

RUDINEY JEFERSON DARUGE

Cirurgião Dentista

INFLUÊNCIA DE ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO, ÁLCOOL,

INDOMETACINA, CAFEÍNA E FLUORETO DE SÓDIO NA

SECREÇÃO GÁSTRICA DE CAMUNDONGOS "IN VITRO"

*6.1.12 exemplar foi devidamente
revisado conforme indicação
CC 76/036/83.
Piracicaba, 10 de março de 1995.
@/rujeferson*

*Tese apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba da
Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do
Grau de Mestre em Ciências,
área de Fisiologia e Biofísica do
Sistema Estomatognático*

PIRACICABA - SP

1995

D257i
24326/BC

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
BIBLIOTECA DE ODONTOLOGIA

RUDINEY JEFERSON DARUGE

Cirurgião Dentista

***INFLUÊNCIA DE ÁCIDO ACETIL SALICÍLICO, ÁLCOOL,
INDOMETACINA, CAFEÍNA E FLUORETO DE SÓDIO NA
SECREÇÃO GÁSTRICA DE CAMUNDONGOS "IN VITRO"***

*Tese apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba
da Universidade Estadual de
Campinas, para obtenção do
Grau de Mestre em Ciências,
área de Fisiologia e Biofísica do
Sistema Estomatognático*

Orientador : Prof. Dr. Alcides Guimarães

PIRACICABA - SP

1995

À Prof. Dra. Angélica Dolcimáscolo Daruge, que com o sacrifício particular e profissional, desempenhou o papel de mãe, pai, esteio e educadora, dedico este trabalho, fruto de suas abdicações, com os dizeres de Mark Twain.

"Quando eu era um menino de quatorze anos, meu pai era tão ignorante que eu mal conseguia suportá-lo por perto. Mas quando cheguei aos vinte e um, fiquei espantado ao perceber o quanto ele havia aprendido em sete anos."

Ao Prof. Dr. Walter Daruge;

Pai !

*A vida me privou de tua velhice,
mas não de tua sabedoria,
de tua presença,
mas não de tua orientação,
de teu contato,
mas não de tua luz,
de teus olhos
mas não de teu amor,
de teu abraço,
mas não de teu espírito,
obrigado por estar entre nós.*

Rudiney Jeferson Daruge

Ao meu irmão Husney e ao comandante Turin;

*A união de uma amizade está no esteio
de nossos ideais, na coragem de nosso
espírito e na força de nosso caráter.*

*Obrigado por vosso apoio e auxílio que
nas horas difíceis atenuaram as
dificuldades de minha jornada*

Ao Dr. Alcides Guimarães, Professor Titular da disciplina de Fisiologia do Departamento de Ciências Fisiológicas, pela sabedoria e serenidade na orientação ofereço, com gratidão, o pensamento de H. Jackson Brown.

"A exibição de símbolos de status costuma ser o resultado de pouca auto-estima. A pessoa autoconfiante pode se permitir projetar uma imagem modesta"

Ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Pinheiro, que com sua experiência e orientação, tornou este trabalho possível, meu profundo agradecimento e reconhecimento.

"Nada no mundo consegue tomar o lugar da persistência. Não o talento; não há nada mais comum do que homens malsucedidos com talento. Não o gênio; o gênio não reconhecido já é quase um provérbio. Não a educação; o mundo está cheio de fracassos educados. Somente a persistência e a determinação são onipotentes."

Calvin Coolidge

**Aos docentes do Departamento de Ciências Fisiológicas, em especial à
Dra. Maria Cecília Ferraz de Arruda Veiga, agradeço os ensinamentos
científicos e filosóficos.**

*"A ignorância afirma ou nega veementemente;
a ciência duvida."*

Voltaire

Aos funcionários Shirley Rosana Sbravatti Moreto, Miris Cristina Recchia e Carlos Alberto Aparecido Feliciano, agradeço ao apoio e à paciência concedida, com uma história antiga.

"Perguntaram a dois pedreiros de cantaria o que estavam fazendo.

O primeiro disse:

— Estou cortando essa pedra em blocos.

O segundo respondeu:

— Faço parte de uma equipe que está construindo uma catedral."

Aos meus colegas alunos de Pós-Graduação e a todos aqueles que em nome da ciência se sacrificam e se desdobram, ofereço o pensamento de Georg C. Lichtenberg.

"As pessoas que nunca têm tempo não conseguem grandes coisas."

AGRADECIMENTOS

*Ao colega e Cirurgião **Paulo César Haddad** pela amizade, companheirismo e comunhão de objetivos e dificuldades, que facilitaram sobremaneira a realização deste trabalho.*

*À **Adriana e Edson** pelo incondicional, gratuito, porém frutífero trabalho, no aprimoramento e impressão gráfica.*

*À **Profa. Dora Aparecida Franco de Oliveira**, pela trabalhosa revisão ortográfica e gramatical dos conteúdos apresentados.*

*À **Dra. Sônia Vieira**, Professora titular da área de Bioestatística do Departamento de Odontologia Social da FOP-UNICAMP, pela programação e orientação estatística.*

*Ao Sr. **Marcos Antônio Rapetti**, Operador de Computador da área de Radiologia da FOP-UNICAMP, pela cooperação.*

*À **Sra. Sueli Duarte de Oliveira Soliani**, Bibliotecária da FOP-UNICAMP, pelos ensinamentos de organização das referências bibliográficas.*

CONTEÚDO

1. RESUMO	03
2. ABSTRACT	06
3. INTRODUÇÃO	10
4. REVISTA DA LITERATURA	14
5. PROPOSIÇÃO	21
6. MATERIAL E MÉTODOS	23
7. RESULTADOS	29
8. DISCUSSÃO	48
9. CONCLUSÃO	57
10.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1. RESUMO

1. RESUMO.

Muita relevância tem sido dada às interações entre drogas na secreção gástrica de humanos. Várias drogas indutoras de alteração de pH estomacal possuem comprovação clínica sobre sua influência na secreção gástrica.

Assim sendo, diante da existência desta comprovada interação entre drogas e secreção gástrica, propusemo-nos a investigar a influência "in vitro" de determinadas drogas sobre o pH da secreção gástrica em camundongos.

Foram utilizados, para tanto, 192 camundongos machos, com 90 dias de idade, subdivididos em 6 grupos experimentais.

Foi realizada a remoção do estômago em cada um dos 6 grupos, e os estômagos incubados por 20 minutos para posterior análise do pH gástrico. Com exceção do Grupo controle (I), onde não se adicionou nenhuma substância ao interior gástrico, nos Grupos (II, III, IV, V, VI) administrou-se, antes da incubação, 1,2cc das soluções de ácido acetil salicílico (Grupo II), álcool (Grupo III), indometacina (Grupo IV), cafeína (Grupo V) e fluoreto de sódio (Grupo VI).

Cada Grupo foi subdividido em 3 sub-grupos com 12 animais cada e a estes foram fornecidas três concentrações diferentes de cada droga.

Após 20 minutos de incubação, foi realizada a colheita do conteúdo gástrico e a posterior aferição de seu valor de pH.

Os resultados obtidos mostraram que o ácido acetil salicílico, indiferentemente à concentração usada, diminuiu o pH do suco gástrico.

O álcool, indometacina e cafeína mostraram - se, independentemente das concentrações usadas, inibidores da secreção ácida.

O fluoreto de sódio, entretanto, inibiu a secreção ácida de forma inversa à concentração utilizada. O ensaio na concentração de 10 ppm inibiu mais significativamente a acidez gástrica quando comparada à concentração de 25 ppm. Os ensaios utilizando a concentração de 50 ppm não mostraram diferenças de acidez gástrica estatisticamente significantes em relação ao Grupo controle.

2. ABSTRACT

2. ABSTRACT.

It has been given much importance to the interactions among drugs and their interference on human gastric secretion.

Several drugs responsible to gastric pH alterations have been responsible clinically established about their influence on gastric secretion.

That being so, due to this comproved interaction among drugs and gastric secretion, we proposed to investigate the influence "in vitro" of determined and known drugs on the pH of the gastric secretion on mice.

Therefore, we have used 192 male mice, 90 days old, divided into 6 experimental Groups.

The stomachs were removed from the 6 Groups, and incubated In physiological solutions at 37C for 20 minutes, for further gastric pH analysis.

With the exception to the control Group (I), where it was not added any substance to the gastric mucosa, the other Groups (II,III,IV,V,VI), have

received, before the incubation, 1,2cc of solutions with salicylic acid (Group II), alcohol (Group III), indometacin (Group IV), caffeine (Group V) and sodium fluoride (Group VI).

Each group was divided into 3 subgroups with 12 animals each, and to these animals were given 3 different concentrations of each drug.

After 20 minutes of incubation, the inner gastric content was collected for further pH measuring.

The results showed that the salicylic acid, no matter what concentration was used, decreased the pH of the gastric juice.

The alcohol, indometacin, and caffeine showed, independently of the concentration used, to inhibit stomach acid secretion.

The sodium fluoride, decreased acid secretion in an inverse way to the concentration used, so at 10 ppm it decreased the stomach pH in a more significant way when compared to the 25 ppm concentration.

At 50 ppm of concentration NaF did not show significant difference to the control Group.

3. INTRODUÇÃO

3. INTRODUÇÃO.

O estômago e sua secreção gástrica têm sido estudados sob vários aspectos.

Relatos na literatura demonstram que a secreção gástrica sofre influência de muitas drogas, de forma a alterar o seu pH.

As implicações clínicas destes conhecimentos têm levado a novos conceitos nos tratamentos de patologias envolvendo a mucosa gástrica.

A secreção gástrica está sob um complexo controle nervoso e hormonal. A regulação neuroendócrina da secreção estomacal (função cloridropéptica) depende do comando dos centros nervosos superiores (córtex e hipotálamo), ação hormonal ativadora da gastrina sobre as células parietais e mecanismos intrínsecos inibidores da secreção.

Fisiologicamente podemos dividir a secreção gástrica em três fases : cefálica, gástrica e intestinal.

Na fase cefálica, os centros hipotalâmicos atuam na secreção gástrica via nervo vago e eixo hipotálamo - hipófise - adrenal, o que justificaria experiências clínicas de estimulação de secreção gástrica com corticóides. A ação do estresse físico e psíquico na secreção gástrica está na dependência da participação do hipotálamo.

Na fase hormonal, a gastrina liberada pelo antro gástrico por diversos mecanismos, age no sistema AMP-cíclico, estimulando a secreção de ácido.

É na fase intestinal que se apresentam alguns mecanismos inibidores da secreção. Quando o pH duodenal diminui pela presença de suco gástrico, estimula-se a liberação dos hormônios, secretina e colicistocinina-pancreozimina, envolvidas na secreção biliar e pancreática respectivamente.

Portanto, o mecanismo fisiológico de indução da secreção gástrica é multifatorial, envolvendo desde o estímulo visual e olfatório do alimento, até o contato físico direto deste com a mucosa gastroduodenal.

Este caráter multifatorial pode, portanto, levar a respostas gástricas inesperadas a uma determinada droga, já que vários fatores podem estar sendo manipulados simultaneamente num experimento clínico.

Com base neste fato, pareceu-nos relevante estudar a ação de determinadas drogas sobre a secreção gástrica "in vitro", eliminando desta forma interferências outras que não a da própria droga sobre a mucosa gástrica. Podemos assim, contribuir para o esclarecimento da interação direta entre droga e mucosa gástrica.

4. REVISTA DA LITERATURA

4. REVISTA DA LITERATURA.

O mecanismo exato da secreção ácida pelo estômago não está integralmente elucidado. Entretanto, os modelos básicos da produção de ácido pelo estômago, propostos por TEORELL em 1947 e HOLLANDER em 1952 indicam que o aparecimento de íons hidrogênio provém de uma troca por íons cloro.

Os estímulos a esta reação podem ser de três formas distintas :

- a) por via cefálica ou vagal, sob ação do sistema nervoso central sofrendo influência da visão, olfato e paladar dos alimentos;
- b) da distensão gástrica que, por estímulo direto sobre a mucosa gástrica, leva à secreção de ácido clorídrico;
- c) por alimentos que, sofrendo reações químicas, levam à secreção de gastrina - hepta decapeptídeo (G17) pelas células G do antro e conseqüente secreção ácida. A inter-relação destes fatores com determinadas drogas na inibição ou indução à secreção gástrica vem sendo estudada por vários autores.

SHAY et al. (1954), já preocupados com a secreção gástrica, publicaram um método para a mensuração quantitativa da secreção gástrica espontânea em ratos.

AUGUR (1970), analisando o fluxo sangüíneo da mucosa gástrica de cães, após danos mediados por etanol, ácido acético e aspirina, observou que a secreção ácida ou medicações agressoras podiam romper a barreira protetora estomacal, possibilitando retrodifusão de íons H^+ para a mucosa, o que induziria à liberação de histamina com subsequente vasodilatação e maior secreção de íons H^+ com redução de pH. Concluiu que o etanol, "in vivo", estimula a secreção ácida e a vazão sangüínea estomacal, provavelmente por depressão do centro vasomotor. A depressão do centro vasomotor é sabidamente responsável por vasodilatação venular e redução da resistência periférica.

LARRY & LINDA (1977), analisando os efeitos do etanol administrados diretamente sobre a mucosa gástrica de cães, através de cânula de polietileno, observaram uma queda de 50% a 96% na concentração de ATP após a administração de etanol a 13,7% e 20% respectivamente. Esta queda poderia estar relacionada, segundo os autores, à inibição da adenil-ciclase e da fosfodiesterase.

PUURUNEN et al. (1977), afirmaram que o álcool possui efeito inibitório na secreção ácida gástrica . Os autores sugeriram que esta inibição pode ser devido à diminuição da concentração de AMP cíclico ou devido ao aumento da formação de prostaglandinas. Observaram ainda que a queda do AMP cíclico foi verificado na mucosa gástrica superficial onde está a maioria das células parietais . A inibição da secreção foi obtida com o uso de etanol a 10% administrados na mucosa gástrica.

GERKENS et al. (1978), concluíram que as prostaglandinas, produtos do ácido aracdônico, levam a vasodilatação da mucosa gástrica de cães, maior fluxo sangüíneo, porém, com redução na secreção ácida. Os autores que trabalharam com mucosa gástrica de cães perfundida externamente, postularam que o efeito inibitório das prostaglandinas sobre a secreção ácida foi devido a um controle de retroinibição das prostaglandinas sobre a produção ácida.

BRUGGEMAN et al. (1979),trabalhando com mucosa gástrica de cães, isolada e perfundida, comprovaram que o ácido acetil salicílico, aplicado topicamente, leva à destruição da barreira da mucosa gástrica, permitindo retrodifusão de íons H⁺, liberação de histamina e maior produção ácida.

GORDON et al. (1980), trabalhando em cães, concluíram que a indometacina quando administrada endovenosamente (10mg/ml) reduziu em 52% e a aspirina também administrada por via endovenosa a 100mg/kg diminuiu em 31% o fluxo sangüíneo da mucosa estomacal.

CANFIELD & PRICE (1981), trabalhando com ratos "wistar" observaram efeitos contrários de drogas simpatomiméticas sobre a secreção gástrica de ratos "in vivo" e "in vitro". A isoprenalina inibiu a secreção ácida "in vivo", administrada endovenosamente por perfusão contínua de 2 ml/hora e estimulou-a nos experimentos "in vitro". Com os achados, os autores concluíram que a isoprenalina tem um efeito estimulatório direto e inibitório indireto sobre a secreção gástrica em ratos.

DOROTHEA et al. (1982), observaram que o pré-tratamento de ratos, expostos à agressão estomacal por álcool, com 16,16-dimetil prostaglandina E2, induziu a uma diminuição do nível de lesão da mucosa e da concentração de histamina.

SANDVIK et al. (1987), relataram que a gastrina produziu uma secreção dose-dependente e imediata de histamina, precedendo a uma secreção ácida em estômagos isolados de ratos, porém, perfundidos vascularmente. A gastrina foi administrada pela cânula de perfusão vascular nas concentrações de 0, 65, 130, 520 e 1040 pM.

PIQUE et al. (1988), concluíram que a administração subcutânea de indometacina (5 mg/kg), não afetou significativamente a secreção ácida basal ou a pressão arterial, porém, diminuiu a circulação sangüínea basal do estômago. Observaram, também diminuição da concentração de prostaglandinas E2 e aumento de resistência vascular periférica.

GOTO et al. (1989), trabalhando com a indução de lesões gástricas em ratos por indometacina, verificaram que houve uma diminuição ou desaparecimento de 4 tipos de prostaglandinas (6-Keto-PGF1a, PGF2a, PGE2, PGD2) após a administração oral de 2mg/kg de indometacina. Na concentração de 12mg/kg de indometacina, todas as prostaglandinas desapareceram.

KUNIHICO et al. (1991), desenvolveram um modelo experimental "in vitro" para detectar pequenas concentrações de noradrenalina secretada endogenamente no estômago do rato.

KOHÚT et al. (1992), comparando secreção gástrica em animais normais e sialoadenectomizados, observaram que a indometacina estimulou a secreção ácida em ratos sialoadenectomizados porém, não de forma significativa em animais não sialoadenectomizados.

BROOKS et al. (1993), observaram que a administração de 30 mg/kg de indometacina por via oral reduziu as concentrações de prostaglandinas por inibição da 5 e 15 lipooxigenase e da prostaglandina sintetase.

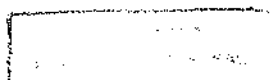
WOOD et al. (1993), verificaram a vasodilatação provocada pela aplicação tópica de álcool de 10 a 40 % em volume sobre a mucosa gástrica. De acordo com os autores esta vasodilatação não era sensível à administração prévia de indometacina ou anti-histamínicos, concluindo a importância da adenosina como mediador das alterações estomacais.

5. PROPOSIÇÃO

5. PROPOSIÇÃO.

Considerando-se a ação efetiva de drogas sobre a secreção gástrica, demonstrada clinicamente, como também em experiências laboratoriais, foi que nos propusemos a investigar "in vitro" a ação das drogas: Ácido acetil salicílico , cafeína, álcool, indometacina e fluoreto de sódio na secreção ácida de camundongos.

6. MATERIAL E MÉTODOS



6. MATERIAL E MÉTODOS.

Para o desenvolvimento do presente trabalho, foram utilizados 192 camundongos (*mus musculus* - swiss) adultos, machos, pesando em média 45 gramas no início do experimento fornecidos pelo biotério central da Unicamp. Foram alimentados com ração balanceada e água "Ad libitum". Os animais foram distribuídos, aleatoriamente, em 6 Grupos experimentais (Quadro 1) da seguinte forma :

Grupo I - 12 animais controles - foi administrado ao estômago dos 12 camundongos, 1,2 ml de uma solução de Krebs-Ringer .

Grupo II - AAS - 36 animais subdivididos em três sub-grupos com 12 camundongos cada. Nos estômagos retirados destes animais foi administrado 1,2 ml de solução Krebs-Ringer contendo AAS nas concentrações de 0,25% (sub-grupo II-1), 0,50% (sub-grupo II-2) e 0,75% (sub-grupo II-3);

Grupo III - Álcool - 36 animais subdivididos em 3 sub-grupos de 12. Nos estômagos retirados destes camundongos , foi administrado 1,2 ml de solução de Krebs-Ringer contendo álcool etílico nas concentrações de 5% (sub-grupo III-1), 10% (sub-grupo III-2) e 20% (sub-grupo III-3);

Grupo IV - Indometacina - também constituído por 36 camundongos, subdivididos em 3 sub-grupos de 12 animais. Nos estômagos retirados destes animais, foi administrado 1,2 ml de solução de Krebs-Ringer contendo indometacina nas concentrações de 0,10% (sub-grupo IV-1), 0,25% (sub-grupo IV-2) e 0,50% (sub-grupo IV-3);

Grupo V - Cafeína - constituído por 36 animais subdivididos em 3 sub-grupos de 12. Nos estômagos retirados, foi administrado 1,2 ml de solução de Krebs-Ringer contendo cafeína nas concentrações de 0,05% (sub-grupo V-1), 0,10% (sub-grupo V-2) e 0,25 % (sub-grupo V-3);

Grupo VI - Fluoreto de sódio - também constituído por 36 animais subdivididos em 3 sub-grupos de 12 camundongos. Da mesma forma que os grupos anteriores, nos estômagos destes animais foi administrado 1,2 ml de solução de Krebs Ringer contendo fluoreto de sódio, nas concentrações de 10ppm (sub-grupo VI-1), 25ppm (sub-grupo VI-2) e 50ppm (sub-grupo VI-3).

QUADRO 1. Distribuição dos animais nos grupos e sub-grupos e drogas administradas.

DROGAS ADMINISTRADAS E CONCENTRAÇÕES

GRUPOS	SUBGRUPOS	CONTROLE	AAS	ÁLCOOL	INDOMETACINA	CAFEÍNA	NaF
		KRFBS RINGER					
I							
II	1		0,25%				
	2		0,50%				
	3		0,75%				
III	1			5%			
	2			10%			
	3			20%			
IV	1				0,10%		
	2				0,25%		
	3				0,50%		
V	1					0,05%	
	2					0,10%	
	3					0,25%	
VI	1						10ppm
	2						25ppm
	3						50ppm

Procedimento experimental:

Vinte e quatro horas antes do início dos experimentos, todos os animais dos seis Grupos foram mantidos em jejum. A seguir, foram sacrificados por inalação de éter etílico.

Após o sacrifício, foi realizada em todos os camundongos a entubação oro-gástrica com cânula de polietileno, a qual foi atada ao estômago por ligaduras localizadas ao nível da válvula cárdia.

Em seguida realizou-se a cirurgia para a remoção do estômago, o qual, após ter sido retirado, foi lavado (3 vezes) com NaCl 0,9% (a 37 °C) através da cânula. Procedeu-se a ligadura do piloro com fio de sutura (algodão 3.0) e administrou-se, também através da cânula, 1,2 ml de solução Krebs-Ringer contendo as drogas de cada Grupo respectivo. No Grupo controle, foi administrado 1,2 ml de solução Krebs-Ringer.

Em continuidade, o complexo estômago - cânula foi imerso em uma solução oxigenada constituída de tampão Krebs-Ringer-Fosfato (20 ml) + glicose a 3 % (2,0 ml) + histamina 3mg/ml (0,06 ml) e levado à estufa (37 °C) por vinte minutos.

Decorrido este tempo, retirou-se o complexo e colheu-se o conteúdo estomacal, despejando-o através da cânula em tubo de ensaio. Na seqüência, mediu-se o pH do conteúdo em pHmetro marca digimed.

Análise estatística: Os resultados obtidos de todos os animais dos seis grupos experimentais foram submetidos à análise de variância de ensaios inteiramente ao acaso, e para a comparação das médias, foi usado o teste de Tukey, a nível de 5% de probabilidade.

7. RESULTADOS

7. RESULTADOS.

Os resultados obtidos foram tabulados a seguir (tabelas de 1 a 5, gráficos de 1 a 5) e submetidos a análise de variância inteiramente ao acaso. Os resultados desta análise demonstram que existem diferenças estatisticamente significantes ao nível de 5% de probabilidade entre os grupos experimentais (quadros de 2 a 6).

A partir da análise da tabela 1, nota-se que o ácido acetil salicílico reduziu, independentemente das concentrações utilizadas, o valor do pH do conteúdo gástrico quando comparadas ao Grupo controle. É possível observar que houve diferenças estatisticamente significantes entre as concentrações de 0,25% e 0,50%. O ensaio utilizando a maior concentração de AAS foi responsável pelo aumento da acidez do conteúdo gástrico.

Entretanto, não foram notadas diferenças estatisticamente significantes entre os resultados obtidos com o uso de AAS a 0,50% e 0,75%, ainda que a maior concentração tenha sido responsável por valores de pH mais baixos quando comparadas aos ensaios com a concentração de 0,25% de AAS.

No gráfico 1, é possível visualizar as diferenças entre as médias do Grupo controle e as médias do Grupo AAS nas concentrações de 0,25%, 0,50% e 0,75%.

O quadro 2 mostra a análise de variância inteiramente ao acaso para o Grupo controle e para o Grupo AAS nas três diferentes concentrações.

QUADRO 2 - Resultados da análise de variância inteiramente ao acaso para os Grupos controle e AAS nas concentrações de 0,25%, 0,50% e 0,75%.

GRUPO	TOTAL	MÉDIA	VARIÂNCIA	DESVIO PADRÃO	DESVIO PADRÃO DAS MÉDIAS
CONTROLE	48540	4045	0047	0218	0063
AAS 0,25%	36010	3001	0005	069	0020 *
AAS 0,50%	33350	2779	0002	0048	0014 *
AAS 0,75%	33470	2789	0004	0062	0018 *

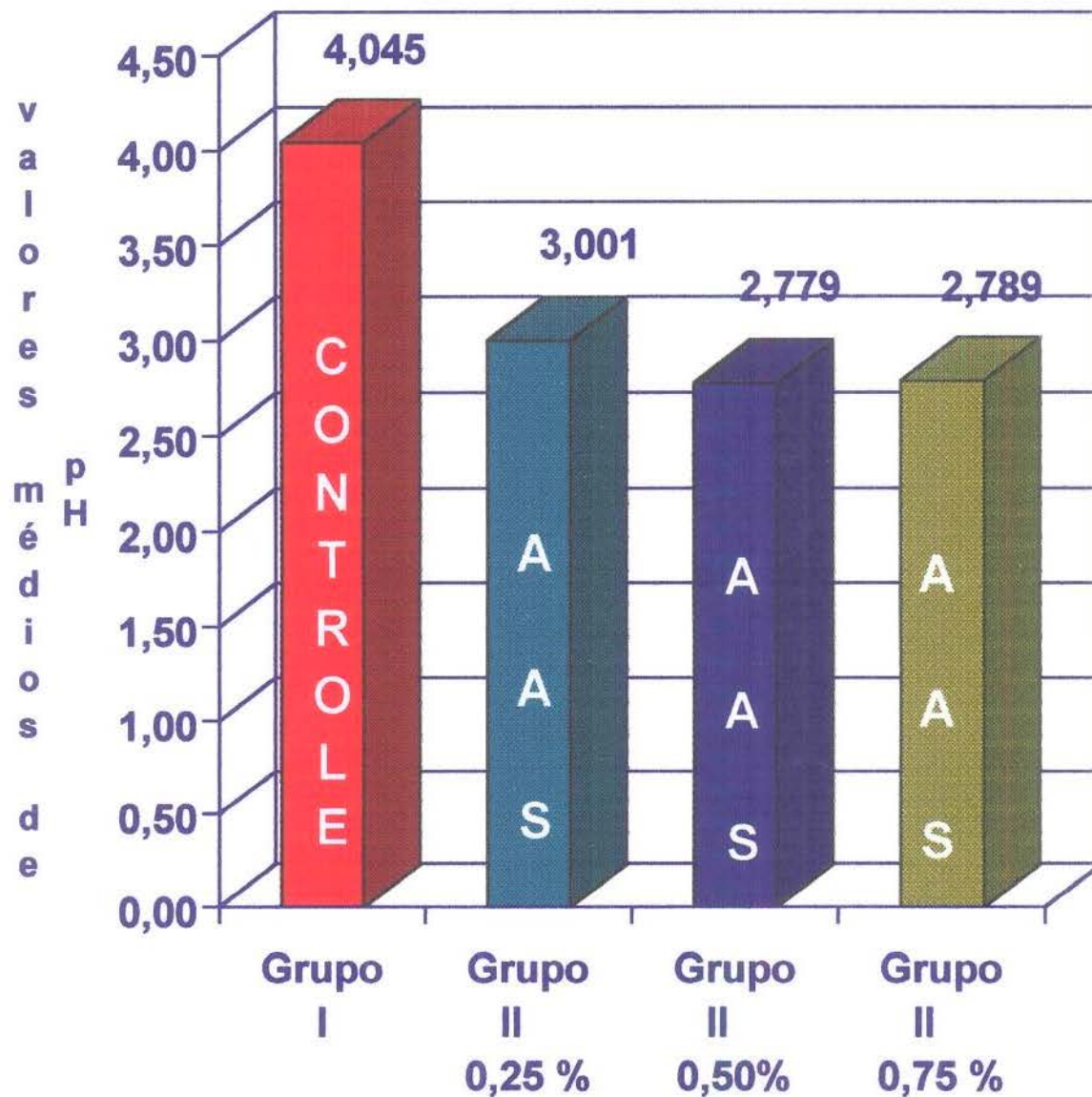
* - Estatisticamente significante ao nível de 5% quando comparado ao Grupo controle.

TABELA 1. VALORES DE pH DO SUCO GÁSTRICO DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM AAS (Grupo II) E CAMUNDONGOS CONTROLES.

VALORES DE pH

ANIMAL	GRUPO CONTROLE (I)	GRUPO AAS		
		0,25 %	0,50 %	0,75 %
1	3,98	2,96	2,74	2,78
2	3,95	2,92	2,90	2,90
3	4,05	2,99	2,74	2,82
4	3,92	3,09	2,78	2,76
5	3,75	3,11	2,74	2,74
6	3,66	3,12	2,75	2,68
7	4,24	2,99	2,73	2,74
8	4,20	2,92	2,77	2,78
9	4,05	2,96	2,82	2,83
10	4,32	2,97	2,80	2,85
11	4,03	3,00	2,78	2,74
12	4,39	2,98	2,80	2,85

GRÁFICO 1. VALORES DAS MÉDIAS DO pH DO GRUPO CONTROLE E DO GRUPO II (AAS).



A tabela 2 mostra os resultados obtidos com a adição de álcool ao interior gástrico, em três concentrações diferentes, de 5%, 10% e 20%.

Pode-se observar na tabela que o álcool foi responsável por aumento do valor de pH do suco gástrico, estatisticamente significativo, independentemente da dose utilizada.

No gráfico 2 podemos notar as diferenças das médias das três concentrações utilizadas de álcool e da média do Grupo controle.

Notamos, entretanto, que não houve diferenças estatísticas, ao nível de 5%, entre as diferentes concentrações de álcool utilizadas, como pode ser verificado no quadro 3.

QUADRO 3 - Resultados da análise de variância inteiramente ao acaso para os grupos controle e álcool a 5%, 10% e 20%.

GRUPO	TOTAL	MÉDIA	VARIÂNCIA	DESVIO PADRÃO	DESVIO PADRÃO DAS MÉDIAS
CONTROLE	48540	4045	0047	0218	0063
ÁLCOOL 5%	51220	4268	0021	0146	0042 *
ÁLCOOL 10%	56240	4687	0109	0329	0095 *
ÁLCOOL 20%	53170	4431	0173	0416	0120 *

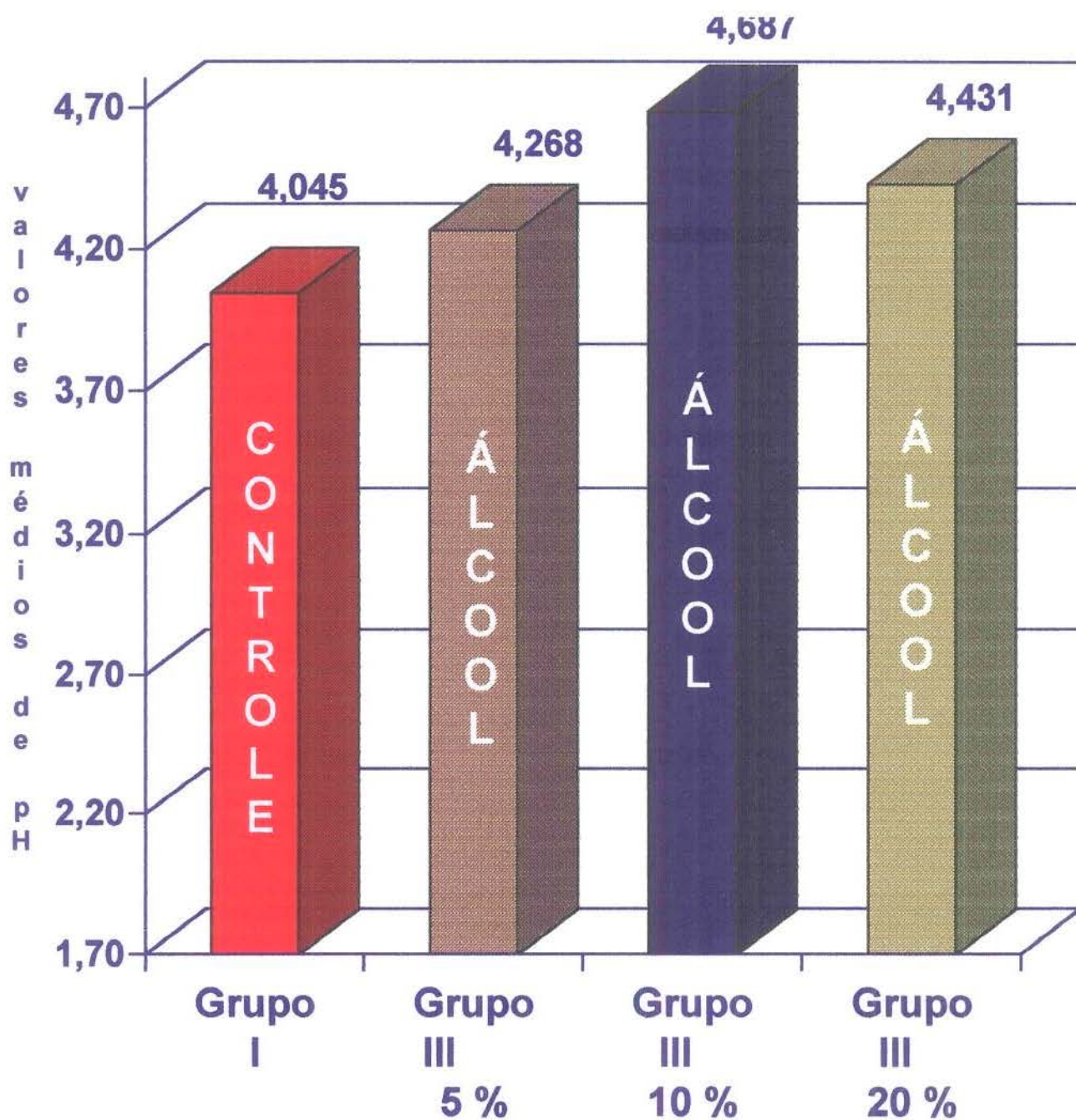
* - Estatisticamente significante ao nível de 5% quando comparado ao Grupo controle.

TABELA 2. VALORES DE pH DO SUCO GÁSTRICO DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM ÁLCOOL (Grupo III) E CAMUNDONGOS CONTROLES.

VALORES DE pH

ANIMAL	GRUPO CONTROLE (I)	GRUPO III ALCOOL		
		5 %	10 %	20 %
1	3,98	4,32	4,47	3,74
2	3,95	4,38	5,00	4,57
3	4,05	4,45	4,90	4,26
4	3,92	4,38	5,39	4,31
5	3,75	4,07	4,95	5,42
6	3,66	3,95	4,66	4,26
7	4,24	4,35	4,45	4,45
8	4,20	4,26	4,40	4,40
9	4,05	4,20	4,86	4,38
10	4,32	4,23	4,40	4,65
11	4,03	4,23	4,38	4,75
12	4,39	4,40	4,38	3,98

GRÁFICO 2. VALORES DAS MÉDIAS pH DO GRUPO DE CONTROLE E DO GRUPO III (ÁLCOOL).



A tabela 4 mostra os valores de pH alcançados com a aplicação de cafeína ao interior gástrico e os resultados do grupo controle.

Todas as concentrações de cafeína, ainda que de forma não tão expressiva como a indometacina, aumentaram os valores de pH do conteúdo gástrico.

Houve significância estatística entre as três concentrações diferentes de cafeína utilizadas e o Grupo controle, porém não puderam ser notadas diferenças significativas entre as diferentes doses, como pode ser verificado no quadro 5.

O gráfico 4 mostra a comparação entre as médias obtidas do Grupo controle e do Grupo cafeína nas concentrações de 0,05%, 0,10% e 0,25%.

QUADRO 5 - Resultado da análise de variância inteiramente ao acaso para os Grupos controle e cafeína nas concentrações de 0,05%, 0,10% e 0,25%.

GRUPO	TOTAL	MÉDIA	VARIÂNCIA	DESVIO PADRÃO	DESVIO PADRÃO DAS MÉDIAS
CONTROLE	48540	4045	0047	0218	0063
CAFEÍNA 0,05%	54780	4565	0107	0327	0094 *
CAFEÍNA 0,10%	55180	4598	0122	0350	0101 *
CAFEÍNA 0,25%	53230	4436	0278	0527	0152 *

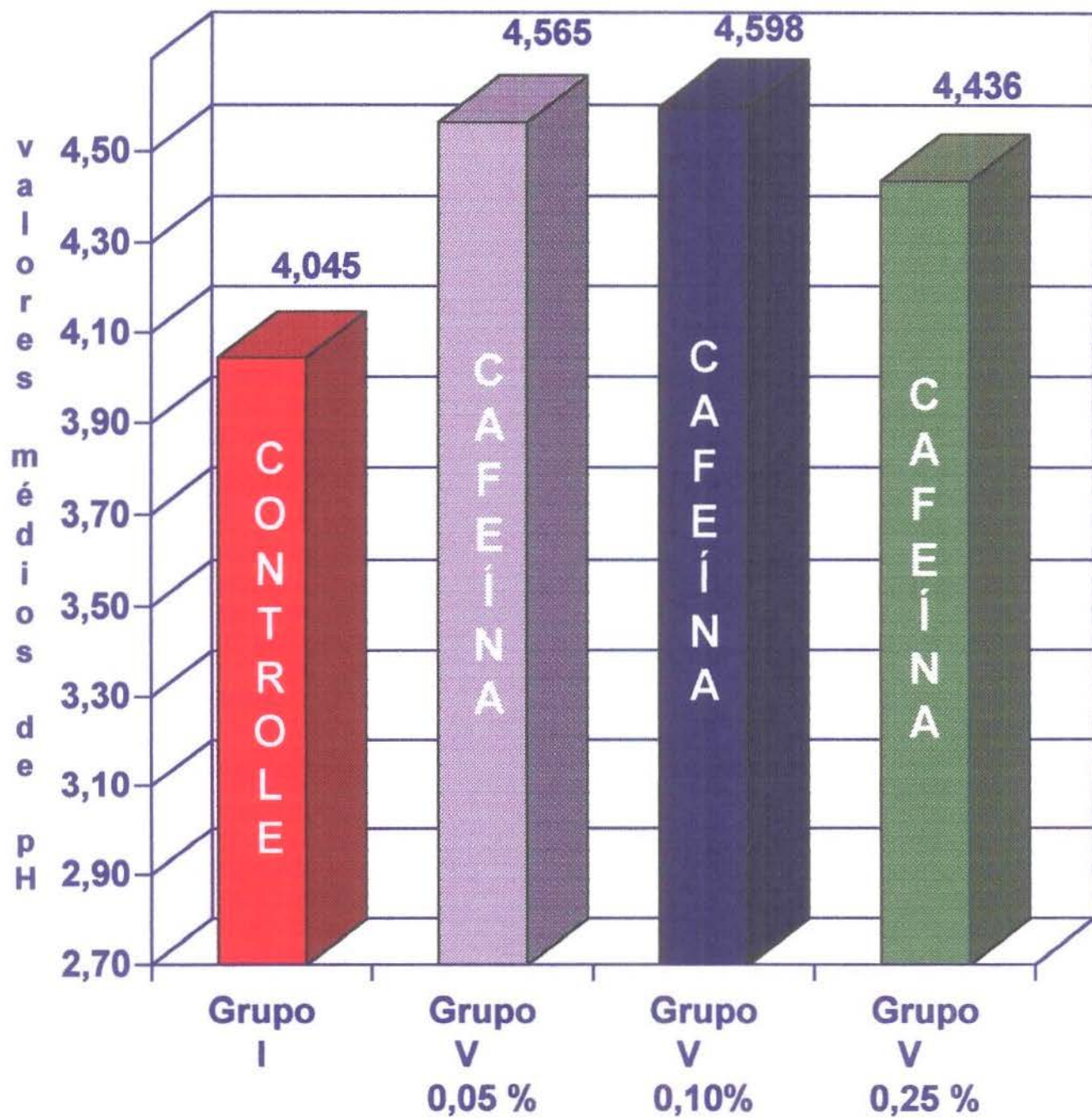
* - Estatisticamente significante ao nível de 5%, quando comparado ao Grupo controle.

TABELA 4. VALORES DE pH DO SUCO GÁSTRICO DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM CAFEÍNA (Grupo V) E CAMUNDONGOS CONTROLES.

VALORES DE pH

ANIMAL	GRUPO	GRUPO	V	CAFEÍNA
	CONTROLE (1)	0,25 %	0,50 %	0,75 %
1	3,98	4,24	4,63	3,72
2	3,95	4,20	5,12	4,64
3	4,05	4,25	4,82	4,14
4	3,92	4,45	4,76	3,72
5	3,75	4,60	4,97	4,44
6	3,66	4,31	4,68	4,24
7	4,24	4,31	4,81	5,36
8	4,20	4,98	4,53	4,12
9	4,05	5,01	4,60	4,36
10	4,32	4,63	4,00	4,30
11	4,03	4,68	4,07	5,00
12	4,39	5,12	4,19	5,19

GRÁFICO 4. VALORES DAS MÉDIAS pH DO GRUPO DE CONTROLE E DO GRUPO V (CAFEÍNA).



Já na tabela 5 são mostrados os resultados obtidos com a utilização de fluoreto de sódio (Grupo VI) e do Grupo controle (I).

O fluoreto de sódio foi responsável por aumento do valor de pH do suco gástrico de forma inversamente proporcional à concentração utilizada.

A concentração de 10 partes por milhão de fluoreto de sódio promoveu elevação significativa do valor do pH em comparação ao Grupo controle.

A dose de 25 ppm, ainda que de forma menos expressiva, também aumentou os valores de pH do conteúdo estomacal.

Entretanto, a dose de 50 ppm, não mostrou diferença estatisticamente significativa quando comparada ao Grupo controle.

Os resultados obtidos com as três diferentes concentrações de fluoreto de sódio, quando comparadas entre si, mostraram diferenças significativas como pode ser comprovado pelo quadro 6.

No gráfico 5, podemos notar que a menor concentração de NaF promoveu maior inibição da secreção ácida estomacal que a mostrada pela concentração mediana de 25 ppm. A maior concentração de NaF (50 ppm) obteve o menor valor de pH das três doses utilizadas.

QUADRO 6 - Resultado da análise de variância inteiramente ao acaso para os Grupos controle e NaF nas concentrações de 10, 25 e 50 partes por milhão.

GRUPO	TOTAL	MÉDIA	VARIÂNCIA	DESVIO PADRÃO	DESVIO PADRÃO DAS MÉDIAS
CONTROLE	48540	4045	0047	0218	0063
NaF 10 PPM	60680	5057	0181	0425	0123 *
NaF 25 PPM	54610	4551	0246	0496	0143 *
NaF 50 PPM	47050	3921	0160	0400	0116

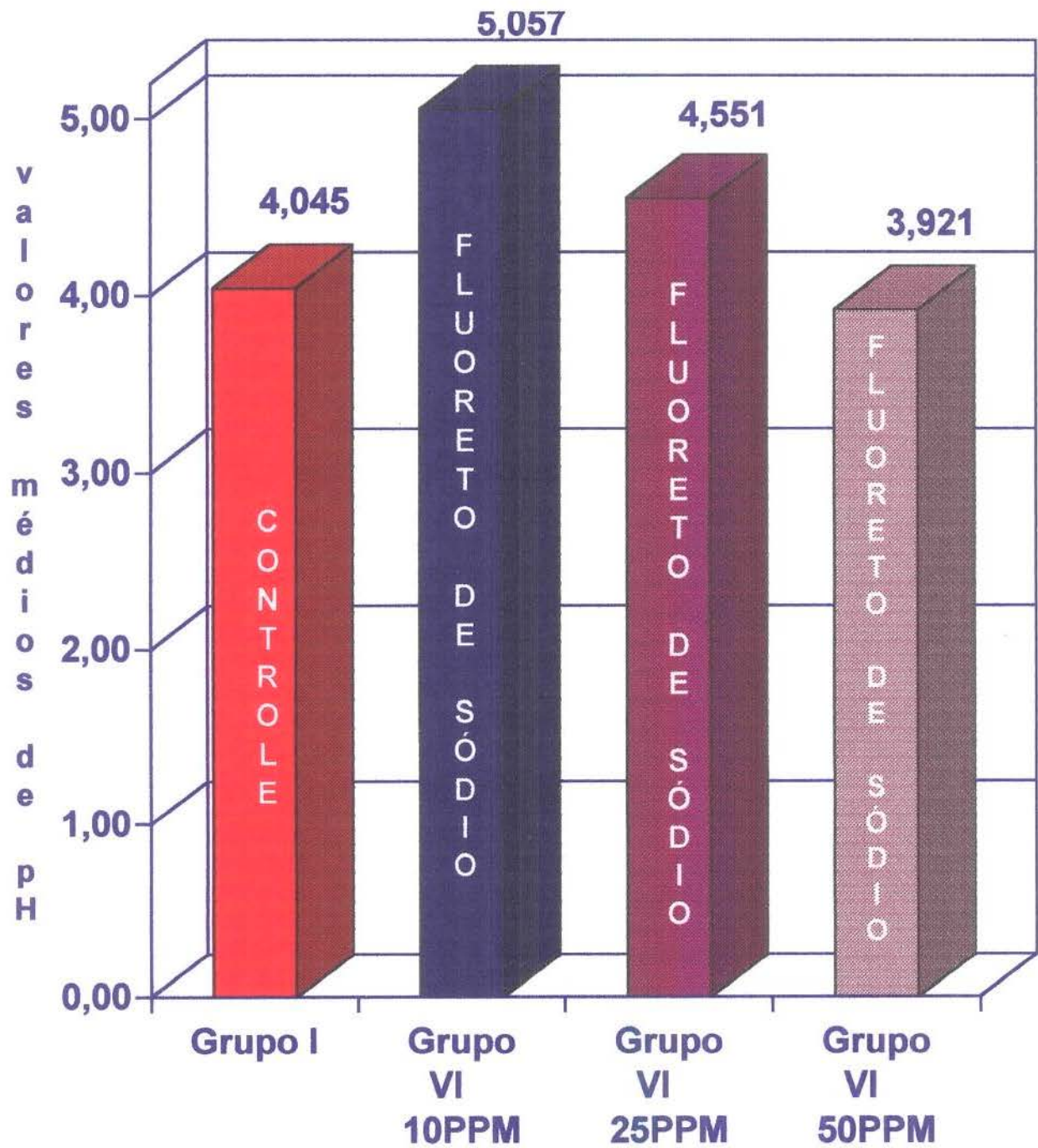
* - Estatisticamente significante ao nível de 5%, quando comparado ao Grupo controle.

TABELA 5. VALORES DE pH DO SUCO GÁSTRICO DE CAMUNDONGOS TRATADOS COM NaF (Grupo VI) E CAMUNDONGOS CONTROLES.

VALORES DE pH

ANIMAL	GRUPO CONTROLE (I)	GRUPO	VI	NaF
		10 PPM	25 PPM	50 PPM
1	3,98	5,46	4,05	3,75
2	3,95	5,36	4,39	3,68
3	4,05	5,40	4,76	3,96
4	3,92	4,90	4,07	3,76
5	3,75	5,78	5,33	4,04
6	3,66	4,94	4,95	3,96
7	4,24	4,74	4,83	3,89
8	4,20	4,51	4,20	3,14
9	4,05	4,90	4,05	3,63
10	4,32	4,36	5,41	4,04
11	4,03	5,41	4,46	4,59
12	4,39	4,92	4,11	4,61

GRÁFICO 5. VALORES DAS MÉDIAS DE pH DO GRUPO DE CONTROLE E DO GRUPO VI (FLUORETO DE SÓDIO).



8. DISCUSSÃO.

8. DISCUSSÃO:

Neste trabalho foi excluída a fase cefálica e intestinal da indução de secreção ácida assim como sua interrelação com outros órgãos e sistemas estabelecendo as ações diretamente exercidas pelas drogas usadas sobre a mucosa gástrica.

Uma das explicações do mecanismo de produção de ácido pelas células parietais, indica, como mediador final, a histamina, que age através de receptores da célula parietal chamados de H₂ (diferentes dos H₁ de outros tecidos), estimulando o AMP cíclico que desencadeia, com dispêndio de energia, a secreção de H⁺

A acetilcolina e a gastrina atuam como intermediários na liberação de histamina, e esta possui a ação químico-estimulante sobre a célula parietal, resultando na produção de ácido. Desta forma, os anticolinérgicos competindo com a acetilcolina na célula (ação muscarínica) e na terminação nervosa (ação nicotínica), influenciam tanto na motilidade como na diminuição de produção ácida, bloqueando a secreção gástrica estimulada pela histamina.

Os anti-histaminicos amplamente aplicados na clínica médica na atualidade, bloqueiam a ação histamínica sobre a musculatura de vários órgãos, porém não possuem efeito inibidor sobre a célula parietal. Para atuarem sobre a célula parietal, os anti-histamínicos devem ser inibidores de receptores H tipo 2, como é o caso da cimetidina e ranitidina.

O ácido acetil salicílico, como pode ser verificado pelos resultados deste trabalho, abaixou o pH do conteúdo gástrico sinalizando claramente para uma indução à secreção clorídrica pelas células parietais. Estes achados vêm ao encontro com os resultados da literatura verificados por **AUGUR (1970)** e **BRUGGEMAN et al. (1979)**

AUGUR (1970) e **BRUGGEMAN et al. (1979)**, comprovaram que o ácido acetil salicílico leva a uma destruição da barreira da mucosa gástrica, o que permite retrodifusão de H^+ para o interior da mucosa estomacal. Esta retrodifusão de H^+ promove a liberação de histamina nos tecidos, levando a uma conseqüente vasodilatação e mais produção clorídrica pelas células parietais. Esta é uma explicação adequada aos achados deste nosso trabalho quando utilizando dose de 0,75% não foi possível mais abaixar o pH do conteúdo gástrico. Nesta dose a barreira da mucosa já teria sido totalmente destruída e a retrodifusão de H^+ seria máxima ou a capacidade secretória de ácido teria alcançado um valor máximo.

Entretanto, **GORDON et al. (1980)**, trabalhando em cães, concluíram que a aspirina reduziu a vazão vascular estomacal em 31%.

Este resultado pode ter sido obtido pelo efeito do ácido acetil salicílico sobre os receptores H tipo 1 da musculatura vascular estomacal ou inibindo os produtos do ácido aracdônico, sem que tenha sido comprometida a barreira gástrica para que ocorresse retrodifusão de H⁺ para a mucosa, como nos achados de **AUGUR (1970)** e **BRUGGEMAN et al. (1979)**.

O efeito da vasodilatação estomacal sobre a secreção ácida parece estar controvertido pelos achados de **GERKENS et al. (1978)**, que concluíram que as prostaglandinas, levam à vasodilatação e diminuição da secreção ácida. Deve-se relevar, entretanto, que a vasodilatação promovida pelas prostaglandinas não era mediada por lesão capilar como a ocorrida na retrodifusão de H⁺.

GORDON et al. (1980), também observaram uma redução da vazão vascular, em 52%, mediada pela indometacina. Este achado vem ao encontro com os relatos de **GERKENS et al. (1978)**, já que a indometacina é inibidora dos produtos do ácido aracdônico.

A diminuição da concentração de prostaglandinas, na mucosa gástrica, com o uso de indometacina pode ser verificada na literatura com os resultados dos trabalhos de **GOTO et al. (1989)**, **BROOKS et al. (1993)** e **WOOD et al. (1993)**

PIQUE et al. (1988), trabalhando com ratos com hipertensão portal induzida, não observaram alteração na secreção ácida com a utilização de indometacina, porém houve diminuição da vazão sangüínea estomacal.

GOTO et al. (1989), verificaram inibição da presença de prostaglandinas a partir da dose de 2mg/kg de indometacina, com total ausência de prostaglandinas a partir da dose de 12 mg/kg. Os autores notaram também o aparecimento de lesões estomacais com a utilização de indometacina.

BROOKS et al. (1993), comparando dois anti-inflamatórios não esteróides, verificaram a inibição da 5-lipooxigenase, 15-lipooxigenase e da prostaglandina sintetase, o que proporciona uma explicação para os achados de **PIQUE et al. (1988)**

Parece que as prostaglandinas influenciam duplamente o processo secretório das células parietais. A vasodilatação, como verificado na literatura, é responsável por aumento da secreção de íons H⁺. Esta vasodilatação pode ser mediada tanto pelas prostaglandinas como pela histamina.

PUURUNEN et al. (1977), sugeriram que as prostaglandinas podiam determinar uma diminuição do nível de AMP cíclico com inibição da atividade secretória pelas células parietais. Numa análise conjunta destes fatores, devemos lembrar que, se por um lado as prostaglandinas determinam vasodilatação e secreção de H⁺ podem, por outro lado, determinar diminuição da concentração de AMP cíclico com efeitos inibitórios sobre a secreção.

GERKENS et al. (1978), postularam que as prostaglandinas possuíam um efeito sistêmico de retro-inibição sobre a atividade secretória ácida da mucosa gástrica paralelamente ao efeito excitatório determinado pela vasodilatação. Este sistema de retro-inibição, pode, como **PUURUNEN et al. (1977)** sugeriram, envolver o AMP cíclico.

Desta forma poder-se-ia compreender os efeitos inibitórios da indometacina sobre a secreção ácida encontrados neste trabalho. Utilizando estômagos isolados "in vitro", determinar-se-ia a depleção do sistema de retro-inibição das prostaglandinas sobre a secreção parietal. A ausência de prostaglandinas levada pela indometacina determinaria simplesmente diminuição da vazão vascular e queda da atividade secretória de ácido pela mucosa estomacal.

Efeitos contrários, "in vivo" e "in vitro", também foram verificados por **CANFIELD & PARASKEVA (1981)**, devido a ações sistêmicas das drogas utilizadas.

Efeitos sistêmicos de drogas também podem ser responsabilizados pela vasodilatação, como determinada por **WOOD (1993)**, com a utilização de álcool. Esta vasodilatação não foi afetada com a aplicação prévia de indometacina.

A vazão vascular aumentada e conseqüente aumento na secreção ácida pelo estômago foram verificados por **AUGUR (1970)** e **WOOD et al. (1993)**.

Entretanto, De **SAINT - BLANQUAT et al. (1969)**, **PUURUNEN & KARPPANEN (1975)**, **PUURUNEN et al. (1977)** e **TAGUE & SHANBOUR (1977)** verificaram que o álcool possui efeito inibitório sobre a capacidade de secreção ácida pela mucosa estomacal "in vivo" e "in vitro". **PUURUNEN et al. (1977)**, sugeriram que esta inibição podia estar relacionada à diminuição do nível de AMP cíclico ou devido ao aumento de formação de prostaglandinas. Os autores verificaram a queda da concentração de AMP cíclico somente na mucosa estomacal superficial, onde estão presentes a grande maioria das células parietais.

TAGUE & SHANBOUR (1977), confirmaram “in vivo” e “in vitro” a redução de ATP na mucosa gástrica após a administração de etanol a 13,7% (redução de 50% do ATP) e a 20% (redução de 96% do ATP). **AUGUR (1970)**, lembrou que o álcool provoca depressão do centro vasomotor, o que levaria à vasodilatação venular, redução da resistência periférica e aumento de secreção de íons H⁺.

Neste trabalho, sem os possíveis efeitos do álcool sobre o centro vasomotor, uma vez que os estômagos estavam isolados, foi possível notar o efeito inibitório do álcool sobre a atividade secretória das células parietais do estômago.

A cafeína mostrou-se inibidora da secreção de ácido pelo estômago na forma de dose não dependente, já que não pode ser estabelecida uma relação entre a dose de cafeína utilizada e a inibição da secreção.

O fluoreto de sódio foi também um inibidor da secreção ácida da mucosa gástrica. Entretanto foi possível estabelecer uma relação de dose dependência. Foram administradas três concentrações de fluoreto de sódio: 10 ppm, 25 ppm e 50 ppm.

Os resultados mostraram grande inibição da secreção de íons H^+ pela mucosa estomacal com a utilização da dose de 10 ppm. Com o uso de 25 ppm de fluoreto de sódio, pode ser observada, ainda que menos intensa, inibição na atividade das células parietais, porém, na concentração de 50 ppm, não ocorreram diferenças estatisticamente significantes em relação ao Grupo controle. Maiores pesquisas serão necessárias para o estabelecimento de uma explicação adequada a estes achados.

9. CONCLUSÕES

9. CONCLUSÕES.

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- O ácido acetil salicílico **estimula** a secreção ácida do estômago isolado, com uma relação de dose dependência limitada proporcional ao aumento da dose, até um patamar de saturação, quando o aumento da concentração não promove maior aumento de secreção;
- O álcool interfere na secreção ácida do estômago isolado, **inibindo-a**, sem relação de dose dependência;
- A indometacina interfere na secreção ácida do estômago isolado, **inibindo-a**, sem relação de dose dependência;
- A cafeína interfere na secreção ácida do estômago isolado, **inibindo-a**, de forma não dose dependente;
- O fluoreto de sódio interfere na secreção ácida do estômago isolado, **inibindo-a**, de forma dose dependente, onde quanto maior a dose, menor a taxa de inibição; a dose de 50ppm não interferiu na secreção ácida estomacal.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. **AUGUR, N.A.** Gastric mucosal blood flow following damage by ethanol, acetic acid, or aspirin Gastro-genterology, v.58, n.3, p.311-320, March, 1970.
2. **AVALOS, A. A. et al.** Efectos del aloe barbadensis sobre las lesiones y la secreción gástricas producidas por etanol y estrés en ratos. Revista Cubana Farmacología, v.23, n.3, Sept., 1989.
3. **BROOKS, R. R. et al.** Gastrin toxicity and prostaglandin content in rats dosed with two chemically similar, nonsteroidal anti-inflammatory agents. Proceedings of the Society For Experimental Biology And Medicine, v.202, n.2, p.233-8, February, 1993.
4. **BRUGGEMAN, T.M. et al.** Local control of blood flow in the dog's stomach: vasodilatation caused by acid back diffusion following topical application of salicylic acid. Gastroenterology, v.77, n.4, p.736-744, October, 1979.

5. **CANFIELD, P., PARASKEVA, P.** Beta adrenoceptor agonist stimulation of acid secretion by rat stomach In vitro stimulated by atypical beta adrenoceptors. British Journal of Pharmacology, v.106,n.3,p.583-586,July, 1992.
6. **CANFIELD, S. P., PRICE, C. A.** A comparison of the effects of simpatomimetic agents on gastric acid secretion by the rat stomach "in vivo" and "in vitro". The Journal of Physiology, v.316,p.11-21, July, 1981.
7. **De SAINT-BLANQUAT, et al.** Réponse de l'estomac isolé de rat sous l'effet de l'éthanol. Journal of Physiology, V.61, p.435-445, 1969.
8. **DOROTHEA, A. et al.** Effects of increased gastric mucosal histamin on alcohol - induced gastric damage In rats. The American Journal of Digestive Diseases, v.27, n.4, April, 1982.
9. **GERKENS, J.F. et al.** Effect of PGI₂, PGE₂, and 6- Keto PGF₁ alfa on canine gastric blood flow and acid secretion. Prostaglandins, v.16, n.5, p.815-823, November, 1978.

10. **GORDON,L.K. et al.** Intravenous indometacin and aspirin reduce basal gastric mucosal blood flow In dogs. American Journal of Physiology, v.238, n.2, p.G131-134, February, 1980.

11. **GOTO, H. et al.** The role of prostaglandin D2 In the genesis of indometacin - induced gastric lesions In rats. Scandinavian Journal of Gastroenterology, v.24, n.162, p.91-94, 1989.

12. **HARRY, S. et al.** A quantitative method for measuring spontaneuos gastric secretion In the rat. Gastroenterology, v.26, p.906-13, 1954.

13. **KOHÚT, A. et al.** Effects of sialoadenectomy on stomach lesions induced by indometacin and ethanol In relation to gastric vascular permeability , the gastrin level and HCl secretion In rats. Physiology Research, v.41, p.381-6, 1992.

14. **PIQUE, J. M. et al.** Gastric mucosal blood flow and acid secretion In portalthipertensive rats. Gastroenterology, v.95, n.3, p.727-733, September, 1988.

15. PUURUNEN, J., KARPPANEN, H., Effects of ethanol on gastric acid secretion and gastric mucosal cyclic AMP In the rat, Life Science, v.16, p.1513-1518, 1975.
16. PUURUNEN, J. et al. Ethanol induced changes in gastric mucosal content of cyclic amp and atp In the rat. European Journal Pharmacology, v.42, n.1, p.85-89, March, 1977.
17. SANDVIK, A. K. et al. Gastrin produces an immediate and dose dependent histamine release preceding acid secretion In the totally isolated, vascular perfused rat stomach. Scandinavian Journal of Gastroenterology, v.22, n.7, p.803-808, 1987.
18. STEBBINS, C. L. et al. Cardiovascular reflexes avoid by histamin stimulation of the stomach. American Journal of Physiology, v.260,n.4, April, 1991.
19. TAGUE, L. L., SHANBOUR, L. L. Effects of ethanolon bicarbonate - stimulated atpase, atp, and cyclic amp In canine gastric mucosa. Experiences Biology and Medicine,v.154,n.1, p.37-41, Jan, 1977.

20. WOOD, J. G. et al. Adenosine is a mediator of ethanol - induce - gastric vasodilatation In dogs. American Journal of Phydiology, v.264, n.4, p.G664-670, April, 1993.

21. YOKOTAN, K. et al. Release of endogenous noradrenaline from the vascularly perfused rat stomach "in vitro" modulation by pre and post synaptic adrenoceptors. The Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics, v.260, n.2, p.728-733,February, 1992