específicas (SPF – Specific Pathogen Free).

3.2- ACONDICIONAMENTO

Os animais foram acondicionados em grupos de dez, sendo cada um destes acondicionado em gaiola plástica medindo 33cm de largura, 40cm de comprimento e 18cm de altura, forrada com serragem (maravalha) e com tampo de grade metálica. Eram mantidos em temperatura ambiente, com ciclos diurnos de luz, sob fluxo de ar contínuo, recebendo alimentação (Apêndice 1) e água *ad libitum*, permanecendo sempre na mesma gaiola até o final do experimento.

3.3- MANIPULAÇÃO

A manipulação das gaiolas foi sempre realizada pelo mesmo técnico de laboratório, treinado especialmente para esta função. Utilizava calçados, avental e luvas próprias e realizava a higienização das gaiolas três vezes por semana.

3.4- DROGAS UTILIZADAS

- Indometacina⁽¹⁾: 12,5mg/rato
- Celecoxib⁽²⁾: 1comprimido de 200 mg, diluído em 200 ml de água (1m/rato)
- Omeprazol⁽³⁾: 20mg/rato
- Misoprostol⁽⁴⁾: 1 comprimido (200 µg) / 10 ratos : diluição de 1 comprimido em 20ml (2µg /rato).

3.5- MATERIAIS UTILIZADOS NO TRANSCORRER DO EXPERIMENTO

Os animais permaneciam em sala específica, de 6m², do biotério do Laboratório de Enzimologia e Carcinogênese Experimental, com ventilação e fluxo de ar contínuos, iluminação em ciclo claro/escuro e exaustão.

As gaiolas eram colocadas em prateleiras metálicas. Os materiais usados para alimentação e pesagem dos animais foram :

- bebedouro plástico com capacidade para 500ml para roedores;
- ração específica para roedores (Apêndice 1);
- água potável e filtrada da rede de abastecimento da Unicamp;
- balança comum com capacidade para 2 Kg.

⁽¹⁾ Indocid[®] : Laboratório Prodome

⁽²⁾ Celebra[®] : Laboratório Pharmacia - Brasil Ltda.

⁽³⁾ Losec Mups[®] : Laboratório AstraZeneca

⁽⁴⁾ Cytotec[®] : Laboratório Pharmacia - Brasil Ltda.

Para o preparo e conservação das soluções, foram usados :

- capela de exaustão;
- becker graduado;
- proveta graduada.

Para a limpeza e conservação do biotério e das gaiolas foram necessários:

- hipoclorito de sódio e quaternário de amônia para desinfecção;
- sabão em pó de pH neutro;
- vassoura;
- escova;
- papel toalha;
- álcool 70%.

3.6- MATERIAIS UTILIZADOS PARA EXERESE DAS PEÇAS ANATÔMICAS

Os animais foram anestesiados com tiopental sódico⁽⁵⁾ e então colocados em prancha de madeira, sendo nesta etapa necessários os seguintes materiais:

- pinça anatômica com e sem dente;
- pinça de Kelly;
- tesoura de Mayo;

⁽⁵⁾ Thionembital[®] - Laboratório Abbott

- tesoura de Metzembaun delicada;
- prancha com fixadores elásticos para colocação dos animais;
- placas de Petri
- gaze e algodão;
- sacos de lixo (branco/preto);
- cotonetes;
- seringas (1 e 3ml);
- agulhas (13 x 4,5).

3.7- MATERIAIS UTILIZADOS NA ANÁLISE MACROSCÓPICA

Os materiais utilizados na análise macroscópica foram :

- luminária do tipo Ramsor com capacidade de aumento real de dez vezes;
- placas de vidro quadriculadas (em cm²);
- placas de Petri;
- vidro de relógio;
- pinça anatômica sem dente;
- seringa (1ml);
- agulha (13 x 4,5);
- gaze;
- caneta de retroprojektor;
- campo azul;

- etiquetas para identificação;
- formalina tamponada 7,2% (Apêndice 3).

3.8- MATERIAIS UTILIZADOS NA ANÁLISE MICROSCÓPICA

Os materiais utilizados na análise microscópica foram :

- navalha de secção Leica 858, para secção das peças;
- grades histológicas, para acondicionamento das peças;
- processador automático histotécnico (Autotécnico – Ultra III);
- auto inclusor Leica EG 1160;
- blocos de parafina "paraplastic";
- micrótomo ("American Optical Co".);
- lâminas e lamínulas;
- material para coloração com hematoxilina e eosina (HE);
- microscópio ótico convencional;
- formol;
- álcool;
- xilol;
- etiquetas para identificação;
- caixas para colocação das lâminas.

3.9- GRUPOS DE ANIMAIS

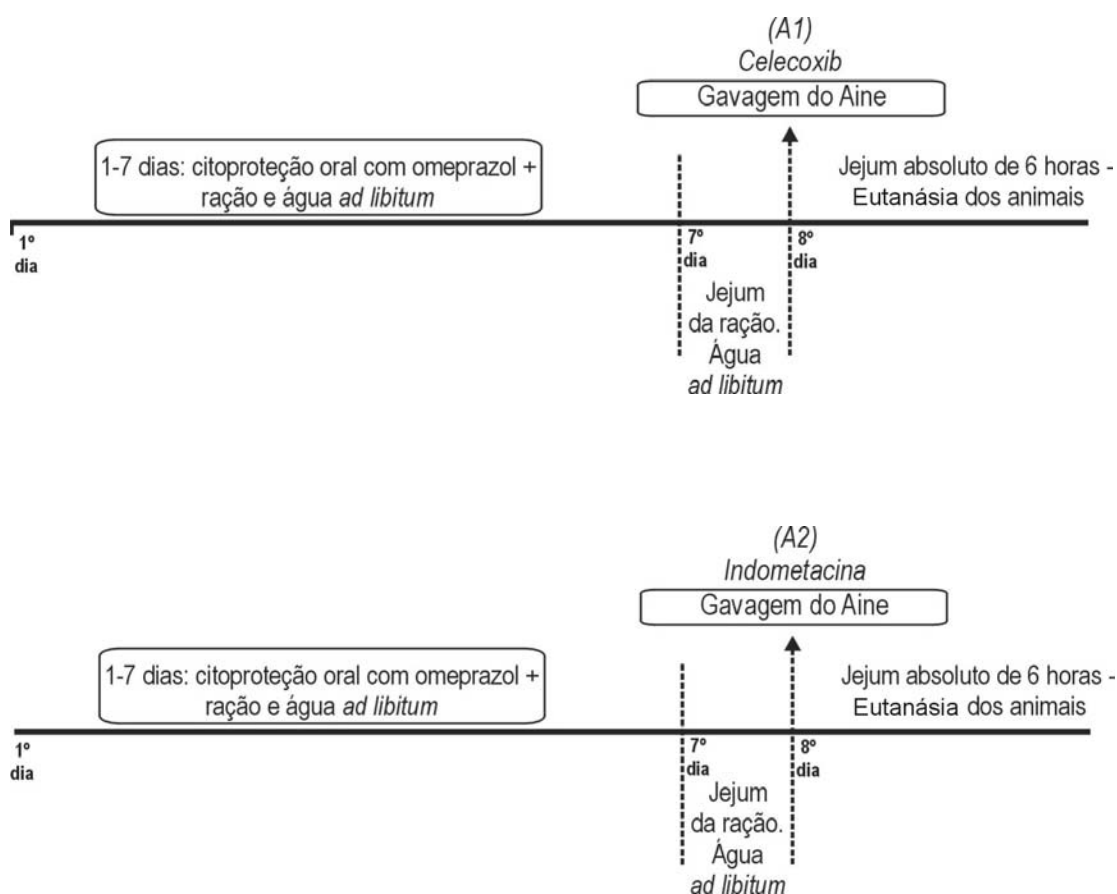
Os animais foram colocados em gaiolas com cinco ratos em cada, sendo divididos em grupos de 20.

Grupo A : Pré-tratamento com omeprazol

Grupo A1 : celecoxib – 20 ratos

Grupo A2 : indometacina – 20 ratos

Quarenta ratos foram pré-tratados diariamente (durante 7 dias) com omeprazol. Do 7º para o 8º dia ficaram em jejum da ração por 24 horas; 20 deles receberam celecoxib e 20 receberam indometacina. Após a administração dos antiinflamatórios, ficaram em jejum por 6 horas. Então, os animais foram sacrificados no 9º dia por sobrecarga anestésica de tiopental sódico para exereses do estômago e observação das lesões gástricas.

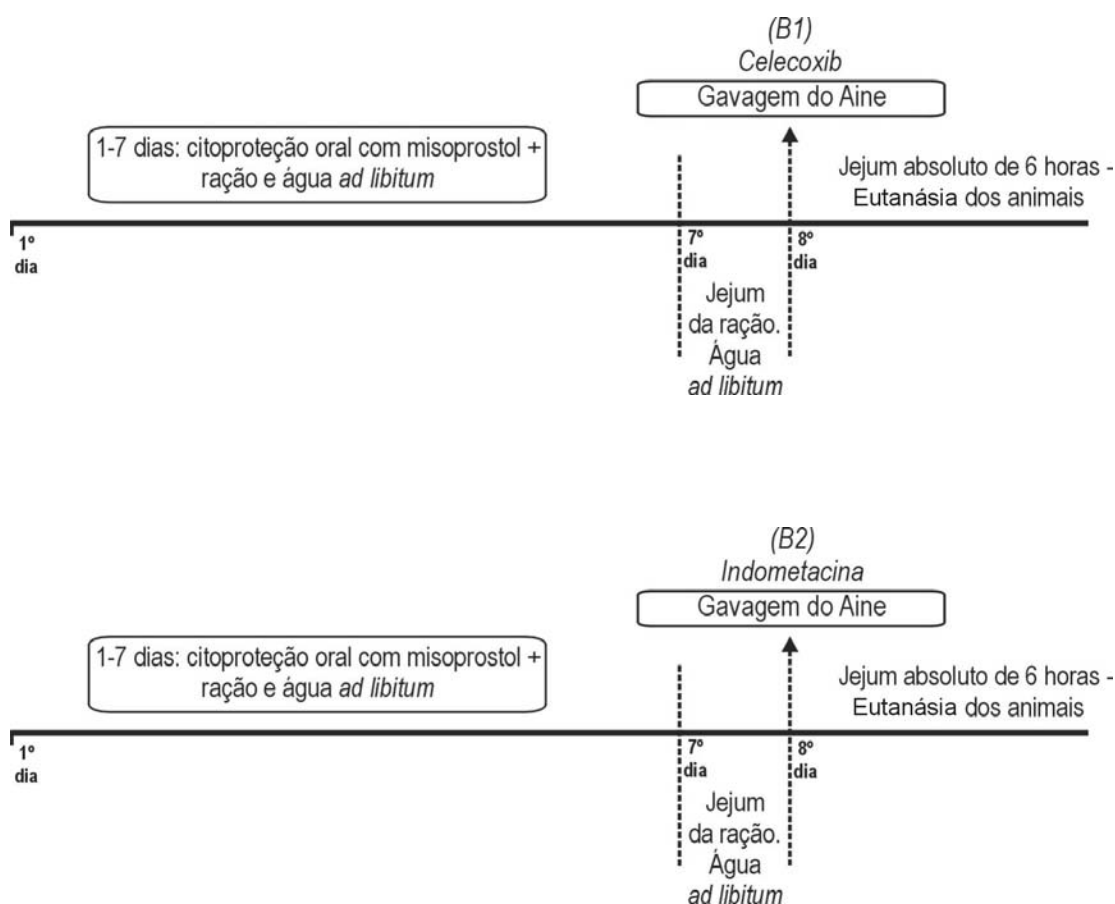


Grupo B : Pré-tratamento com misoprostol

Grupo B1 : celecoxib – 20 ratos

Grupo B2 : indometacina – 20 ratos

Quarenta ratos foram pré-tratados diariamente (durante 7 dias) com misoprostol. Do 7º para 8º dia ficaram em jejum da ração por 24 horas; 20 deles receberam celecoxib e 20 receberam indometacina. Após a administração dos antiinflamatórios, ficaram em jejum por 6 horas. Então, os animais foram sacrificados no 9º dia por sobrecarga anestésica de tiopental sódico para exereses do estômago e observação das lesões gástricas.

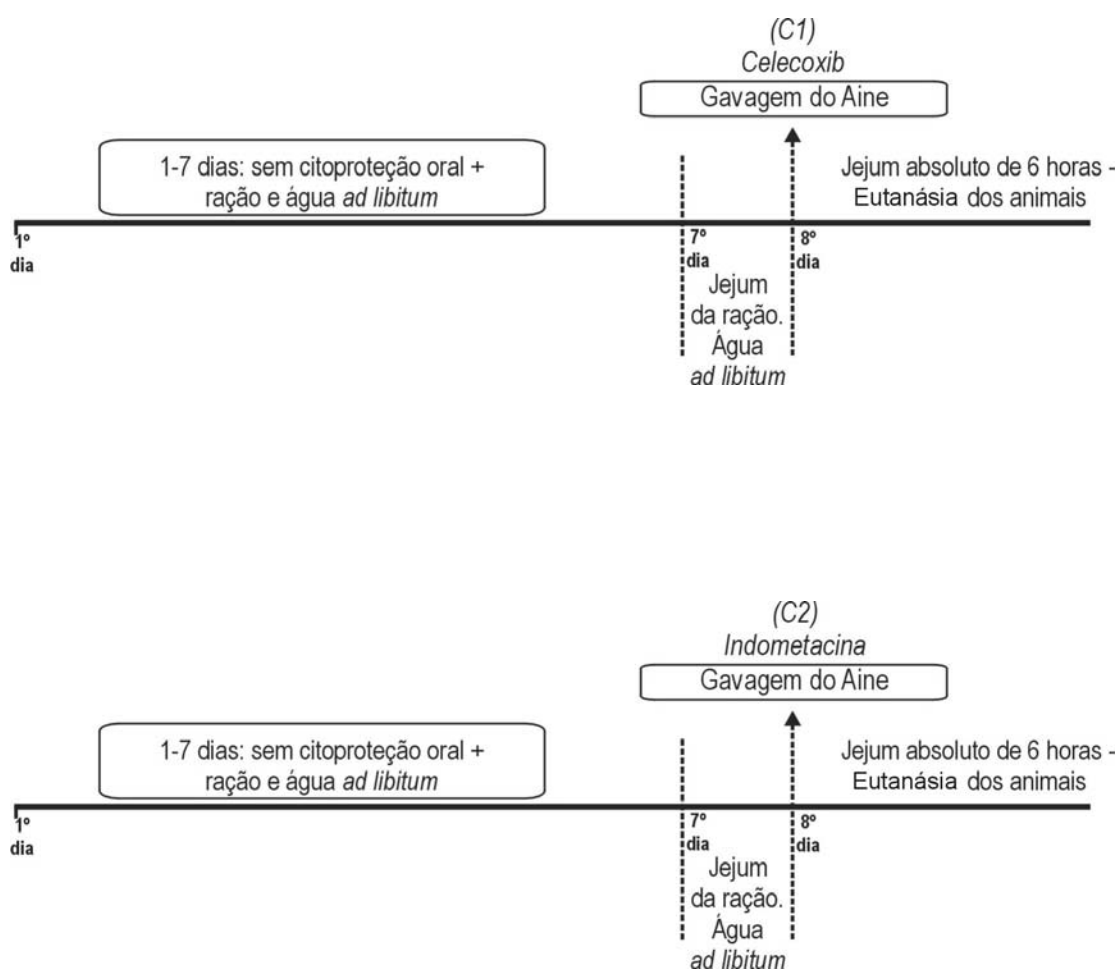


Grupo C: sem citoproteção

Grupo C1: celecoxib – 20 ratos

Grupo C2: indometacina – 20 ratos

Quarenta ratos não foram pré-tratados com droga citoprotetora, ficando em jejum da ração por 24 horas antes da administração dos antiinflamatórios; 20 deles receberam celecoxib e 20 receberam indometacina, ficando mais seis horas em jejum após a administração dos AINEs e sendo sacrificados no dia seguinte.



Grupo D: Controle

Dez animais foram acondicionados e observados no biotério durante 9 dias, e apenas alimentados com a ração habitual e água *ad libitum*. Entre o 8º e o 9º dias, os animais ficaram em jejum da ração por 24 horas. Após este período foram sacrificados e tiveram seus estômagos removidos conforme técnica anteriormente descrita.

3.10- DILUIÇÃO DAS DROGAS

Todas as drogas foram maceradas em água filtrada em Becker com bastão de vidro.

- Indometacina: 12,5mg/rato diluída em água filtrada (01 cápsula 25mg em 2ml).
- Celecoxib: 1 cápsula de 200mg, diluída em 200ml de água filtrada (1ml/rato = 1mg).
- Omeprazol: 1 comprimido/rato (20mg/rato), diluído em 1ml em água filtrada.
- Misoprostol: 1 comprimido (200 µg) em 10 ml de água filtrada (1ml/rato).

3.11- ADMINISTRAÇÃO DAS DROGAS

- Indometacina: foram administrados 12,5 mg/rato (1ml), através de gavagem.
- Celecoxib: foi administrado 1ml (1mg/rato) através de gavagem.
- Omeprazol: foi administrado 2ml (20mg/rato) através de gavagem.
- Misoprostol: foi administrado 1ml (20µg) através de gavagem.

3.12- ALIMENTAÇÃO

Todos os animais foram alimentados com ração para roedores usada no biotério do CEMIB (Apêndice 2), *ad libitum*, trocada uma vez por semana.

3.13- OBSERVAÇÃO DOS ANIMAIS

Os animais foram observados diariamente, para verificação de possíveis alterações comportamentais e/ou fisiológicas.

3.14- EUTANÁSIA DOS ANIMAIS

A retirada das peças cirúrgicas dos animais foi feita por intermédio de uma laparotomia, com ampla exposição da cavidade abdominal após os mesmos terem sido anestesiados com tiopental sódico.

Os estômagos assim removidos receberam no seu interior 2ml de formalina tamponada 7,2% e após cinco minutos foram abertos pela grande curvatura, ou seja, desde o piloro até a cárdia. Após a retirada das peças cirúrgicas, os animais foram submetidos à eutanásia com sobrecarga de tiopental sódico.

3.15- ANÁLISE MACROSCÓPICA

O estômago, aberto, era colocado sobre uma placa de vidro plana, para a contagem das lesões, segundo à padronização de TAKAGI et al., 1969.

Para a contagem das lesões foi confeccionada uma placa de vidro quadriculada de 10x10 cm, conforme mostra a figura abaixo:

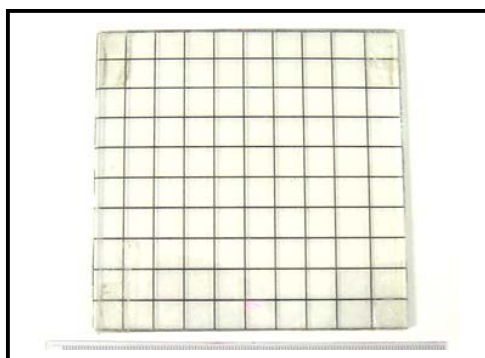


Figura 1: Placa de vidro plana de 10x10 cm, quadriculada (1cm x 1cm)

Em seguida, a contagem das lesões foi realizada sobrepondo-se a placa de vidro quadriculada em cima da placa de vidro plana, conforme a figura abaixo:

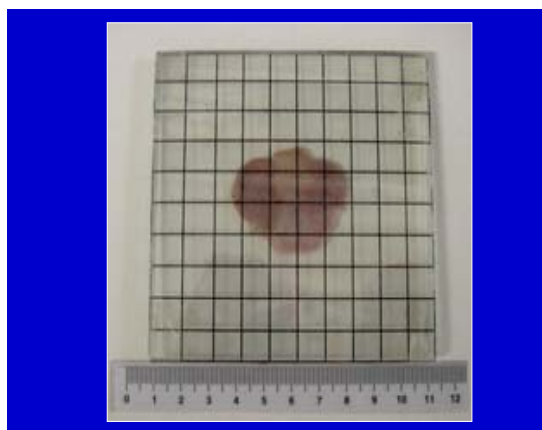


Figura 2- Estômago aberto, com placa de vidro plana quadriculada sobreposta, expondo a mucosa, demonstrando a metodologia de contagem das lesões por cm²

Em seguida, os fragmentos foram seccionados, em cortes longitudinais, sendo pelo menos metade do estômago de cada animal incluída aleatoriamente nas grades histopatológicas para acondicionamento. A seguir, as grades histológicas, contendo os fragmentos, eram imersas inicialmente em formalina tamponada 7,2% por 24 horas e, após, em álcool 70% por 72 horas. Posteriormente, eram realizados os cortes histológicos.

3.16- ANÁLISE MICROSCÓPICA

As peças foram seccionadas com navalha de secção Leika 858, e acondicionadas em grades histológicas.

A preparação dos cortes a serem enviados para histologia seguiu padronização da escola japonesa (GUIDELINES FOR THE CLINICAL AND PATHOLOGIC STUDIES ON CARCINOMA OF THE ESOPHAGUS BY JAPANESE SOCIETY FOR ESOPHAGEAL DISEASES, 1976), realizando-se corte longitudinal.

Dessa forma, foram obtidos fragmentos, que eram colocados em grades histológicas e identificados. O material, assim acondicionado, era submetido a processador automático histotécnico que permitia a desidratação, diafanização e impregnação com parafina (tipo “paraplastic”). Após a inclusão em blocos de parafina, cada fragmento era cortado, com espessura de 5µ, desparafinizados em estufa e xilol, desidratados em álcool e corados pela hematoxilina - eosina (HE).

Ao final, após coloração padrão com HE, as lâminas eram examinadas em microscópio ótico convencional, com uso de régua intra-ocular após calibração.

Na análise microscópica, foram avaliadas:

- a) Porcentagem da mucosa de cada animal com lesão, calculada conforme fórmula abaixo e os resultados mostrados como **porcentagem da mucosa com lesão**.

$$\text{Porcentagem da mucosa com lesão} = \frac{\sum \text{extensão horizontal das lesões}}{\sum \text{extensão total dos fragmentos}}$$

- b) A extensão, a profundidade e o edema de cada lesão, sendo:

- b.1) Extensão horizontal em mm de cada lesão e os resultados mostrados como **média da extensão/lesão**.

- b.2) Profundidade das lesões, sendo para cada lesão calculada a profundidade relativa de cada lesão, segundo à fórmula abaixo:

$$\text{Profundidade relativa} = \frac{\text{Profundidade da lesão erosiva ou ulcerativa}}{\text{Profundidade da mucosa}}$$

Os resultados são mostrados como **média da profundidade das lesões**, em porcentagem.

b.3) Edema das lesões, sendo para cada lesão calculado o índice de edema, conforme fórmula abaixo:

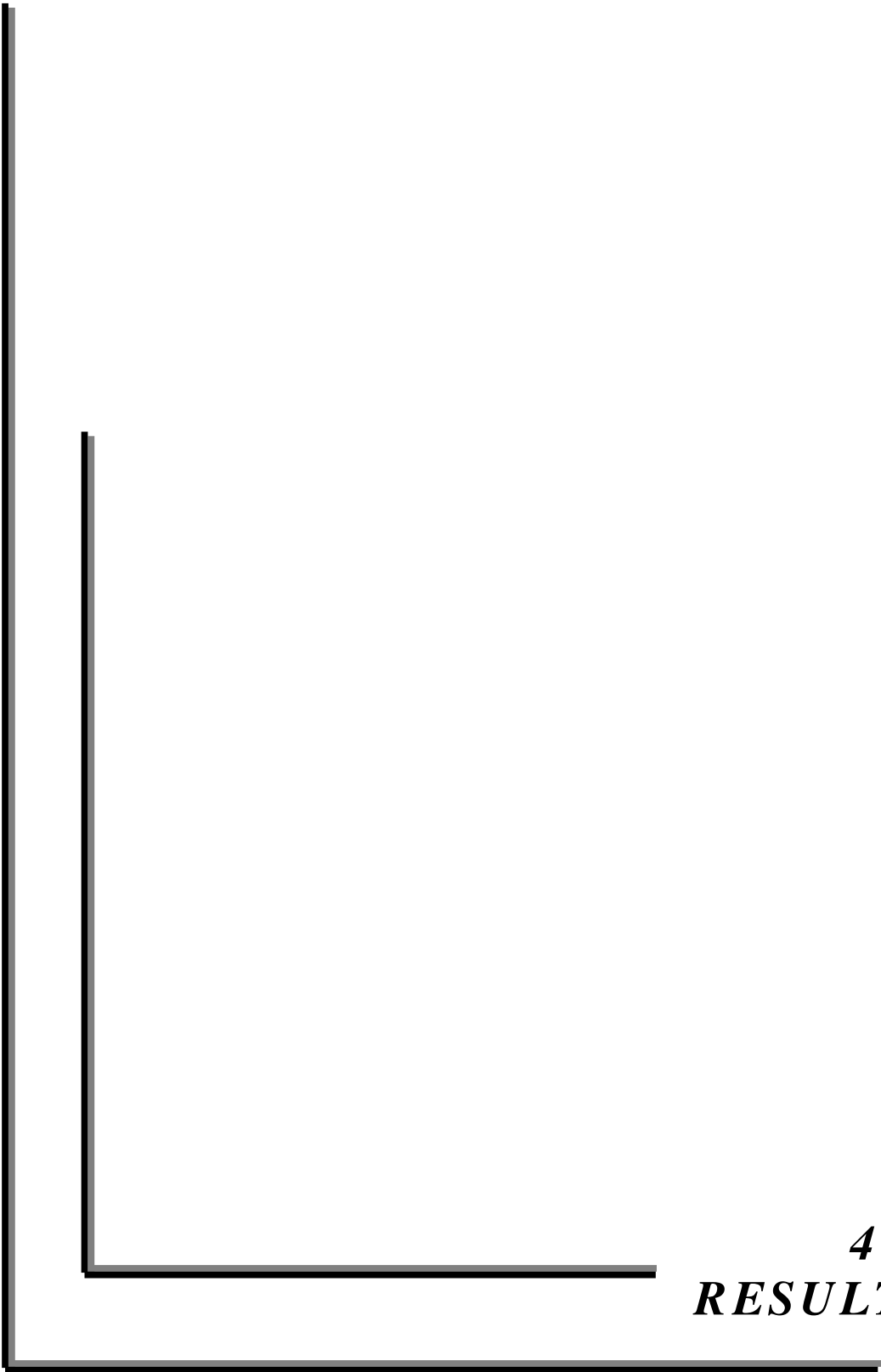
$$\text{Índice de edema} = \frac{\text{Espessura da submucosa}}{\text{Espessura da camada muscular}}$$

Os resultados são mostrados como quociente da **média do edema**.

3.17- CORRELAÇÕES DOS ACHADOS HISTOPATOLÓGICOS E RESPECTIVAS ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Na análise estatística desses grupos será utilizado o teste de Kruskal Wallis, teste não-paramétrico, no qual não se leva em conta média e desvio-padrão, sendo utilizado em função da assimetria na distribuição dos dados. Os resultados serão mostrados em gráficos, na forma de diagramas de “Box and Whiskers”, mostrando os percentis 5 , 25, 50, 75 e 95 de cada grupo estudado.

Além disso, ao final, foram feitas todas as correlações possíveis entre os cinco itens analisados, utilizando-se o teste estatístico Correlação de Spearman, para os grupos A2, B2 e C2, para a comparação dos resultados entre os grupos (CONOVER, 1971).



4- RESULTADOS

4.1- ANÁLISE MACROSCÓPICA

- **GRUPO A:** Grupo de animais que receberam como pré-tratamento (citoproteção): omeprazol e posteriormente receberam os AINEs celecoxib e indometacina

Grupo A1: Grupo de animais que receberam celecoxib, após pré-tratamento com omeprazol. Foram encontradas 4 lesões por cm², sendo, portanto, a média de 0,2 lesões por cm²/animal (Gráfico 1).

A figura 3 abaixo corresponde ao resultado de um dos animais do grupo:

Figura 3- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo A1

Grupo A2: Grupo de animais que receberam indometacina, após pré-tratamento com omeprazol. Foram encontradas 371 lesões por cm², referentes à , média de 18,55 lesões por cm²/animal (Gráfico 1).

A figura 4 abaixo corresponde ao resultado de um dos animais do grupo:

Figura 4- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo A2

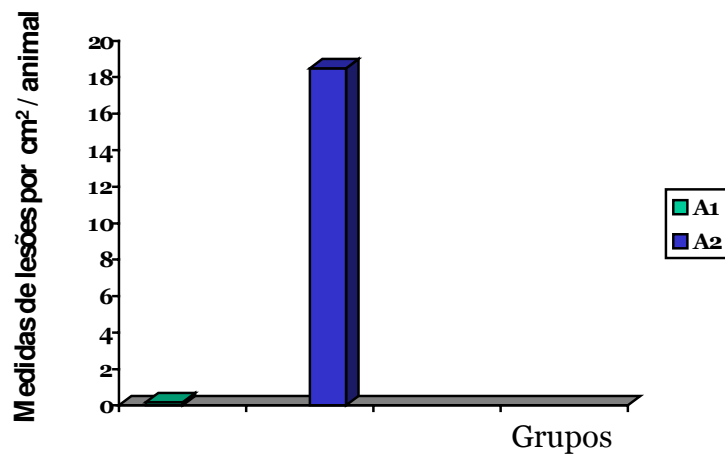


Gráfico 1- Média de lesões por cm²/animal no grupo de animais que receberam respectivamente celecoxib (A1) e indometacina (A2), após pré-tratamento com omeprazol

Assim, o número de lesões por cm²/animal no grupo A2 foi significativamente superior ao do grupo A1.

- **GRUPO B: Grupo de animais que receberam como pré-tratamento (citoproteção): misoprostol e posteriormente receberam os AINEs celecoxib e indometacina**

Grupo B1: Grupo de animais que receberam celecoxib, após pré-tratamento com misoprostol. Foram encontradas 9 lesões por cm², totalizando, portanto, a média de 0,45 lesões por cm²/animal (Gráfico 2).

A figura 5 abaixo mostra o resultado de um dos animais do grupo:

Figura 5- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo B1

Grupo B2: Grupo de animais que receberam indometacina, após pré-tratamento com misoprostol. Foram encontradas 325 lesões/ cm², sendo, portanto, a média de 16,25 lesões por cm²/animal (Gráfico 2).

A figura 6 abaixo é referente ao resultado de um dos animais do grupo:

Figura 6- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo B2

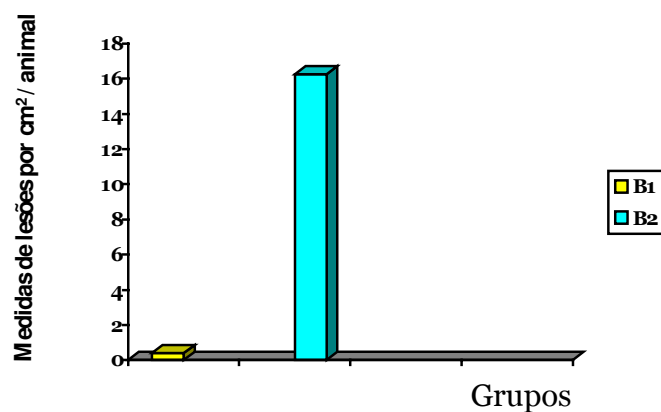


Gráfico 2- Média de lesões por cm²/animal no grupo de animais que receberam respectivamente celecoxib (B1) e indometacina (B2), após pré-tratamento com misoprostol.

Desta forma, observa-se que o número de lesões por cm²/animal no grupo B2 foi significativamente superior ao do grupo B1.

- **GRUPO C: sem citoproteção**

Grupo C1: Grupo de animais que receberam celecoxib. Foram encontradas 3 lesões por cm², o que significa uma média de 0,15 lesões por cm²/animal (Gráfico 3).

A figura 7 abaixo corresponde ao resultado de um dos animais do grupo:

Figura 7- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo C1

Grupo C2: Grupo de animais que receberam indometacina. Foram encontradas 271 lesões por cm², que correspondem à média de 13,55 lesões por cm²/animal (Gráfico 3).

A figura 8 abaixo ilustra o resultado de um dos animais do grupo:

Figura 8- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo C2

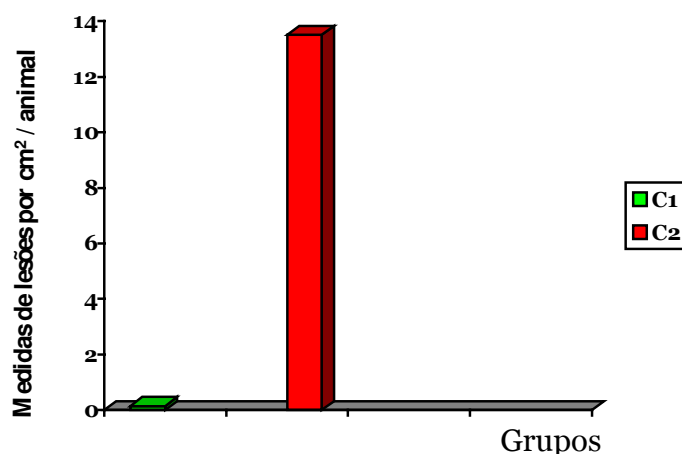


Gráfico 3- Média de lesões por cm²/animal no grupo de animais que receberam respectivamente celecoxib (C1) e indometacina (C2)

Os dados acima mostram que o número de lesões por cm²/animal no grupo C2 foi significativamente superior ao do grupo C1.

- **GRUPO D: controle**

Animais que receberam apenas água e ração habitual durante o experimento (Figura 9).

Figura 9- Achados macroscópicos de um dos animais do grupo D

4.2- ANÁLISE MICROSCÓPICA

a) Porcentagem da mucosa com lesão

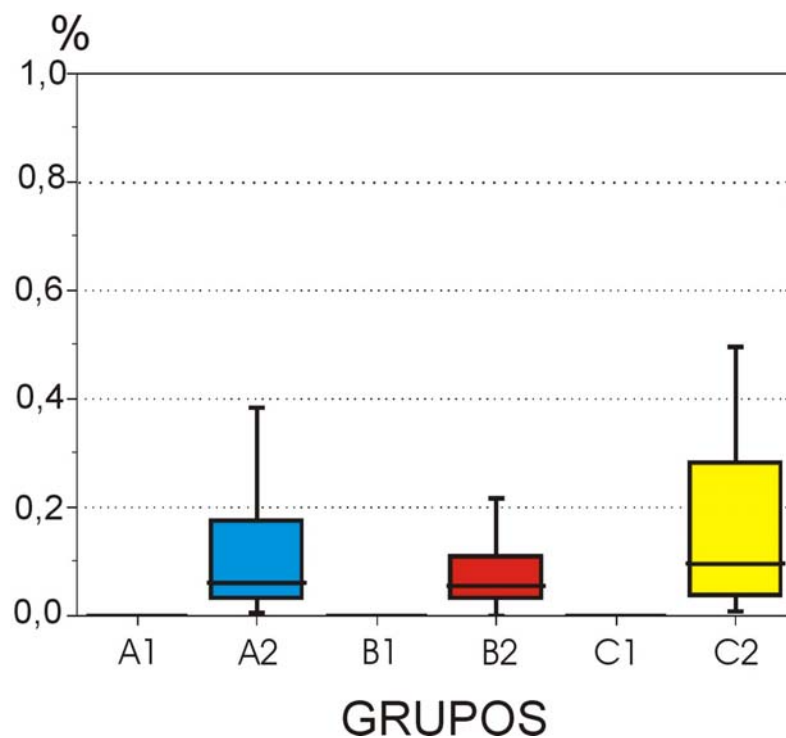


Gráfico 4- Diagrama “Box and Whiskers” do estudo microscópico da **porcentagem da mucosa com lesão**, mostrando os *percentis* 5, 25, 50, 75 e 95 de cada grupo estudado

A análise estatística pelo teste de Kruskal Wallis mostrou diferença significativa entre os grupos A1, B1, C1 e A2, B2, C2 ($p < 0,0001$). A figura 10 mostra os achados microscópicos de um dos animais do grupo C2.

Figura 10- Úlcera aguda com intensa reação inflamatória e edema (animal do grupo C2 – indometacina) – coloração pelo HE – (20 x)

b) Extensão, profundidade e edema de cada lesão

b.1) Média da extensão/lesão

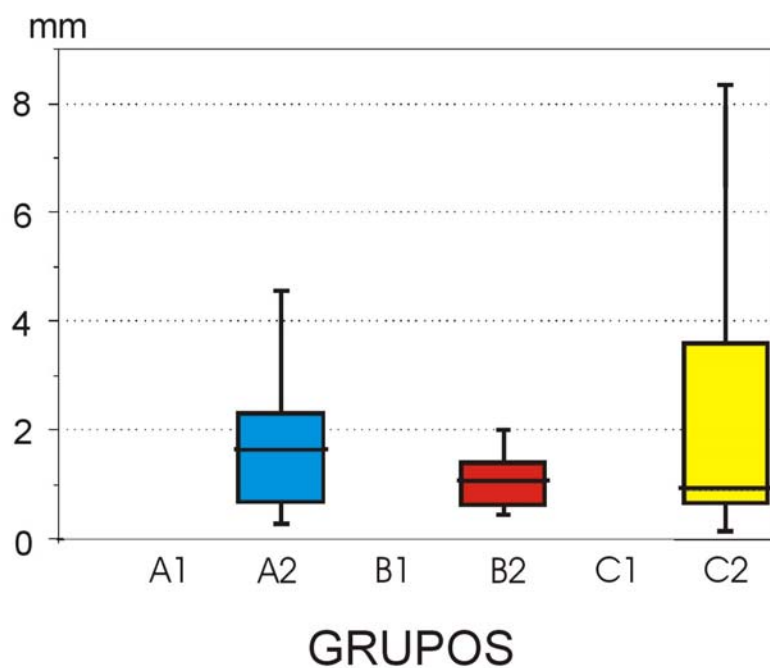


Gráfico 5- Diagrama “Box and Whiskers” do estudo microscópico da **média da extensão/lesão em mm**, mostrando os *percentis* 5, 25, 50, 75 e 95 de cada grupo estudado

A análise estatística pelo teste de Kruskal Wallis não mostrou diferença entre os grupos A2, B2 e C2 ($p = 0,62$).

b.2) Média da profundidade das lesões

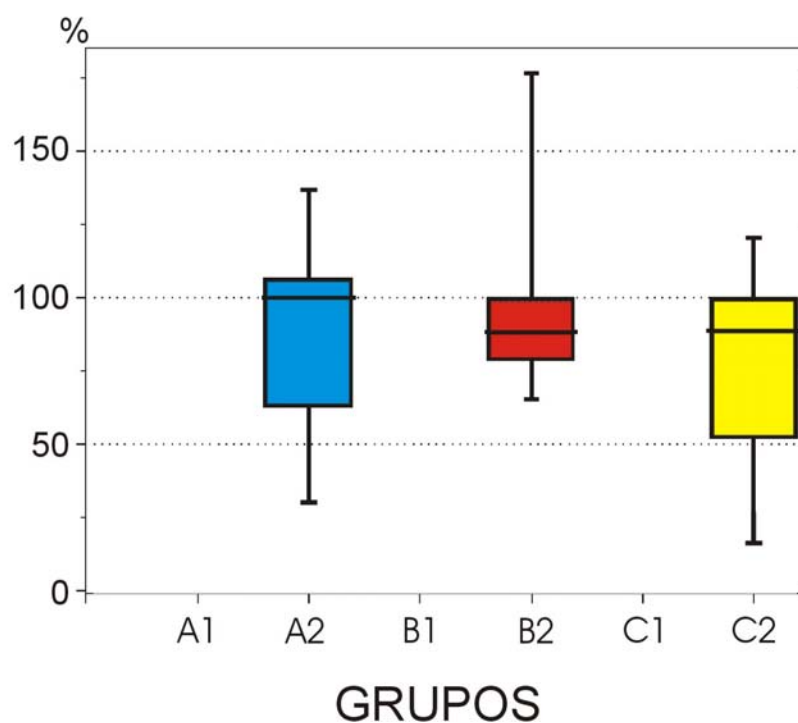


Gráfico 6- Diagrama “Box and Whiskers” do estudo microscópico da **média da profundidade das lesões em porcentagem**, mostrando os *percentis* 5, 25, 50, 75 e 95 de cada grupo estudado

A análise estatística pelo teste de Kruskal Wallis não apontou diferença entre os grupos A2, B2 e C2 ($p = 0,70$). A figura 11 mostra os achados microscópicos de um dos animais do grupo A2.

Figura 11- Úlcera aguda com intenso edema (animal do grupo A2 - omeprazol + indometacina) – coloração pelo HE – (20 x)

b.3) Média do edema

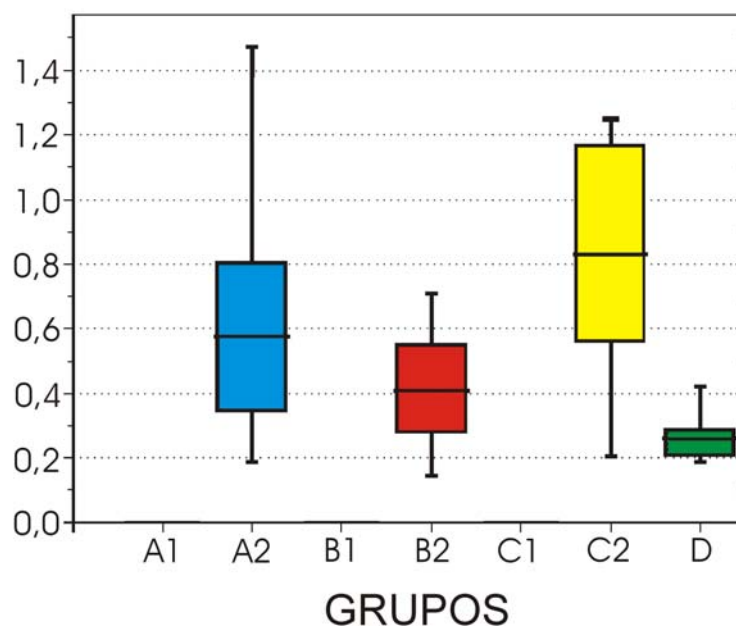


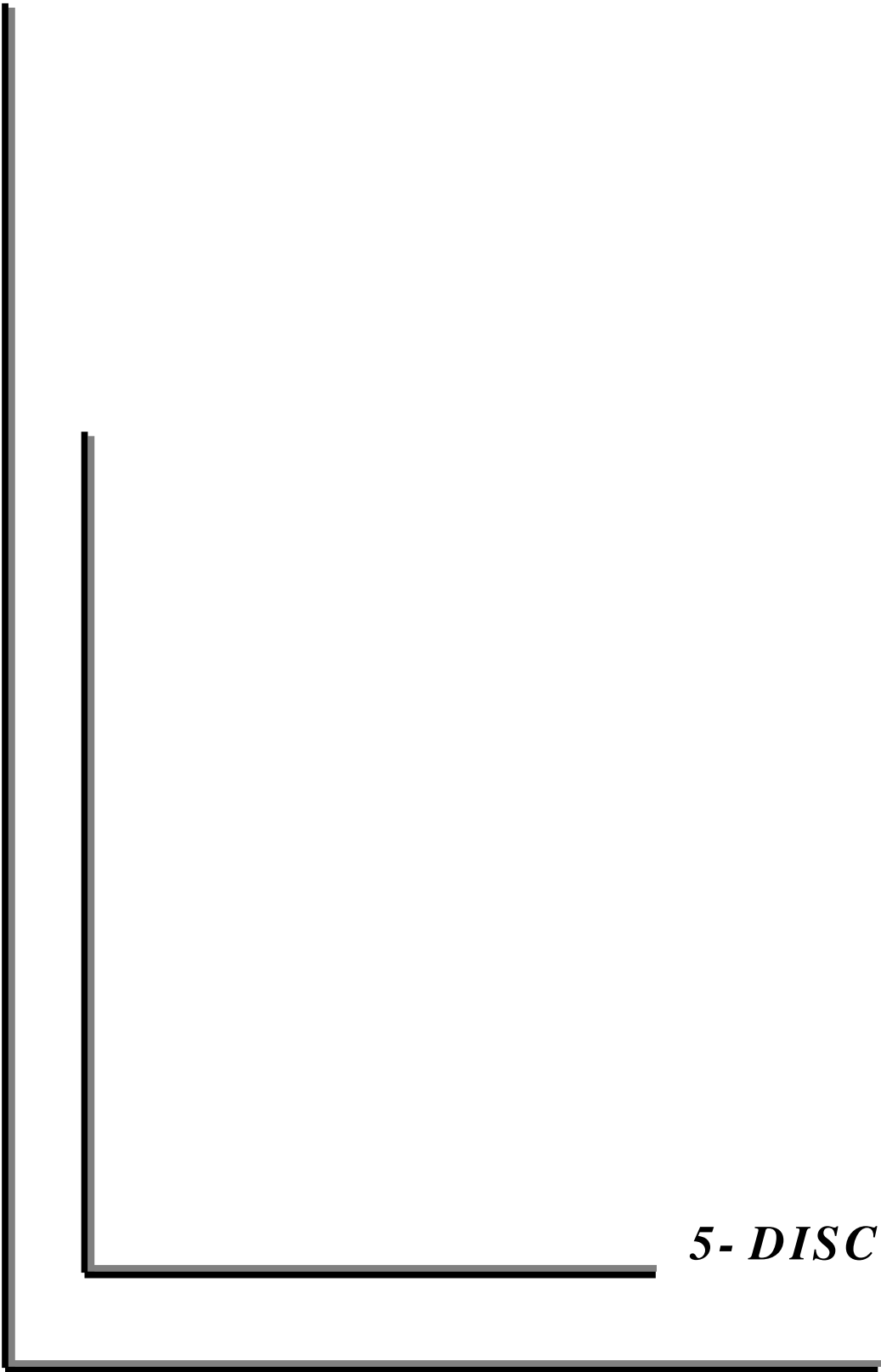
Gráfico 7- Diagrama “Box and Whiskers” do estudo microscópico do quociente da **média do edema**, mostrando os *percentis* 5, 25, 50, 75 e 95 de cada grupo estudado

A análise estatística pelo teste de Kruskal Wallis revelou diferença entre os grupos A2 e D; B2 e C2 e entre C2 e D ($p < 0,05$). As figuras 12 e 13 referem-se aos achados microscópicos de animais dos grupos C2 e B2, respectivamente.

Figura 12- Intenso edema na submucosa em margem de lesão (animal do grupo C2 – indometacina) – coloração pelo HE – (20 x)

Figura 13- Erosão focal com discreto edema na submucosa (animal do grupo B2 – misoprostol + indometacina) – coloração pelo HE – (20 x)

c) Nas correlações por meio do teste de Spearman entre todos os itens analisados, quando feita a comparação entre a porcentagem da mucosa com lesão e a média das profundidades das lesões, ocorreu diferença estatística significativa nos grupos A2 e C2 ($p < 0,05$). Entretanto, não foi verificada diferença estatística relevante no grupo B2 ($p > 0,05$). Assim, no grupo B2 (misoprostol + indometacina) foi verificada a menor média de edema entre os demais grupos A2 (omeprazol + indometacina) e C2 (indometacina).



5- DISCUSSÃO

5.1- A PESQUISA EXPERIMENTAL E OS ANIMAIS

A pesquisa experimental em animais de laboratório tem sido a base do conhecimento e da evolução da ciência biológica, da fisiologia, da farmacologia e do entendimento da fisiopatologia que dirigem os ensaios terapêuticos. Os resultados desses ensaios devem ser avaliados criteriosamente e poderão até ser aplicados em seres humanos.

O cão, o rato e o camundongo são os animais de laboratório utilizados na maioria das pesquisas experimentais, principalmente no Brasil. A utilização de cão requer espaços maiores, tanto de laboratório como de canil para observação prolongada dos mesmos. Por outro lado, o rato e o camundongo por serem de pequeno porte, podem ser utilizados em maior número, ocupando pouco espaço no biotério, diminuindo sobremaneira os custos de manutenção (BRALOW, 1972).

Nesta pesquisa optou-se pela utilização de ratos machos e adultos jovens da linhagem “Wistar”, obtidos com relativa facilidade na maioria dos biotérios, de fácil manuseio e muito resistentes. Ao final, concluiu-se que o número de 20 animais incluídos em cada grupo estudado foi plenamente suficiente para a obtenção das conclusões. Acredita-se que pela uniformidade dos resultados poder-se-ia inclusive utilizar menor número de animais.

Quanto à dosagem das drogas utilizadas, foram obtidas a partir de produtos comerciais existentes habitualmente na maioria das farmácias, sendo as concentrações as mesmas empregadas para um adulto de 60 kg, certamente corrigidas para o peso dos animais, tentando-se mimetizar exatamente os mesmos efeitos e conseqüências que poderiam ocorrer na raça humana.

Outro aspecto importante a ser lembrado é que as interpretações dos resultados dos testes efetuados com drogas em animais de laboratório dependem do tempo de tratamento e das quantidades e concentrações ministradas. Assim, estes valores por vezes devem ser minuciosamente avaliados para cada animal ou grupo de animais ao longo do estudo, levando-se em conta a sua linhagem, o seu peso e idade biológica, e como alguns estudos requerem utilização de várias drogas,

normalmente não são simples nem fáceis estes controles. Naturalmente, nas comparações dos resultados entre as várias pesquisas similares para obtenção de conclusões, estes fatores devem ser considerados.

As conclusões de pesquisas obtidas em animais de laboratório não podem ser totalmente transpostas para a raça humana, mas certamente trazem contribuições importantes e oferecem uma ótima idéia do que possivelmente ocorreria no homem. E são graças a estas pesquisas que nas últimas décadas a longevidade da população em geral tem aumentado, bem como a sua qualidade de vida.

5.2- A LITERATURA ATUAL SOBRE OS AINES: INDOMETACINA E CELECOXIB

- **Indometacina**

A indometacina foi o primeiro resultado de uma pesquisa laboratorial para desenvolver medicamentos com propriedades antiinflamatórias. Ela foi introduzida no mercado em 1963 para o tratamento de artrite reumatóide e doenças semelhantes. Embora a indometacina tenha sido muito eficaz e muito utilizada no passado, é ainda indicada em casos especiais e seus efeitos colaterais exacerbados limitam sua prescrição.

Quanto às suas propriedades farmacológicas e farmacocinéticas, é um inibidor potente da ciclooxigenase que produz prostaglandinas e também inibe a motilidade dos leucócitos polimorfonucleares. Tanto a indometacina, como muitos outros AINEs, desacopla a fosforilação oxidativa em concentrações supratrapêuticas e deprime a biossíntese dos mucopolissacarídeos, tornando , as suas propriedades analgésico-antipiréticas e antiinflamatórias marcantes.

Os efeitos antiinflamatórios são facilmente observados nos pacientes com artrite reumatóide e outros tipos de artrite, inclusive a gota aguda. As suas

propriedades analgésicas são independentes dos seus efeitos antiinflamatórios e existem evidências que tenha ações central e periférica (INSEL, 1996).

A indometacina é absorvida rápida e completamente pelo trato gastrointestinal depois da administração oral. A concentração plasmática máxima é atingida dentro de duas horas no indivíduo em jejum, porém pode ser um pouco retardada quando o medicamento for ingerido depois das refeições.

As concentrações plasmáticas necessárias para obter efeito antiinflamatório ainda não foram determinadas com precisão. Já é conhecido que ela se liga às proteínas plasmáticas numa porcentagem de 90% e também se liga amplamente aos tecidos. A sua concentração no líquido cefalorraquidiano é pequena, porém seu nível no líquido sinovial é igual ao do plasma, dentro de cinco horas depois da administração. É convertida principalmente em metabólitos inativos, alguns destes detectáveis no plasma, e os compostos metabólicos livres e os conjugados são eliminados pela urina, bile e fezes. Há circulação entero-hepática dos conjugados e provavelmente da própria indometacina. Cerca de 10% a 20% são excretados de forma inalterada na urina, em parte pela secreção tubular. A meia-vida plasmática é variável, talvez devido à circulação entero-hepática, porém em média dura três horas (INSEL, 1996).

5.2.1- Usos terapêuticos

Em virtude da incidência elevada e também da gravidade dos efeitos colaterais associados à administração prolongada, a indometacina não é usada comumente como analgésico ou antipirético.

As experiências clínicas com o seu uso como agente antiinflamatório foram revistas por Rhymer e Gengos (IVEY, 1988).

A maioria das experiências terapêuticas demonstrou que ela alivia a dor, reduz a inflamação e o edema das articulações, aumenta a força da preensão palmar e reduz a duração da rigidez matutina. As estimativas da sua potência em

comparação com os salicilatos são de 10 a 40 vezes maior. Geralmente, cerca de dois terços dos pacientes referem melhora dos sintomas com a indometacina, principalmente quando o tratamento é iniciado com 25 mg duas ou três vezes ao dia. Entretanto, se as doses de 75 a 100 mg não conseguem produzir melhora dentro de duas a quatro semanas, é preciso considerar um tratamento alternativo.

A incidência e gravidade dos seus efeitos colaterais limitam muito seu uso terapêutico. Entretanto, como os efeitos colaterais parecem ser mais toleráveis quando ingerido à noite, um método útil de aproveitar a sua eficácia é a administração de uma dose grande única (até 100 mg) à hora de deitar, talvez junto com outros AINEs melhor tolerados, administrados durante o dia. Este artifício possibilita ao paciente obter um sono mais reparador, reduzindo a gravidade e duração da rigidez matutina, produzindo analgesia satisfatória até o período da manhã.

A indometacina é muito eficaz no tratamento da osteoartrose, da gota aguda, embora não tenha ação uricosúrica (INSEL, 1996).

5.2.2- Efeitos colaterais

As doses terapêuticas convencionais da indometacina desenvolvem sintomas indesejáveis em 35% a 50% dos pacientes e cerca de 20% deles precisam interromper o tratamento. A maioria dos efeitos colaterais é dependente da dose prescrita.

As queixas e complicações gastrintestinais são as mais relevantes e consistem em anorexia, náusea e dor abdominal. Têm sido descritas úlceras simples ou ulcerações múltiplas em todo o trato gastrintestinal superior, algumas vezes com perfurações e hemorragia. A perda oculta de sangue nas fezes pode produzir anemia, mesmo sem ulceração. A pancreatite aguda também tem sido descrita. Alguns pacientes apresentam diarréia que, em alguns casos, está associada às lesões ulcerativas do intestino.

O comprometimento hepático é raro, embora tenham sido relatados alguns casos fatais de hepatite e icterícia. No sistema nervoso central a cefaléia frontal grave é o efeito mais freqüente, ocorrendo em 25% a 50% dos pacientes que a utilizam por períodos prolongados. A sonolência, vertigem, tonturas e confusão mental também são referidos com freqüência. A depressão grave, psicose, alucinações e suicídio ocorreram em alguns casos.

As reações hematopoiéticas também estão presentes e incluem neutropenia, trombocitopenia e raramente anemia aplástica e alteração de função plaquetária. As reações de hipersensibilidade nos casos mais graves são evidenciadas por exantemas, prurido, urticária e crises agudas de asma. Não deve ser usado pelas gestantes, nutrízes, profissionais que operam máquinas ou pacientes com distúrbios psiquiátricos, epilepsia ou parkinsonismo e também está formalmente contra-indicada nos indivíduos com doença renal ou lesões ulcerativas do estômago ou intestinos (INSEL, 1996).

• Celecoxib

Está incluído em uma nova classe de AINEs com índices significativamente inferiores de complicações que os tradicionais, intitulados de “coxibs”. Dentre eles, o celecoxib foi o primeiro composto a ser aprovado pela “Food and Drug Administration” (FDA) para uso nos Estados Unidos, em dezembro de 1998 (WHELTON, 2001). Meses após, em maio de 1999, foi introduzido outro inibidor específico da COX-2, chamado rofecoxib (CHAN et al., 1999). Recentemente outros medicamentos do mesmo grupo surgiram no mercado, o etoricoxib e o valdecoxib. Os “coxibs”, por pouparem a COX-1, foram introduzidos como uma nova classe de antiinflamatórios não esteroidais de eficácia equivalente (CANNON e BREEDVELD, 2001) e provável menor índice de complicações que os AINEs convencionais (JAIN, 2000). Também foi atualmente introduzido no mercado o parecoxib, o primeiro inibidor específico da COX-2 para

uso parenteral e com propriedades farmacológicas semelhantes aos demais “coxibs” (LEE et al., 2000; CHEER e GOA, 2001)

Quimicamente, o celecoxib é uma pirazolona substituída pelo radical diaril, sendo as duas principais diferenças na sua molécula: o grupo sulfonamida e a estrutura geral diferente dos demais AINEs.

A sua estrutura é a base da sua atividade inibidora da COX-2 e do seu efeito mínimo sobre as concentrações terapêuticas da COX-1, sendo uma parte da molécula similar aos outros AINEs, e se encaixa no principal canal (chamado de canal hidrofóbico, ou seja, que não tem afinidade com as moléculas de água) da COX-1 e da COX-2. No entanto, diferente dos AINEs típicos, ela também tem uma cadeia lateral (a porção que contém o grupo sulfonamida) que afeta sua afinidade com a COX-1 e COX-2 (SILVERSTEIN et al., 2000).

O celecoxib é uma droga não esteroideal e antiinflamatória que também exibe ação analgésica e antipirética nos modelos animais.

Quanto às suas propriedades farmacológicas e farmaocinéticas, acredita-se que o seu mecanismo de ação se deve à inibição da síntese de prostaglandina, principalmente através da inibição da COX-2. Entretanto, as suas concentrações terapêuticas não inibem a COX-1, que produz as prostaglandinas envolvidas na manutenção da barreira da mucosa gastrintestinal, na agregação de plaquetas e na função renal. Ou seja, é um antiinflamatório, analgésico, antipirético (AAA), pertencente ao grupo de medicamentos denominado inibidores específicos da COX-2 basicamente utilizado para o tratamento de inflamação e dor nos casos de artrites (SILVERSTEIN et al., 2000).

Quanto à absorção, os níveis plasmáticos máximos de celecoxib ocorrem aproximadamente três horas após a administração oral e apresenta uma farmacocinética linear na dose terapêutica recomendada. Isto significa que as concentrações plasmáticas são previsíveis, diminuindo e aumentando em proporção às diminuições e aos aumentos da dose. Nas doses mais altas, em condições de jejum, há um aumento inferior ao proporcional nas concentrações

plasmáticas máximas($C_{m\acute{a}x}$) e na absorção total. Nas dosagens múltiplas, as condições de equilíbrio ocorrem antes ou depois do quinto dia de administração. A alta ingestão de gorduras atrasa a absorção em aproximadamente uma a duas horas e aumenta a área sob a curva (absorção total) em 10% a 20%.

O celecoxib pode ser administrado independente da hora das refeições. A administração com antiácidos reduz a absorção total em cerca de 10% e a concentração plasmática em 37%. No entanto, liga-se em aproximadamente 97% às proteínas plasmáticas e esta ligação independe da concentração dentro da variação terapêutica, sendo distribuído extensivamente para os tecidos. Este perfil de distribuição significa que ele atinge os vários locais onde a artrite ocorre.

O metabolismo do celecoxib é mediado principalmente pelo sistema enzimático do citocromo P-450 do fígado, e nenhum de seus metabólitos inibem a COX-1 ou a COX-2.

Um ponto importante a ser salientado quanto ao seu metabolismo é que, apesar de ser metabolizado pelo sistema enzimático do citocromo P-450, apresenta efeitos limitados sobre as enzimas deste sistema e, portanto, apresenta baixo risco de interações significativas com outras drogas, já que muitos pacientes que sofrem de artrite já fazem uso de vários outros medicamentos para condições simultâneas.

A sua eliminação é principalmente na forma de metabólitos inativos, nas fezes (57%) e na urina (27%) e a meia-vida de eliminação plasmática é de aproximadamente 11 horas.

Nenhum ajuste de dosagem é necessário nos pacientes com insuficiência renal leve a moderada, ou pacientes com comprometimento hepático leve. Os ajustes de dosagens nos idosos geralmente não são necessários, e nos pacientes com peso inferior a 50 Kg deve-se utilizar as menores dosagens recomendadas (SILVERSTEIN et al., 2000).

5.2.3- Usos terapêuticos

Está indicado no alívio dos sinais e sintomas da osteoartrite e da artrite reumatóide nos adultos. Por intermédio de ensaios clínicos, controlados por placebo, os pacientes com osteoartrite que receberam a terapêutica com celecoxib tiveram significativa redução da dor nas articulações, comparados com os que receberam placebo. Assim como para os pacientes com artrite reumatóide, além da significativa redução da dor, apresentaram significativa redução da sensibilidade e edema nas articulações, comparados com o placebo (SILVERSTEIN et al., 2000).

5.2.4- Efeitos colaterais

Nos estudos controlados com placebo, a taxa de descontinuação por eventos adversos com celecoxib foi de 7,1% e de 6,1% com o placebo. Os efeitos colaterais mais comuns foram: dispepsia (mal-estar estomacal), diarreia e dor abdominal. Os menos freqüentes: dor de cabeça, artralgia (dor nas juntas), mialgia (dor nos músculos), insônia, prurido, prisão de ventre e náuseas.

Quanto às contra-indicações, não deve ser administrado a pacientes que apresentaram asma, urticária ou reações alérgicas após tomarem ácido acetilsalicílico ou outros AINEs, pois foram relatadas reações anafiláticas severas. Em caso de doença renal avançada, o tratamento com celecoxib não é recomendado, no entanto, em caso de risco-benefício, se a terapia tiver que ser iniciada, é aconselhável que haja uma cuidadosa monitoração da função renal do paciente. Quanto ao seu uso na gravidez, não existem informações em mulheres grávidas, por conseguinte, só deverá ser utilizado durante a gravidez se os benefícios potenciais prevalecerem sobre o risco ao feto. Estudos em ratas mostram que celecoxib é excretado no leite em concentrações semelhantes àsquelas no plasma. Não é recomendada a sua utilização durante a lactação, por não ter sido realizado nenhum estudo em seres humanos (SILVERSTEIN et al., 2000).

5.3- A LITERATURA ATUAL SOBRE OS CITOPROTETORES: OMEPRAZOL E MISOPROSTOL

• Omeprazol

A “bomba de prótons” (H^+,K^+ -ATPase) é o mediador final da secreção de ácidos da membrana apical da célula parietal, e portanto, como é específica das células parietais, vários inibidores específicos foram desenvolvidos para ela. Uma família de benzimidazóis substituídos foi inicialmente descoberta e um destes compostos é o omeprazol, que foi liberado pela “Food and Drug Administration” (FDA) para uso clínico nos Estados Unidos (LINDBERG, 1990; McTAVISH et al., 1991; BARRADELL et al., 1992).

Estes agentes inibem a secreção de ácido a qualquer nível desejado e são considerados citoprotetores. São muito utilizados em pacientes com úlcera péptica não controlada pelos antagonistas H_2 . Em pH neutro, o omeprazol é quimicamente estável, lipossolúvel, base fraca, sem atividade inibidora. São estas bases fracas neutras que atingem as células parietais do sangue e se difundem para os canaliculos secretores, onde se tornam protonadas e, desta forma, são retidas. O agente protonado se rearranja para formar um ácido sulfênico e uma sulfenamida. A sulfenamida interage de forma covalente com os grupamentos sulfidríla em pontos críticos no domínio extracelular (luz) da H^+, K^+ -ATPase, da superfície da membrana.

Assim, o omeprazol deve ser considerado pró-droga que precisa ser ativada para ser eficaz. A sua administração resulta na inibição permanente da atividade *in vivo* da enzima e a secreção de ácido retorna apenas após a inserção de novas moléculas de H^+, K^+ -ATPase na membrana luminal (LINDBERG, 1990; McTAVISH et al., 1991).

Os efeitos farmacológicos e farmacocinéticos do omeprazol resultam da redução da secreção gástrica através de mecanismo de ação altamente seletivo, produzindo inibição específica da enzima H^+,K^+ -ATPase (bomba de prótons) nas células parietais, não possuindo ação sobre receptores da acetilcolina e histamina.

Portanto, produz apenas alterações pequenas no volume de suco gástrico, na secreção de pepsina e fator intrínseco e não afetam a motilidade gástrica. Como é um inibidor irreversível de H^+,K^+ -ATPase, provoca uma inibição dose-relacionada da secreção gástrica do ácido, que persiste após o seu desaparecimento no plasma (McTAVISH et al., 1991).

É muito importante saber que, embora seja estável em pH neutro, ele é destruído pelo ácido intragástrico. Como consequência, se microgrânulos forem rompidos, por exemplo, e se o paciente mastigar ou esmagar o comprimido revestido, o pH neutro da boca e do esôfago destruirão esses microgrânulos e a substância será degradada pelo ácido do estômago.

Assim, uma das recomendações ao paciente é que os comprimidos não devem ser esmagados nem mastigados e, nos casos em que apresentam dificuldades de deglutição, pode ser disperso em meio copo de água sem gás ou de suco de fruta, mexendo-se até se desintegrar. Nestes casos, a dispersão deve ser ingerida, ou administrada através de sonda nasogástrica, em até 30 minutos.

A sua absorção ocorre no intestino delgado e é geralmente completada entre 3-6 horas. A ingestão concomitante de alimentos não influi na sua biodisponibilidade.

A taxa de ligação protéica é de aproximadamente 95%. É completamente metabolizado, principalmente no fígado, no sistema citocromo P450, sendo seus metabólitos desprovidos de ação significativa na secreção ácida. Aproximadamente 80% da dose administrada é excretada como metabólitos na urina e o restante é encontrado nas fezes.

Quando em dose terapeuticamente adequada, como por exemplo: 20 mg/dia, por 7 dias, o omeprazol consegue reduzir a produção diária de ácido em mais de 95%.

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

5.3.1- Efeitos colaterais

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

5.3.2- Usos terapêuticos

O omeprazol promove a cicatrização de úlceras pépticas de esôfago, estômago e duodeno. A sua importância particular refere-se ao tratamento de pacientes que não respondem adequadamente a antagonistas de receptor H₂. É especialmente indicado na síndrome de *Zollinger-Ellison* e, para tanto, exige-se a administração de pelo menos 60 a 70 mg/dia.

Além das úlceras pépticas, o omeprazol é também utilizado no tratamento de esofagite de refluxo, com excelentes resultados (BRUNTON, 1996).

- **Misoprostol**

A capacidade de vários análogos das prostaglandinas de controlar e prevenir a ocorrência da ulceração gástrica, conhecida como citoproteção, é uma propriedade terapêutica muito importante. Os análogos da PGE₁ (misoprostol) e da PGE₂, têm sido estudados clinicamente, uma vez que são predominantemente

sintetizadas pela mucosa gástrica, inibindo a secreção de ácido e estimulando a secreção de muco e bicarbonato.

Assim, a administração de prostaglandinas protege a mucosa gástrica de animais contra várias agressões ulcerogênicas. As propriedades ulcerogênicas de antiinflamatórios não esteroidais, que inibem a síntese de prostaglandinas, interferem no funcionamento gástrico normal e, portanto, vários análogos de prostaglandinas lentamente metabolizados foram desenvolvidos e testados em seres humanos (BRUNTON, 1996).

5.3.3- Efeitos terapêuticos

O misoprostol foi muito utilizado para administração oral na profilaxia das úlceras gástricas nos pacientes sob risco de desenvolver tais lesões, durante o tratamento prolongado com AINEs. Quando é administrado em doses que suprimem a secreção ácida do estômago, parece cicatrizar as úlceras gástricas com eficácia comparável a dos antagonistas H_2 , no entanto, no alívio da dor ulcerogênica e na cicatrização das úlceras duodenais não têm sido obtidos bons resultados. Ele também pode ser benéfico na profilaxia da rejeição do transplante renal e na insuficiência renal causada pelos AINEs (MORAN, 1990).

Em outras circunstâncias, o misoprostol pode também ser utilizado, como: no armazenamento e transfusão de plaquetas (a PGE_1 e a PGI_2 são valiosas para facilitar a coleta e o armazenamento das plaquetas sanguíneas para transfusão terapêutica, além de substituir a heparina durante a diálise renal, em pacientes que apresentam contra-indicação ao uso da heparina); na impotência (produzindo ereção parcial ou completa nos pacientes impotentes que não apresentam distúrbios do sistema vascular ou lesão dos corpos cavernosos); aumento do fluxo sanguíneo pulmonar (estas prostaglandinas são usadas para aumentar o fluxo sanguíneo pulmonar e a oxigenação do sangue nos lactentes com cardiopatias congênitas que limitam o fluxo sanguíneo pulmonar ou sistêmico); em abortos retidos (seu efeito colateral principal é a indução da contração uterina,

apresentando grande potencial abortivo) (BRUNTON, 1996; CAMPBELL e HALUSHKA, 1996).

O misoprostol é rapidamente absorvido com concentrações sanguíneas máximas detectadas em 30 minutos. É convertido em ácido misoprostol ativo com meia-vida de 30 a 60 minutos.

A ligação às proteínas plasmáticas é inferior a 90% e tem concentração independente da faixa terapêutica. Estudos comprovaram que 73% dos metabólitos inativos são excretados na urina e 15% são excretados nas fezes, após oito horas da administração oral.

A dose oral recomendada de misoprostol para adulto, para promover a cicatrização de úlceras, é 200 µg, quatro vezes ao dia. A segurança e eficácia em pacientes abaixo de 18 anos ainda não foram estabelecidas (MONK e CLISSOLD, 1987; WALT, 1992).

5.3.4- Efeitos colaterais

Doses orais eficazes de misoprostol causam diarreia em até 30% dos pacientes em doses terapêuticas, limitando muitas vezes o seu uso. Também pode ocasionar cólicas abdominais.

O misoprostol é abortífero em potencial e não deve, portanto, ser administrado a gestantes ou mulheres que podem estar grávidas, sendo este um fator importantíssimo, que pode também limitar o seu uso (COLLINS, 1990).

5.4- FUNÇÕES DA COX-1 E COX-2 E INIBIÇÃO SELETIVA DA COX-2

A isoforma constitutiva da COX, a COX-1, tem funções fisiológicas claras. Sua ativação conduz, por instantes, a produção de prostaciclina, a qual, quando liberada pela mucosa gástrica, é citoprotetora.

A isoforma induzida, COX-2, foi descoberta há poucos anos atrás e é induzida por um número de células por meio do estímulo pró-inflamatório.

A importância da descoberta da COX-2 induzida é destacada pela diferença na farmacologia entre as duas enzimas. A aspirina, indometacina e ibuprofeno são muito menos ativos juntos à COX-2, do que juntos à COX-1. De fato, os inibidores mais potentes da COX-1, assim como a aspirina, indometacina e piroxicam, são os AINEs, que causam os maiores danos ao estômago.

A linha de atividades dos AINEs junto à COX-1 quando comparados com a COX-2, explica as variações dos seus efeitos colaterais e suas doses antiinflamatórias.

Além disso, quando os resultados epidemiológicos são comparados com a COX-2, a linha de atividades da COX-1 tem uma relação paralela entre os efeitos colaterais gastrointestinais. Portanto, a seletividade da inibição da COX-2, por praticamente não apresentar os efeitos colaterais dos AINEs não seletivos, é a principal vantagem desta nova geração de AINEs.

Assim, a descoberta da COX-2 tem estimulado vários laboratórios a desenvolver inibidores seletivos desta enzima. Needleman e seu grupo (na Monsanto/ Searle) desenvolveram inibidores que são 400 vezes mais potentes juntos à COX-2 do que à COX-1. Um desses inibidores, o SC-58635 – celecoxib, é um efetivo analgésico em humanos para dores de moderadas a severas (VANE e BOTTING, 1998).

Em estudos *in vitro*, para a demonstração da inibição da COX-1 e COX-2, provenientes dos medicamentos celecoxib e indometacina, os resultados mostraram que: tanto a COX-1, quanto a COX-2, apresentaram inibição das suas atividades, de forma igualitária, quando relacionadas às doses usuais de indometacina. Por outro lado, o celecoxib apresenta seletividade para COX-2, mostrando 50% desta inibição, somente com uma baixíssima dose do medicamento (SIMON, 1999).

5.5- MODELOS EXPERIMENTAIS DE ÚLCERAS PÉPTICAS E LESÕES AGUDAS

A estrutura anatômica e função do estômago no rato “Wistar” merecem uma breve revisão porque são importantes para as descrições das alterações do mesmo.

O estômago é dividido nas seguintes regiões anatômicas:

- a) cárdia: que representa a região próxima à junção esofagogástrica;
- b) fundo: que é a região bulbosa subdiafragmática do estômago, localizado à esquerda do esôfago e em direção cefálica em relação à entrada do esôfago para o estômago;
- c) corpo: é a maior região anatômica interposta entre o fundo e o antro mais caudal. O início do antro é demarcado por uma linha vertical traçada através da incisura angular da pequena curvatura do estômago;
- d) antro: que se estende desde o corpo do estômago até o esfíncter pilórico

As glândulas gástricas (oxínticas) no corpo e no fundo do estômago são compostas em suas regiões superiores por células cervicais mucosas. As glândulas pilóricas, que são o principal local de secreção da gastrina, são encontradas na região antral. As células endócrinas estão amplamente dispersas em todas as glândulas das diversas regiões do órgão (CRAWFORD, 2000).

Várias são as alterações que podem ocorrer, podendo ser classificadas em diferentes tipos de lesões:

Gastrite: existem duas categorias gerais – aguda e crônica. Dependendo da descamação ou da destruição da mucosa gástrica, as agressões agudas foram subdivididas em: gastrite aguda, gastrite aguda hemorrágica, gastrite

aguda erosiva e erosões agudas de estresse. A gastrite crônica também foi subdividida em numerosas variantes, sendo as mais importantes a gastrite fúndica e a gastrite antral.

Quanto à morfologia, dependendo da gravidade da erosão, a resposta da mucosa do animal pode variar desde edema moderado e hiperemia leve, até erosão hemorrágica. No quadro extremo, melhor referido como gastrite aguda erosiva hemorrágica, há descamação superficial da mucosa, acompanhada por hemorragia da lâmina própria e infiltrado inflamatório leucocitário (CRAWFORD, 2000).

Erosão péptica aguda e ulceração : são defeitos focais agudos da mucosa gástrica após intenso estresse, qualquer que seja sua natureza – daí a designação empregada de úlceras de estresse. As lesões podem variar em profundidade desde a simples descamação do epitélio superficial até lesões profundas que penetram na mucosa ou através dela, mas raramente em maior profundidade. As erosões superficiais são fundamentalmente uma propagação da gastrite erosiva aguda. As lesões mais profundas compreendem as ulcerações bem definidas, mas não são precursoras de úlceras pépticas crônicas (CRAWFORD, 2000)

A diferenciação morfológica entre uma erosão aguda e a úlcera péptica aguda não é bem definida. O termo erosão é aplicado àquelas lesões confinadas aos níveis superiores da mucosa gástrica ou duodenal. Quando penetram na profundidade da mucosa ou da muscular da mucosa, elas são designadas úlceras pépticas agudas ou de estresse (CRAWFORD, 2000).

Existem inúmeros modelos experimentais para úlceras pépticas, no entanto, muitos complicados, não reproduzindo as mesmas lesões, erosões ou úlceras gástricas como as que ocorrem em humanos.

No entanto, vários deles simulam as úlceras de estresse em humanos, ou múltiplas erosões superficiais, assim como similares lesões por choque hemorrágico em ratos. Alguns desses modelos: estresse por choque térmico em ratos, alteração do ciclo claro-escuro, imersão em água gelada, etc.

É muito mais difícil reproduzir experimentalmente a úlcera gástrica crônica no antro ou na junção do antro com o fundo do estômago, do que causar uma lesão erosiva superficial no fundo gástrico. É interessante que os AINEs podem causar úlceras gástricas em humanos e poucos desses modelos em animais empregam a administração prolongada dessas drogas. É fundamental a realização de um estudo minucioso das alterações celulares por essas drogas. As úlceras gástricas podem ser produzidas em animais por remoção mecânica de um pedaço da mucosa, especialmente na junção fúndica-antral, mas a relevância deste modelo, em humanos, é tênue (SILEN, 1988).

Assim, por estes motivos acima expostos é que nesta pesquisa preferiu-se denominar simplesmente de **lesões agudas** a todas as lesões macro ou microscópicas encontradas na mucosa do antro e corpo dos animais em decorrência das drogas utilizadas.

5.6- CONSIDERAÇÕES FINAIS

A administração crônica de AINEs causa erosões na mucosa gastroduodenal em aproximadamente 35% - 60% dos pacientes, úlceras gástricas ou duodenais em 10% - 25%, e complicações severas, como hemorragias ou perfurações gastrointestinais, em menos de 1% dos pacientes (SCHMASSMANN, 1998).

Os AINEs têm um mecanismo de ação primário sobre as enzimas ciclooxigenases (COX-1 e COX-2), inibindo a produção de prostaglandinas.

A inibição da COX 2 parece mediar, pelo menos em parte, as ações antipirética, analgésica e antiinflamatória dos AINEs, porém a inibição simultânea da COX-1 provoca efeitos colaterais indesejáveis, principalmente os que levam às úlceras gástricas resultantes da produção reduzida de prostaglandinas. Variabilidades individuais nas respostas aos efeitos dos AINEs existem, no entanto, a causa exata desta variabilidade não é totalmente compreendida. Há um número

significativo de efeitos colaterais relatados aos AINEs, mas a resposta individual dos pacientes ainda é, provavelmente, muito importante (BROOKS, 1998).

Outros estudos estimam que 15% a 35% de todas as complicações de úlceras pépticas são devidas aos AINEs. Além do mais, apenas nos Estados Unidos, há uma estimativa de 41.000 hospitalizações e 3.300 mortes anuais, que são atribuídas aos antiinflamatórios não esteroidais (GRIFFIN, 1998).

A literatura específica enfatiza que estudos em humanos comprovaram que úlceras gástricas foram curadas em oito semanas com o inibidor de bomba de prótons – omeprazol (83%), quando comparados com o análogo de prostaglandina – misoprostol (74%). Além disso, efeitos colaterais como diarreia e dores abdominais foram mais comuns em pacientes medicados com o misoprostol. Considerando-se esses dados, o omeprazol é o tratamento de escolha para o tratamento de úlceras associadas aos AINEs, com base na sua eficácia, tolerância e segurança – na dose ideal de 20 mg, uma vez por dia (YEOMANS, 1998).

Outros estudos clínicos empregando o omeprazol *versus* misoprostol, para o controle da úlcera induzida por AINEs convencionais, mostraram boa resolução das lesões, bem como ser eficiente na sua prevenção. Neste caso, o omeprazol e o misoprostol pareciam estar igualmente efetivos na prevenção da úlcera gástrica. Entretanto, o omeprazol foi altamente efetivo na prevenção da úlcera duodenal, quando comparado com o misoprostol e placebo (HAWKEY, 1998).

Embora o misoprostol seja eficaz em humanos na prevenção de lesões gástricas, é pouco tolerado pelos pacientes, uma vez que a maioria deles apresenta alguns efeitos colaterais, conforme citado anteriormente (HAWKEY, 1998), além do seu efeito abortivo, que exige maior farmacovigilância e acompanhamento clínico no âmbito hospitalar.

Estudos clínicos com o objetivo de avaliação de custo-benefício, na prevenção das lesões gastroduodenais provocadas pelos AINEs, mostram comparações com o omeprazol e o misoprostol. O omeprazol é mais eficaz e com

melhor custo-benefício quando comparado ao misoprostol, no tratamento de úlceras gástricas e duodenais. No entanto, em pacientes que apresentaram apenas erosões, o misoprostol tem melhor custo-benefício quando comparado ao omeprazol (JONSSON e WAHLQVIST, 1998).

Na literatura consultada não se encontrou pesquisa experimental semelhante a que foi aqui realizada. E os resultados deste trabalho sugerem que o misoprostol apresenta citoproteção análoga ao omeprazol. No entanto, o misoprostol parece ser mais eficiente para diminuir o índice de edema da mucosa, quando comparado ao omeprazol, resultado este que se considerou inédito. Portanto, estes dados mais uma vez confirmam a relevância das comparações dos achados macro e microscópicos.

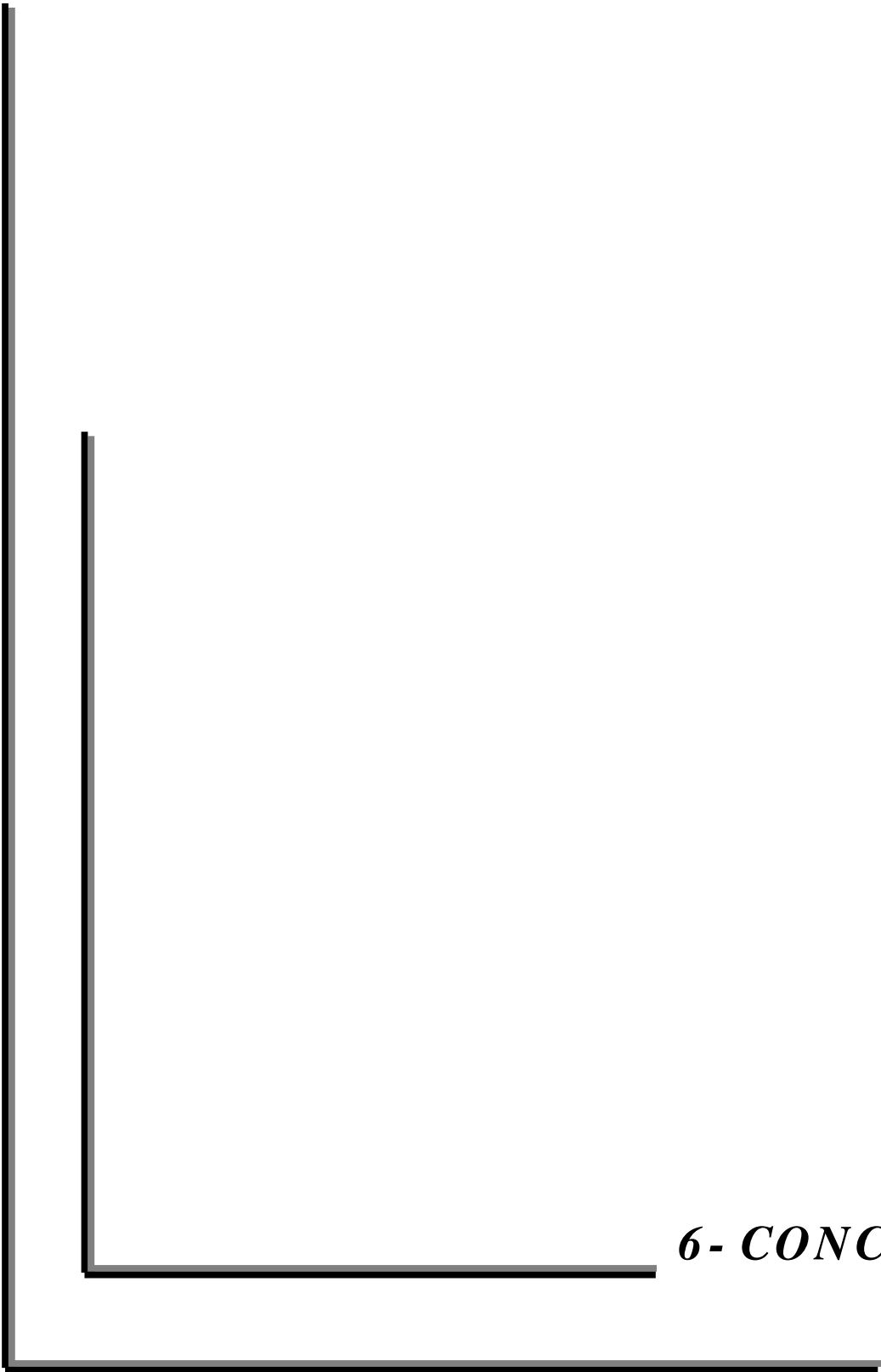
A utilização do celecoxib – AINE seletivo da COX-2 – neste trabalho, apresentou melhores e mais significativos resultados quando comparado às lesões provocadas pela indometacina – AINE convencional. Ou seja, os resultados apresentam diferenças significativas de valores, quanto ao número de lesões provocadas pela indometacina na mucosa gástrica de ratos, quando comparados ao número de lesões causadas pelo celecoxib. Além disso, o omeprazol e o misoprostol não mostraram ser totalmente efetivos na prevenção das lesões provocadas pela indometacina.

Essa nova classe de AINEs, com menos efeitos lesivos sobre a mucosa gástrica, atualmente tem maior custo quando comparada aos AINEs convencionais. No entanto, essas vantagens superam tais custos – fato esse de fundamental importância para que o celecoxib possa vir a ser prescrito como droga de escolha em determinadas doenças, ao invés da prescrição de AINEs convencionais, os quais apresentam menores custos associados à citoproteção profilática.

Certamente novas pesquisas experimentais e clínicas envolvendo os AINEs, as suas ações farmacológicas e seus efeitos colaterais na mucosa

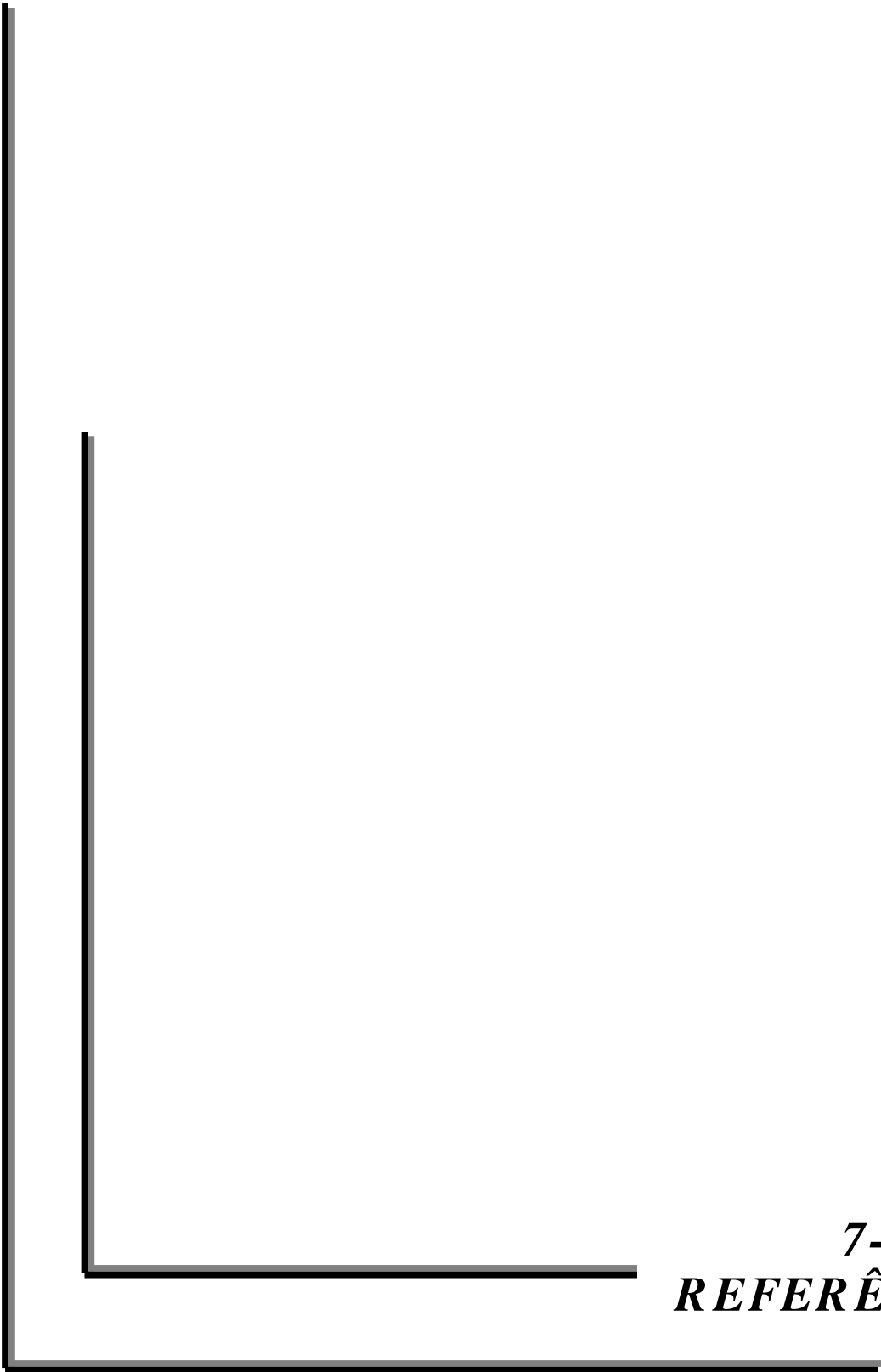
gastroduodenal são necessárias no futuro, na tentativa de elucidar pontos polêmicos e controversos ainda existentes.

As conclusões finais apontam para uma nova tendência terapêutica, no que se refere à utilização de AINEs seletivos, inibidores da COX-2, baseada em melhor qualidade de vida e redução do índice de efeitos colaterais aos pacientes.



6 - CONCLUSÃO

1. 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.
2. O omeprazol e o misoprostol nas concentrações empregadas não mostraram efetividade macro e microscópica na citoproteção gástrica de ratos, com a administração da indometacina.
3. Considerando-se a análise microscópica da **média do edema**, o grupo de animais que recebeu misoprostol como citoprotetor, apresentou menor média em comparação ao grupo que recebeu o omeprazol.



7- REFERÊNCIAS

- ABRAMSON, S.R.; WEISSMAN, G. The mechanisms of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Arthritis Rheum**, 32 (suppl.1): 1-9, 1989.
- ALLAN, R.; DYKES, P. A study of the factors influencing mortality rates from gastrointestinal haemorrhage. **QJM**, 45(suppl.1): 533-50, 1976.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – **NBR 6023**. Normalização da documentação no Brasil. Rio de Janeiro, 2000.
- BARRADELL, L. B.; FAULDS, D.; McTAVISH, D. Lansoprazole. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and its therapeutic efficacy in acid-related disorders. **Drugs**, 44:225-50, 1992.
- BARRISON, I. Prophylaxis against non-steroidal induced upper gastrointestinal side effects. **Ann Rheum Dis**, 50: 207-9, 1991.
- BATEMAN, D.N. NSAID'S: Time to re-evaluate gut toxicity. **Lancet**, 343: 1051-2, 1994.
- BORDA, I. T.; KOFF, R. S. (eds.) NSAIDs. A profile of adverse effects. **Hanley and Belfus Inc**, Philadelphia. 1992.
- BRALOW, S. P. Experimental gastric carcinogenesis. **Digestion**, 5: 290-310, 1972.
- BROOKS, P. Use and benefits of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Am J Med**, 104(suppl.1): 43S-51S, 1998.
- BRUNTON, L. L. Fármacos para controle da acidez gástrica e tratamento de úlceras pépticas. In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A.; HARDMAN, J. G.; et al. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 1996. p 663-74.
- CAMPBELL, W.B; HALUSHKA, P.V. Autacóides derivados dos lipídeos - eicosanóides e fator ativador plaquetário. In: GOODMAN, L.S.; GILMAN, A.; HARDMAN, J.G.; et al. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 1996. p 438 – 49.

CANNON, G.W.; BREEDVELD, F.C. Efficacy of cyclooxygenase-2 specific inhibitors. **Am J Med** ,110(suppl.1): 6s-12s, 2001.

CHAN, C.C.; BOYCE, S.; BRIDEAU, C., et al. Rofecoxib (VioX.MK-0966,4-(4-methylsulfonylphenyl)-3-phenyl-2-(5H)-furanone): a potent and orally active cyclooxygenase-2 inhibitor-pharmacological and biochemical profiles. **J Pharmacol Exp Ther**, 290(suppl.1): 551-60, 1999.

CHEER, S. M.; GOA, K. L. Parecoxib (parecoxib sodium). **Drugs**, 61: 1133-41, 2001.

COLLINS, P.W. Misoprostol: discovery, development, and clinical applications. **Med Res Rev**,10:149-72,1990.

CONOVER, W. J. **Practical nonparametric statistics**. New York: John Wiley & Sons, 1971.

CRAWFORD, J. M. O trato gastrintestinal, estômago. In: ROBBINS, S. L.; COTRAN,R. S.;KUMAR,V.; COLLINS,T. **Patologia estrutural e funcional** .6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p 708-58.

DINARELLO, C. A. Role of interleukin – 1 and tumor necrosis factor in systemic responses to infection and inflammation. In: (Gallin, J. I.;Goldstein, I. M.; and Snyderinan, R., eds.). **Inflammation:basic principles and clinical correlates**. 2.ed. New York: Raven press,1992, p. 211-32.

FRIES, J. F. NSAID gastropathy: the second most deadly rheumatic disease? Epidemiology and risk appraisal. **J Rheumatol**, 18(suppl. 28): 6-10, 1991.

GABRIEL, S. E.; JAAKKIRNAINEN, L.; BOMBARDIER, C. Risk for serious gastrointestinal complications related to use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: A meta-analysis. **Ann intern med**, 115 (suppl.1): 787-96, 1991.

GALLIN, J. I.; GOLDSTEIN, I. M.; SNYDERMAN, R.(eds.) **Inflammation: basic principles and clinical correlates**, 2.ed. New York:Raven press, 1992.

GEBHART, G.F.; Mc CORMACK, K. J. Neuronal plasticity. Implication for pain therapy. **Drugs**, 5(47):1-47, 1994.

GRAHAM, D.Y,et al. Duodenal and gastric ulcer prevention with misoprostol in arthritis patients taking nsaid: misoprostol study group. **Ann Intern Med** 119(suppl.1):257-62, 1993.

GRIFFIN, M. R. Epidemiology of nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated gastrointestinal injury. **Am J Med**,104(suppl.1):23S-29S,1998.

GUIDELINES FOR THE CLINICAL AND PATHOLOGIC STUDIES ON CARCINOMA OF THE ESOPHAGUS BY JAPANESE SOCIETY FOR ESOPHAGEAL DISEASES. **Jpn J Surg** 6(2):69-78, 1976.

HAMBERG, M.; SVENSSON, J.;SAMUELSSON, B. Thromboxanes : a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. **Proc Natl Acad Sci**, 72: 2994- 8, 1975.

HAWKEY,C.J.Progress in prophylaxis against nonsteroidal anti- inflammatory drug - associated ulcers and erosions. **Am J Med**, 3A(104): 67S-74S, 1998.

HIGGS, G. A. ; MONCADA, S. ; SALMON, J. A., et al. The source of thromboxane and prostaglandins in experimental inflammation. **Br J Pharmacol** ,79(4) : 863-8, 1983.

INSEL, P. A.Fármacos analgésico-antipiréticos e antiinflamatórios e medicamentos usados no tratamento da gota. In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A.; HARDMAN; et al. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9.ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 1996. p.450-480. ISBN 970-10-1161-9.

IVEY, K. J. Mechanisms of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric damage. In: SYMPOSIUM NONSTEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUG-INDUCED GASTROINTESTINAL DAMAGE, 1987. Washington. **Proceedings** ...In: The American Journal of Medicine, v.84, p.41-48, feb.1988.Suplemento 2A.

JAIN, K. K. Evaluation of intravenous parecoxib for the relief of acute post-surgical pain. **Expert Opin Investing Drugs** 9(suppl.1): 2717-23, 2000.

JONSSON,B.; WAHLQVIST,P. Management of nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated lesions: A cost-effectiveness perspective. **Am J Med** 104(suppl.1): 81s-88s, 1998.

KELLEY, W. N.; HARRIS, E.D. Jr.; RUDDY, S.;SLEDGE, C. B.(eds.). **Textbook of rheumatology**, 4.ed. Philadelphia : W. B. Saunders, 1993.

KONTTINEN, Y. T. Peripheral and spinal neural mechanisms in arthritis with particular reference to treatment of inflammation and pain. **Arthritis Rheum**, 37 (suppl.1): 965-82, 1994.

LECOMTE, M. Acetylation of human prostaglandin endoperoxide synthase-2 (cyclooxygenase-2) by aspirin. **J Biol Chem**, 269(suppl.1): 13.207-215, 1994.

LEE, A.; COOPER, M. G.; CRAIG, J. C. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on post-operative renal function in adults. **Cochrane database syst rev**, 4: CD002765, 2000.

LINDBERG, P. Omeprazole: the first proton pump inhibitor. **Med Res Rev** 10 (suppl.1):1-54, 1990.

LONGSTRETH, G. F. Epidemiology of hospitalization for acute upper gastrointestinal hemorrhage: a population - based study. **American J Gastroenterol** 90 (s/l): 206-10, 1995.

MARSHALL, P. J.; KULMACZ; R.J.; LANDS, W. E. M. Constraints on prostaglandin biosynthesis in tissues. **J Biol Chem**, 262: 3.510-17, 1987.

McCARTHY, D.M: Nonsteroidal antiinflammatory drug induced ulcers: management by traditional therapies. **Gastroenterology**, 96 (s/l):662-74, 1989.

McTAVISH, D.;BUCKLEY,M.M.; HEEL, R C. Omeprazole. An updated review of its pharmacology and therapeutic use in acid-related disorders. **Drugs** 42(s/l):138-70, 1991.

MONCADA, S. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. **Nature** 263(s/l): 663-5, 1976.

MONK, J. P.; CLISSOLD, S. P. Misoprostol: a preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in the treatment of peptic ulcer disease. **Drugs**, 33(s/l):1-30, 1987.

MORAN, M. Prevention of acute graft rejection by the prostaglandin E₁ analogue misoprostol in renal-transplant recipients treated with cyclosporine and prednisone, **N Engl J Med**, 322 (s/l):1183-8, 1990.

- O'NEILL, G. P. Overexpression of human prostaglandin G/H synthase-1 and -2 by recombinant vaccine virus: inhibition by nonsteroidal anti-inflammatory drugs and biosynthesis of 15-hydroxyeicosatetraenoic acid. **Mol Pharmacol**, 9(s/l):245-54, 1994.
- PAULUS, H. E.: FDS Arthritis Advisory Committee meeting: postmarketing surveillance of nonsteroidal antiinflammatory drugs. **Arthritis Rheum**, 28(s/l):1168-9, 1985.
- SAMUELSSON, B. Biosynthesis of prostaglandins. **Fed Proc**, 31: 1442-50, 1972.
- SAMUELSSON, B. Leukotrienes : mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. **Science**, 220:568-75, 1983.
- SANDLER, D. P. Analgesic use and chronic renal disease. **N Engl J Med**, 320:1238-43, 1989.
- SCHILLER, K. F.; TRUELOVE S. C.; WILLIAMS, D.G. Hematemesis and melena, with special reference to factors influencing the outcome. **BMJ**, 2:7-14, 1970.
- SCHMASSMANN, A. Mechanisms of ulcer healing and effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Am J Med**, 104:43S-51S, 1998.
- SCHNEIDER, E. L. Aging in the third millennium. **Science**, 283(s/l):796-7, 1999.
- SEGAL, W. N.; CELLO, J. P. Hemorrhage in the upper gastrointestinal tract in the older patient. **Am J Gastroenterol**, 92: 42-6, 1997.
- SHAPIRO, S. S. Treatment of dysmenorrhoea and premenstrual syndrome with nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Drugs**, 36: 475-90, 1988.
- SILEN, W. Experimental models of gastric ulceration and injury. **Am Phys Soc**, (s/l), p.395- 402, 1988.
- SILVERSTEIN, F.E. The national ASGE survey on upper gastrointestinal bleeding: II Clinical prognostic factors. **Gastrointestinal Endosc**, 27:80-93, 1981.
- SILVERSTEIN, F. E.; FAICH, G.; GOLDSTEIN, J. L. Gastrointestinal toxicity with celecoxib vs nonsteroidal anti-inflammatory drugs for osteoarthritis and rheumatoid arthritis. **JAMA**, 284:1247-55, 2000.

SIMON, L. S. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. **Am J Med**,106:37s-42s, 1999.

SMITH,W. L. Prostanoid biosynthesis and mechanism of action. **Am J Physiol**, 268:181-f191, 1992.

TAKAGI, K.; OKABE, S.; SAZIKI, R. A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. **Jap J Pharmac**, 19:418-26, 1969.

VANE, J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like Drugs. **Nature**, 231: 232-5, 1971.

VANE,J.;BOTTING, R. Inflammation and the mechanism of action of anti-inflammatory drugs. **FASEB J**, 1:89-96, 1987.

VANE, J. Towards a better aspirin. **Nature**, 367: 215-16, 1994.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M.New insights into to mode of action of anti-inflammatory drugs. **Inflamm Res**, 44: 1- 10, 1995.

VANE, J. R.; BOTTING, R. M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Am J Med**,104:2s- 8s, 1998.

VON EULER, U. S.Some aspects of the actions of prostaglandins. The First Heymans Memorial Lecture. **Arch int pharmacodyn ther**, 202(suppl.1) : 295-307, 1973.

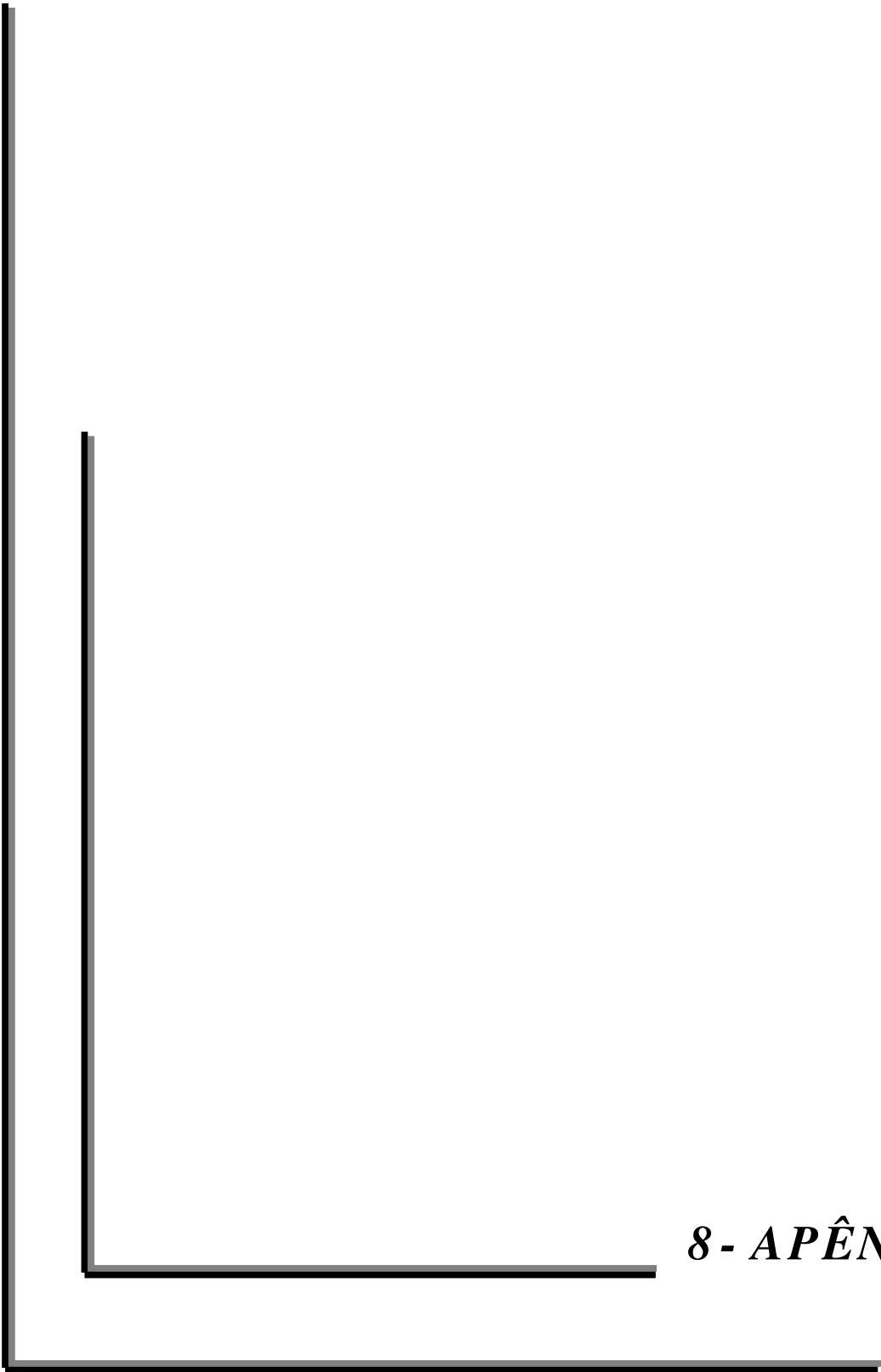
VREEBURG, E. N.; SNEL, P.; De BRUJINE, J.W. Acute upper gastrointestinal bleeding in the Amsterdam area : Incidence, diagnosis, and clinical outcome. **Am J Gastroenterol**, 92:236-43, 1997.

WALT, R. P. Misoprostol for the treatment of peptic ulcer and anti-inflammatory drug-induced gastroduodenal ulceration. **N Engl J Méd**, 327: 1575-80, 1992.

WHELTON, A. Renal aspects of treatment with conventional nonsteroidal anti - inflammatory drugs versus cyclooxygenase – 2 specific inhibitors. **Am J Med**, 110:33s-42s, 2001.

YEOMANS, N. D. New data on healing of nonsteroidal anti-inflammatory drug-

associated ulcers and erosions. **Am J Med**, 104:56s-61s, 1998.



8 - APÊNDICES

COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO UTILIZADA

NUVILABCR – Código de Produto 6003

Composição básica do produto: carbonato de cálcio, farelo de soja, farelo de trigo, fosfato bicálcico, milho integral moído, cloreto de sódio, premix vitamínico mineral aminoácido, farinha de peixe, farinha de carne.

Eventuais substitutivos: farelo de alfafa, farelo de arroz, farelo de girassol, farelo de milho, farinha de conchas de ostras tipo 1, farinha de penas hidrolisadas, farinha de sangue, soro de leite em pó, cevada, gordura animal estabilizada, solúveis de pescado dessecados.

Níveis de garantia por quilograma do produto :

Cálcio (máx.).....	1,40%
Extrato etéreo (mín.).....	3,00%
Fósforo (mín.).....	0,60%
Matéria fibrosa (máx.).....	9,00%
Matéria mineral (máx.).....	10,00%
Proteína bruta (mín.).....	22,00%
Umidade (máx.).....	12,50%

Enriquecimento por quilograma do produto :

Vitaminas: Vitamina A 25.200 UI; Vitamina D 2.100 UI; Vitamina E 60,00 mg; Vitamina K 12,50 mg; Vitamina B1 14,40 mg; Vitamina B2 11,00 mg; Vitamina B6 12,00 mg; Vitamina B12 6,00 mcg; Ácido nicotínico 52,50 mg; Ácido pantotênico 112,00 mg; Ácido fólico 6,00 mg; Biotina 0,26 mg; Colina 100 mg.

Microelementos minerais: Ferro 50 mg; Zinco 60 mg; Cobre 10,00 mg; Iodo 2 mg; Manganês 60,00 mg; Selênio 0,05 mg; Cobalto 1,50 mg.

Aminoácidos: Metionina 300,00 mg; Lisina 100,00 mg.

Aditivo: Antioxidante 100mg.

MODO DE USAR: Alimento equilibrado para camundongos e ratos de laboratório. Administração à vontade, através de comedouros suspensos.

CONSERVAÇÃO: Conservar em ambiente seco e arejado, evitando-se luz e calor excessivos.

Rótulo registrado no Ministério da Agricultura e Reforma Agrária sob nº 4453.00118.

Resultados da Análise Macroscópica:

GRUPO A: Sem citoproteção

Grupo A1: Celecoxib (sem citoproteção)

Tabela 4- Número de lesões em 20 animais, totalizando 3 lesões por cm² (média das lesões: 0,15 lesões por cm²/animal)

Rato	Cm²	Total de Lesões (cm²)
R1	09	0
R2	11	0
R3	10	03
R4	11	0
R5	10	0
R6	09	0
R7	09	0
R8	09	0
R9	08	0
R10	07	0
R11	09	0
R12	10	0
R13	09	0
R14	08	0
R15	06	0
R16	08	0
R17	08	0
R18	08	0
R19	08	0
R20	06	0

Grupo A2: Indometacina (sem citoproteção)

Tabela 5- Número de lesões em 20 animais, totalizando 271 lesões por cm² (média das lesões: 13,55 lesões por cm²/animal)

Rato	Cm ²	Total de Lesões (cm ²)
R1	09	13
R2	10	10
R3	10	17
R4	08	17
R5	11	20
R6	09	13
R7	09	12
R8	10	24
R9	08	16
R10	08	22
R11	08	13
R12	07	05
R13	08	03
R14	07	12
R15	07	05
R16	08	20
R17	09	14
R18	07	12
R19	09	11
R20	09	12

GRUPO B : Pré tratamento com Omeprazol

Grupo B1: Omeprazol (Pré- tratamento) + Celecoxib

Tabela 6- Número de lesões em 20 animais, totalizando 4 lesões por cm² (média das lesões: 0,2 lesões por cm²/animal)

Rato	Cm ²	Total de Lesões (cm ²)
R1	07	0
R2	09	0
R3	10	0
R4	09	0
R5	09	01
R6	11	0
R7	08	0
R8	11	0
R9	08	01
R10	10	0
R11	10	0
R12	09	0
R13	08	0
R14	11	0
R15	07	0
R16	08	01
R17	06	01
R18	08	0
R19	08	0
R20	09	0

Grupo B2: Omeprazol (Pré-tratamento) + Indometacina

Tabela 7- Número de lesões em 20 animais, totalizando 371 lesões por cm² (média das lesões: 18,55 lesões por cm²/animal)

Rato	Cm²	Total de Lesões (cm²)
R1	08	0
R2	08	11
R3	08	09
R4	09	14
R5	09	20
R6	09	19
R7	10	19
R8	09	15
R9	10	04
R10	08	16
R11	11	29
R12	11	16
R13	12	27
R14	11	23
R15	11	21
R16	10	26
R17	10	24
R18	11	24
R19	11	28
R20	12	26

GRUPO C: Pré-tratamento com Misoprostol

Grupo C1: Misoprostol (Pré- tratamento) + Celecoxib

Tabela 8- Número de lesões em 20 animais, totalizando 09 lesões por cm² (média das lesões: 0,45 lesões por cm²/animal)

Rato	Cm ²	Total de Lesões (cm ²)
R1	11	0
R2	10	0
R3	09	0
R4	10	0
R5	12	04
R6	08	01
R7	08	0
R8	07	0
R9	08	0
R10	09	02
R11	14	0
R12	16	0
R13	13	0
R14	14	0
R15	14	01
R16	14	01
R17	14	0
R18	16	0
R19	14	0
R20	18	0

Grupo C2: Misoprostol (Pré-tratamento) + Indometacina

Tabela 9- Número de lesões em 20 animais, totalizando 325 lesões por cm² (média das lesões: 16,25 lesões por cm²/animal)

Rato	Cm ²	Total de Lesões (cm ²)
R1	10	19
R2	09	19
R3	08	18
R4	09	22
R5	11	21
R6	09	20
R7	10	16
R8	09	14
R9	09	22
R10	09	17
R11	08	13
R12	09	06
R13	09	12
R14	10	28
R15	07	05
R16	09	21
R17	10	14
R18	08	11
R19	07	06
R20	07	21

GRUPO D: Controle

Tabela 10- Número de lesões em 10 animais - controle

Rato	Cm ²	Total de Lesões (cm ²)
R1	11	0
R2	11	0
R3	12	0
R4	12	0
R5	13	0
R6	12	0
R7	11	0
R8	14	0
R9	13	0
R10	11	0

Preparo da Formalina tamponada 7,2%:

Formol 100ml

Água destilada 900ml

Fosfato de sódio monobásico 4g

Fosfato de sódio dibásico..... 6,5g

Misturar tudo em um béquer, mexendo com espátula de vidro até total homogeneização. Após, fazer a medição do pH, que deverá ficar a 7,2%.

Para a correção do pH: acrescentar HCl para acidificar ou acrescentar NaOH para basificar.

Resultados da Análise Microscópica

Miriam resultados
Spearman correlatuions
Somente grupo 2
Cell contents
Correlation coefficient
Valid cases
One-tailed significance

	% mucosa com lesão	Média da extensão/le	Média das Profundida	Média dos edemas
% mucosa com lesão	1,0	0,78841	0,52887	-0,13426
	20	19	19	19
	0,0	6,0702	0,0199	0,58366
Média da extensão/le	0,78841	1,0	0,58616	-0,24221
	19	19	19	19
	6,0702	0,0	0,00834	0,31774
Média das Profundida	0,52887	0,58616	1,0	0,00352
	19	19	19	19
	0,0199	0,00834	0,0	0,98856
Média dos edemas	-0,13426	-0,24221	0,00352	1,0
	19	19	19	19
	0,58366	0,31774	0,98856	0,0

somente grupo4
Cell contents
Correlation coefficient
Valid cases
One-tailed significance

	% mucosa com lesão	Média da extensão/le	Média das Profundida	Média dos edemas
% mucosa com lesão	1,0	0,71797	0,16434	-0,29552
	20	18	18	17
	0,0	7,92358	0,51462	0,24946
Média da extensão/le	0,71797	1,0	0,45947	-0,00735
	18	18	18	17
	7,92358	0,0	0,055	0,97764
Média das Profundida	0,16434	0,45947	1,0	-0,36174
	18	18	18	17
	0,51462	0,055	0,0	0,15364
Média dos edemas	-0,29552	-0,00735	-0,36174	1,0
	17	17	17	17
	0,24946	0,97764	0,15364	0,0

Somente grupo 6

Cell contents

Correlation coefficient

Valid cases

One-tailed significance

	% mucosa com lesão	Média da extensão/le	Média das Profundida	Média dos edemas
% mucosa com lesão	1,0	0,86118	0,72136	0,13175
	20	19	19	19
	0,0	2,19564	4,90566	0,5908
Média da extensão/le	0,86118	1,0	0,79454	0,12136
	19	19	19	19
	2,19564	0,0	4,83568	0,62064
Média das Profundida	0,72136	0,79454	1,0	0,07425
	19	19	19	19
	4,90566	4,83568	0,0	0,76256
Média dos edemas	0,13175	0,12136	0,07425	1,0
	19	19	19	19
	0,5908	0,62064	0,76256	0,0
Edema maior	0,25318	0,21554	0,2489	0,82834
	19	19	19	19
	0,29562	0,37548	0,30414	11,86432

para avaliar a confiabilidade da análise macroscópica do estômago não podemos incluir estômagos sem lesão
portanto condição lesão % mucosa >0 :

para estes casos vale a correlação Spearman

Correlation coefficient

Valid cases

One-tailed significance

	% mucosa com lesão	pontos por cm2
% mucosa com lesão	1,0	0,0056
	56	56
	0,0	0,48364
pontos por cm2	0,0056	1,0
	56	56
	0,48364	0,0

dados descritivos

grupo1	% mucosa com lesão	Média da extensão/le	Média das Profundida	Média dos edemas	pontos por cm2
Cases	20	0	0	0	20
Mean	0,00000	*****	*****	*****	2,63889e-02
1st Percentile	*****	*****	*****	*****	*****
5th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
10th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
25th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
Median	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
75th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
90th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,12500
95th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,16458
99th Percentile	*****	*****	*****	*****	*****

grupo2	% mucosa com lesão	Média da extensão/le	Média das Profundida	Média dos edemas	pontos por cm2
Cases	20	19	19	19	20
Mean	0,12015	1,67611	86,5642	0,61547	1,82952
1st Percentile	*****	*****	*****	*****	*****
5th Percentile	4,00000e-04	0,26000	28,5700	0,17700	2,00000e-02
10th Percentile	9,00000e-03	0,29000	31,6200	0,20000	0,47250
25th Percentile	2,40000e-02	0,62800	57,5000	0,33000	1,47980
Median	5,90000e-02	1,64200	100,000	0,57600	2,04545
75th Percentile	0,18925	2,36500	107,500	0,84700	2,24306
90th Percentile	0,34400	3,01600	120,000	1,26500	2,59455
95th Percentile	0,41810	5,81000	150,000	1,63800	2,63455
99th Percentile	*****	*****	*****	*****	*****

Grup03	% mucosa com lesão	Média da extensão/le	Média das Profundida	Média dos edemas	pontos por cm2
Cases	20	0	0	0	20
Mean	0,00000	*****	*****	*****	4,11706e-02
1st Percentile	*****	*****	*****	*****	*****
5th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
10th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
25th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
Median	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
75th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	5,35714e-02
90th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,21250
95th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,32777
99th Percentile	*****	*****	*****	*****	*****

Grup04	% mucosa com lesão	Média da extensão/le	Média das Profundida	Média dos edemas	pontos por cm2
Cases	20	18	18	17	20
Mean	7,23500e-02	1,08050	95,9072	0,42535	1,82153
1st Percentile	*****	*****	*****	*****	*****
5th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,66904
10th Percentile	1,10000e-03	0,45900	65,8730	0,15000	0,72857
25th Percentile	2,50000e-02	0,57325	77,6450	0,26650	1,38125
Median	5,30000e-02	1,06250	88,1250	0,40700	1,89444
75th Percentile	0,11500	1,45475	100,625	0,60100	2,31250
90th Percentile	0,15820	1,96060	134,580	0,70600	2,76444
95th Percentile	0,26735	*****	*****	*****	2,99000
99th Percentile	*****	*****	*****	*****	*****

Grup05	% mucosa com lesão	Média da extensão/le	Média das Profundida	Média dos edemas	pontos por cm2
Cases	20	0	0	0	20
Mean	0,00000	*****	*****	*****	1,50000e-02
1st Percentile	*****	*****	*****	*****	*****
5th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
10th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
25th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
Median	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
75th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
90th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,00000
95th Percentile	0,00000	*****	*****	*****	0,28500
99th Percentile	*****	*****	*****	*****	*****

Grup06	% mucosa com lesão	Média da extensão/le	Média das Profundida	Média dos edemas	pontos por cm2
Cases	20	19	19	19	20
Mean	0,16525	2,23689	78,2526	0,83763	1,57418
1st Percentile	*****	*****	*****	*****	*****
5th Percentile	6,00000e-04	8,40000e-02	17,1400	0,16000	0,39196
10th Percentile	1,24000e-02	0,24000	22,5000	0,26000	0,71428
25th Percentile	3,10000e-02	0,52500	47,5000	0,55500	1,25000
Median	9,50000e-02	0,95000	88,8600	0,83000	1,59028
75th Percentile	0,30525	4,31000	100,000	1,19000	1,95455
90th Percentile	0,46620	8,33000	115,000	1,34500	2,49000
95th Percentile	0,51930	8,38000	125,000	1,50000	2,73750
99th Percentile	*****	*****	*****	*****	*****

Comparação Kruskall Wallis
Variable: % mucosa com lesão
Grouped by: GRUPO

	Mean rank	N
1	32,5000	20
2	89,2500	20
3	32,5000	20
4	83,1750	20
5	32,5000	20
6	93,0750	20

H **D.F.** **P**
92,6278 5 1,88387e-18

há diferença entre os grupos

o post-hoc teste Dunn revela diferença significativa (nível 0.05) entre os grupos 1 ,3 e 5 e 2 4 6 , mas não entre os grupos 2 4 e 6 .

Kruskall Wallis

Variable: Média da extensão/le
Grouped by: GRUPO

	Mean rank	N
2	30,6842	19
4	25,5556	18
6	29,1053	19

H **D.F.** **P**
0,95413 2 0,6206

não há diferença significativa entre os grupos

Variable: Média das Profundida
Grouped by: GRUPO

	Mean rank	N
2	30,1579	19
4	29,3889	18
6	26,0000	19

H **D.F.** **P**
0,69832 2 0,70527

não há diferença significativa entre os grupos

Edemas grupo controle

	Média dos edemas
Cases	10
Mean	0,27100
Std.error	2,48305e-02
Variance	6,16555e-03
Std.deviation	7,85210e-02
Variation Coeff.	0,28974
Rel.V.Coeff.(%)	9,16256
Skewness	0,88895
Kurtosis	-0,43292
Minimum	0,19000
Maximum	0,42000
Range	0,23000
Sum	2,71000
1st Percentile	*****
5th Percentile	*****
10th Percentile	0,19100
25th Percentile	0,20000
Median	0,26000
75th Percentile	0,31500
90th Percentile	0,41700
95th Percentile	*****
99th Percentile	*****
10% trimmed mean	0,26250
10% wins. mean	0,21000
Geom. mean	0,26181
Geom. Std.Dev.	1,31136

Comparação dos grupos 2,4 6 7

Variable: Média dos edemas (quociente)

Grouped by: GRUPO

	Mean rank	N
2	35,3947	19
4	26,6765	17
6	46,0526	19
7	14,4000	10

H	D.F.	P
20,9450	3	1,08080e-04

post-hoc teste de DUNN revela diferenças significativas entre os grupos 2 e 7, 4 e 6 e entre 6 e 7

não conseguimos demonstrar diferenças significativas entre os grupos 2 e 6, entre 2 e 4 ou 4 e 7

□

k m