

SÍLVIA MARQUES PIERRE

Este exemplar corresponde a edição final da tese defendida pela candidata Sílvia Marques Pierre e aprovada pela comissão julgadora.

Unicamp, 14 Junho 1988

M. M. F. Meirelles.

**PRODUÇÃO DE LESÕES GÁSTRICAS PETEQUIAIS EM RATOS PELA
IMOBILIZAÇÃO; EFEITOS DA CONTRA-IRRITAÇÃO.**

Orientador: Urbano M.F. Meirelles

Campinas - 1988

Ao meu pai

e ao *Guillermo*

"Os homens são fortes enquanto representam uma idéia forte; enfraquecem-se quando se opõem a ela".

Sigmund Freud

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	2
- Barreira Muco-Bicarbonato	7
- Estrutura e Propriedades do Muco	9
- Citoproteção e Prostaglandinas	12
. Fluxo Sangüíneo da Mucosa Gástrica	15
. Secreção de Muco	16
. Barreira da Mucosa Gástrica	18
- Citoproteção Adaptativa	19
- Contra-Irritação	20
MATERIAL E MÉTODOS	28
I) Material	28
II) Métodos	30
RESULTADOS	37
I) Lesões Gástricas pela Imobilização de Ratos	37
A) Relação entre peso dos animais e lesões gástricas provocadas pela imobilização	37
B) Relação entre a perda de peso no período de jejum ante rior à imobilização e intensidade das petéquias gás- tricas	38
C) Influência de temperatura ambiente sobre as lesões gás- tricas petequiais	38
D) Influência de diferentes tratamentos sobre a produção de lesões gástricas pela imobilização de ratos; compa-	

	ração entre animais de diferentes procedências	40
E)	Efeito da posição do animal à imobilização sobre a severidade das lesões gástricas	41
II)	Irritação Peritoneal e Lesões Gástricas	42
A)	Influência da carrageenina (CRRG) por via intraperitoneal, sobre as lesões gástricas pela imobilização	42
B)	Efeito do sulfato de zinco sobre as lesões gástricas provocadas pela imobilização	44
C)	Efeito do cloreto cúprico sobre a produção de lesões petequiais pela imobilização	44
D)	Efeito da N-acetilcisteína sobre a produção de lesões gástricas pela imobilização	47
III)	Irritação Gástrica Prévia e Lesões Gástricas pela Imobilização	49
A)	Efeito do cloreto de sódio hipertônico sobre a indução de lesões gástricas pela imobilização	49
B)	Efeito da solução aquosa hipertônica de sacarose sobre as lesões gástricas produzidas por imobilização	52
C)	Efeito da solução de glicose hipertônica sobre as lesões gástricas induzidas pela imobilização	54
D)	Efeito do sulfato cúprico sobre as lesões provocadas pela imobilização	56
E)	Efeito do cloreto de cobre II sobre as lesões da mucosa gástrica induzidas pela imobilização	59
IV)	Tempo de Permanência no Estômago de Soluções de Concentrações Variadas	61

DISCUSSÃO	65
CONCLUSÕES	95
SUMMARY	97
BIBLIOGRAFIA	99

INTRODUÇÃO

Erosões da mucosa gástrica são achados freqüentes em pacientes gravemente traumatizados, em grandes queimados, pacientes com septicemias ou no pós-operatório de cirurgias extensas. Admite-se que a freqüência dessa afecção seja em geral subestimada, uma vez que seu diagnóstico é feito quando existe sangramento gastrointestinal ou perfuração gástrica (Sonnemberg, 1985; Moody e cols., 1976). A etiologia e patogenia destas lesões são de difícil caracterização (Lucas e cols., 1972).

A úlcera gástrica não é, provavelmente, uma entidade nosológica simples e muitos fatores podem influir nos diferentes tipos de úlcera (Johnson, 1965). Há considerável evidência indicando que alguns indivíduos possuem maior risco de desenvolver úlcera péptica que outros. Homens são mais afetados que mulheres e há ainda uma concentração familiar (Doll e Buch, 1950; Rhodes, 1972). O componente genético favorecendo o aparecimento de úlcera gástrica se reforça pela observação da ocorrência de elevada concordância em gêmeos homozigotos (Riecker, 1946).

Susser (1962), estudando a incidência de úlcera gástrica na Inglaterra, interpretou as flutuações na taxa de mortalidade por essa doença como um fenômeno relacionado a grupos ligados à época de nascimento. Assim, indivíduos da mesma época de nascimento teriam o mesmo risco de morte por úlcera péptica. Observou-se que gerações nascidas no último quarto do século XIX manifestaram maior risco de óbito por úl-

cera gástrica, o qual os acompanhou na sua vida adulta. Esse risco relacionado à época de nascimento é dependente de certos fatores inerentes ao indivíduo e também ambientais, bem como ainda da ocorrência de fatos desencadeantes. Desta forma, para que a lesão ocorra, outros fenômenos devem se manifestar (Susser, 1962).

Em relação à úlcera gástrica experimental provocada em diferentes cepas de ratos, observou-se que a severidade das lesões é maior para ratos albinos Wistar. Diferenças entre sexos, quanto à gravidade, foram surpreendidas unicamente entre os machos e fêmeas Hooded Wistar, sugerindo, mais uma vez, que influências genéticas sejam responsáveis, também nessa espécie, pelas diferenças observadas (Wilson, 1967).

Além dos aspectos genéticos, as relações úlcera gástrica-úlcera duodenal e suas respectivas incidências entre homens e mulheres mostram grandes variações geográficas e temporais. Assim, a úlcera gástrica ocorre cinco a dez vezes mais freqüentemente que a duodenal no Japão, enquanto que em muitos países europeus e nos Estados Unidos da América a úlcera duodenal é duas vezes mais freqüente que a gástrica. A taxa de mortalidade tanto por úlcera gástrica como duodenal é maior em homens que em mulheres, nos diferentes países europeus (Sonnemberg, 1985).

Sabe-se também que as dietas influenciam a ocorrência de patologias gástricas, além de constituírem elemento importante no seu tratamento, sendo que o tipo de alimento pode modificar a função gástrica. Refeições ricas em proteínas reduzem a acidez por maior período de tempo, em relação à mesma redução por substâncias não protéicas, enquanto que dietas

ricas em fibras, além da elevação do pH intragástrico provocam queda na concentração de pepsina, tanto em experimentos "in vitro" como "in vivo". Estudos clínicos em animais e no homem levam a crer que a dieta rica em fibras protege contra o desenvolvimento de úlcera péptica (Rydning e Berstad, 1985), enquanto que o elevado consumo de café e de bebidas do tipo "cola" são apontados como fatores facilitadores (Coggon e cols., 1981).

Tanto a inflamação aguda do estômago como erosões e úlceras superficiais podem resultar de agressões de maior ou menor intensidade atingindo, por exemplo, o sistema nervoso central ou a pele nos grandes queimados, constituindo neste caso, a chamada úlcera de Curling. Qualquer tipo de agressão grave pode dar origem à essa afecção, cuja patogenia é reconhecidamente complexa. Mecanismos defensivos são solicitados, reconhecendo-se como importantes a barreira da mucosa à difusão iônica, a nutrição da mucosa, o fluxo sanguíneo local e a ação de moduladores da secreção gástrica. São conhecidas as participações do sistema nervoso, principalmente da atividade vagal, sobre a secreção gástrica, o papel da gastrina e o da histamina. Em condições de estresse a estimulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal pode levar ao envolvimento de praticamente todo o organismo, modificando-o, buscando estabelecer nova condição de equilíbrio com o ambiente, constituindo-se, em conjunto, na síndrome geral de adaptação descrita por Selye, em 1936. Se finalmente, nos recordarmos, sem qualquer pretensão de catalogação, dos numerosos fatores participantes desse fenômeno adaptativo, do componente psíquico com maior ou menor participação, podemos desde logo avaliar as enormes dificulda-

des de se encontrar um modelo animal para experimentação nesse campo, o qual reflita adequadamente as manifestações no homem.

Singer (1913) conseguiu produzir lesões no estôma go de ratos, em seu laboratório, alimentando-os com dieta consistindo de pão misturado com fezes dos animais ou de fragmentos intestinais triturados. No mesmo ano, Febiger e cols. (citados por Shay e cols., 1945) descreveram a formação de papiloma gástrico no rúmen de ratos alimentados com baratas infestadas com nematóides do tipo Gangilonema neoplastica. Esses autores acreditavam que essas lesões tivessem origem infecciosa, causada por algum microrganismo presente em alguma parte do trato gastrointestinal que não o estômago.

Em 1936 Selye observou que um dos sinais de estresse agudo pelo abaixamento da temperatura ambiente a 1-3°C era o aparecimento de erosões gastrointestinais em ratos. Contudo, a patogenia dessas lesões não pôde ser esclarecida.

Fatores hormonais, mediados pela atividade das glândulas adrenais, parecem ter relevante papel nessa patologia gástrica. Para Brodie e Hanson (1960), os corticosteróides exercem efeito protetor, pelo menos durante os períodos agudos de imobilização. Também hormônios da camada medular das adrenais exercem sua influência nesse processo. Foi observado que adrenalina ou noradrenalina, administrada sistemicamente, pode produzir lesões gástricas em ratos (Moody e cols., 1976). Essa lesão experimental está relacionada com modificações da microcirculação da mucosa gástrica. Já, em 1853, Virchow (citado por Guth e Hall, 1966) postulou que a úlcera péptica era uma patologia essencialmente vascular, decorrendo de isquemia focal, da trombose e estase que levam à desvitalização da mucosa e

subseqüente auto-digestão e ulceração. Mais de cem anos depois foi demonstrado aumento significativo do volume sanguíneo na mucosa, imediatamente abaixo do epitélio da região glandular do estômago de ratos, em resposta ao estresse da imobilização, logo aos trinta minutos do início desse procedimento. A área lesada envolvia a região hiperêmica da mucosa, adjacente ao rúmen (Guth e Hall, 1966). Em 1973, Mersereau e Hinchey demonstraram correlação entre a gravidade das lesões e a intensidade da isquemia e que a capacidade de remover quantidades normais de ácido está prejudicada em condições de reduzido fluxo sanguíneo. Isquemia generalizada da mucosa, a qual com o tempo se torna cada vez mais focal, foi também observada como alteração inicial em resposta ao estresse, por Hase e Moss em 1973. Esses autores sugerem que a isquemia seja resultado da atividade simpática. Garrick e cols (1986) demonstraram que, tal como acontece com a ingestão de alimento, a imobilização associada ao frio resulta em aumento da amplitude das contrações gástricas. Com o prolongamento do tempo de contenção, essas contrações se tornam menos frequentes, tendo-se observado reduções de até 56%, porém até três a quatro vezes mais prolongadas no tempo. Esse aumento no tempo de duração e a redução na freqüência parecem se relacionar com a formação das lesões. Para esses autores, as contrações prolongadas são mais importantes que a secreção gástrica na ulcero-gênese experimental pelo estresse imobilizatório, pela isquemia provocada nessa condição. Essas alterações são contudo, transitórias se a imobilização não estiver associada ao abaixamento da temperatura (Garrick e cols., 1986).

Já em 1945, Shay e cols. haviam proposto, como mo-

delo de inflamação gástrica pelo estresse, um procedimento cirúrgico envolvendo a ligadura do piloro em ratos. Com esta técnica, as lesões produzidas são principalmente de rúmen, raramente no corpo do estômago, resultado do contato prolongado do ácido e pepsina do suco gástrico com a mucosa. O estresse provocado pela imobilização é, entretanto, o modelo mais amplamente empregado para a produção de lesões gástricas experimentais. As lesões glandulares pela imobilização ocorrem sem destruição da barreira mucosa a cátions. Esse fato as diferencia das lesões químicas que, em geral, promovem destruição da superfície mucosa, com aumento da difusão retrógrada de íons hidrogênio (Moody e cols., 1976). Modificações desse procedimento têm sido registradas, todas com o objetivo de melhorar e facilitar o processo ulcerogênico. Algumas técnicas envolviam longos períodos de jejum antes da imobilização (Glavin e Mikhail, 1976; Senay e Levine, 1967), ou que esta se estenda por muitas horas (Brodie e Hanson, 1960; Pfeiffer, 1967). Em outro estudo, Senay e Levine (1967) demonstraram que a imobilização de ratos com simultânea exposição a temperaturas entre 4 e 7°C produz lesões gástricas após período de apenas duas horas. Posteriormente, a posição do corpo do animal imobilizado foi analisada por Vincent e cols. (1977), observando que na posição supino intensificavam-se os sinais de estresse, aumentando a severidade das lesões produzidas, num mesmo período de tempo.

Barreira Muco-Bicarbonato

O mecanismo de proteção que permite que o estôma-

go não ~~so~~fra auto-digestão intrigou fisiologistas por mais de dois séculos (Hollander, 1954). A teoria da barreira resistente à retrodifusão de íons hidrogênio do lúmen para a mucosa é bastante antiga. Teorell, em 1947, propôs que uma contínua troca de íons hidrogênio por íons sódio condicionasse a proteção, embora reconhecesse que esse mecanismo era influenciado pelos fatores diluição e neutralização por outros componentes da secreção gástrica.

Hollander (1954) defendeu a participação de dois componentes estruturais na barreira da mucosa, o primeiro compreendendo a camada de muco viscoso que recobre a parede interna do órgão e o segundo formado pela camada de células colunares baixas e cuboidais que recobrem as criptas das glândulas. Já havia sugerido também que a redução da acidez decorria da diluição e neutralização pelo sódio contido numa secreção não ácida, ou, também, por perda de fluido intersticial (Hollander, 1952).

Heatly (1959) postulou que o muco sobre a superfície mucosa permite a formação de uma camada de íons bicarbonato secretado pelas células epiteliais, neutralizando os íons hidrogênio que se difundissem em direção à mucosa a partir do lúmen. Para Garner e Flemstron (1978), a mucosa fúndica secreta muco e bicarbonato, esse último por um processo ativo dependente de energia e mediado por aceptores. Essa secreção é diminuída ou abolida por inibidores metabólicos, pela anóxia, por agonistas alfa-adrenérgicos e pela anidrase carbônica, sendo estimulada pelo carbacol, por prostaglandinas e pela elevada concentração de cálcio do lado seroso (Allen e Garner, 1980).

Retomando os estudos de Teorell sobre a difusão

de íons a través da mucosa, Davenport e cols. (1964) observou que certas substâncias capazes de reduzir a diferença de potencial elétrico transmucoso aumentam a permeabilidade deste fluido ao íon hidrogênio, facilitando sua retrodifusão e conseqüentemente a lesão das células epiteliais. Mais tarde propôs que essas substâncias aumentavam a permeabilidade da mucosa por atacar a membrana celular lipoproteica (Davenport, 1970).

Em 1977, Silen propõe a barreira como um mecanismo dinâmico e não simplesmente como estrutura anatômica, influenciada por fatores defensores e agressivos da mucosa.

Estrutura e Propriedades do Muco

O muco, secretado pelas células caliciformes, constitui um gel que adere à superfície de mucosa gástrica, e é formado principalmente por glicoproteínas. Essas moléculas podem ser separadas por hidrólise enzimática (Allen e Garner, 1980) ou através da ruptura de pontes dissulfeto (Slomiany e Meyer, 1972). É possível solubilizar o gel e obter a glicoproteína não degradada por meio de homogeneização com cloreto de sódio 0,2M (Robson e cols., 1975). Purificação adicional dessas glicoproteínas pode ser obtida por equilíbrio de ultracentrifugação em gradiente de cloreto de césio (Allen e Garner, 1980). A glicoproteína não degradada, isolada diretamente do gel, é um polímero de quatro sub-unidades interligadas por pontes dissulfeto. A região glicosilada corresponde a três quartos da molécula, sendo cober-

ta por cadeias de polissacarídeos contendo em média quinze resíduos de açúcar por cadeia e cento e sessenta cadeias por unidade. O outro quarto da proteína não é glicosilada, mas contém resíduos de cisteína que vão formar pontes dissulfeto que mantêm as subunidades ligadas entre si (Scawen e Allen, 1977). Atingido o limiar de concentração das glicoproteínas do gel, novos aumentos de sua concentração resultarão num gel mais espesso (Allen e Garner, 1980). A configuração polimérica das quatro sub-unidades de glicoproteínas ligadas entre si por pontes de enxofre é um pré-requisito para a formação do gel. Resíduos de glicoproteínas degradadas encontradas no lúmen gástrico resultam da ação contínua da pepsina sobre o muco (Kim e Harowitz, 1971).

Takagaki e Hotta (1979) isolaram por meio de enzimas proteolíticas quatro frações de glicoproteínas sulfatadas de fragmentos da parede gástrica de suínos. Essas proteínas exercem atividade inibitória sobre a pepsina, atribuída à sua ligação ao substrato da enzima. As glicoproteínas sulfatadas apesar de terem o mesmo conteúdo em termos de aminoácidos aromáticos que as proteínas susceptíveis à digestão péptica são resistentes ao ataque pela pepsina. Essas glicoproteínas sulfatadas estão estrategicamente localizadas nas células glandulares, ao redor da cavidade das glândulas gástricas, o que sugere possam desempenhar papel fisiológico na proteção dos componentes gástricos contra a digestão péptica.

Em 1978 Rainsford observou que certas drogas anti-inflamatórias não esteróides, particularmente irritantes da mucosa gástrica como a aspirina, a indometacina, e o diclofenac causavam significativa redução na incorporação de sulfato

radioativo nas glicoproteínas, tanto "in vitro" como "in vivo", enquanto que outras drogas como o fenclofenac e o paracetamol, não exibiam essa propriedade. É provável que a diminuição do número de grupos acídicos (sulfato e ácido siálico) das glicoproteínas do muco venha diminuir sua capacidade de tamponar íons hidrogênio. Esses mesmos grupos, responsáveis em grande parte, pela alta viscosidade do gel, quando diminuídos podem alterar suas propriedades físico-químicas, levando também a um aumento da proteólise luminal das glicoproteínas. O resultado dessas alterações pode ser o comprometimento da eficiência protetora do muco em relação a agressões à mucosa.

Em 1968, Kent e Allen observaram que o ânion salicilato posto em contato com a mucosa gástrica de ovelhas "in vitro", promovia reduções na incorporação de glicose e de sulfato radioativos em glicoproteínas do muco. Mucosa gástrica humana, nas mesmas condições, em presença de salicilato sofreu redução de 74% na incorporação de D-glicose marcada. Esses autores sugeriram que a inibição do metabolismo das glicoproteínas na mucosa produzida pela aspirina ou pelo salicilato deve, pelo menos em parte, responder pelos conhecidos efeitos nocivos dessas drogas sobre esse tecido. Assim também, Azuumi e cols. (1980) mostraram que a administração oral de aspirina a ratos provoca uma redução na fração de glicoproteínas macromoleculares do muco. Essa alteração quantitativa das glicoproteínas se correlaciona com o grau de lesão produzida pela aspirina.

A camada de muco que recobre as células epiteliais da superfície da mucosa gástrica existe em equilíbrio dinâmico com o muco pré-formado intracelular, contido na porção

apical das células do epitélio e nas criptas (Slomiany e cols. 1985). Comparando a composição do muco intra e extracelular da mucosa gástrica de ratos e cães, esses autores encontraram, em ambas espécies, determinado teor de triglicerídeos, ácidos graxos covalentemente ligados e carboidratos. No muco intracelular o conteúdo de triglicerídeos e ácidos graxos covalentemente ligados é maior que no muco extracelular. Este último, entretanto, contém maior conteúdo de carboidratos. As diferenças quantitativas nos lipídeos entre os dois compartimentos são mais significativas em relação aos glico e fosfolipídeos. Como estes se opõem mais eficientemente à difusão de íons hidrogênio, os autores concluíram que o muco intracelular exerceria maior proteção à célula do que o extracelular.

Citoproteção e Prostaglandinas

Entende-se por citoproteção gástrica a capacidade de proteger a mucosa do estômago de lesões provocadas por agentes agressivos sem modificar a secreção de ácido pelo órgão. Chama-se citoproteção adaptativa quando o irritante moderado em contato com a mucosa conduz ao aumento da resistência desta, provavelmente pelo aumento da biosíntese local de prostaglandinas (Konturek e cols., 1982).

Muito embora existam evidências de que prostaglandinas administradas exogenamente possam proteger da destruição a barreira da mucosa gástrica (Cheung, 1980; Harmon e Lewis, 1981; Kenyon e cols., 1978), melhorar o seu suprimento sanguí-

neo (Gaskill e cols., 1982; Gerber e Nies, 1982; Konturek e cols., 1980; Kauffman e Whittle, 1982), estimular tanto a secreção de muco como a de bicarbonato (Allen e Garner, 1980; Bolton e Cohen, 1978), estimular processos de transporte celular (Chaudhury e Jacobson, 1978; Hall e O'regan, 1975), não existe consenso entre os autores sobre qual ou quais, desses mecanismos são mais importantes. É provável que ocorra uma combinação deles (Miller, 1983).

Em 1974 Robert descreveu as ações de várias prostaglandinas naturais ou sintéticas sobre a secreção gástrica, sobre a úlcera péptica experimental e sobre as lesões intestinais provocadas por drogas anti-inflamatórias não esteróides. Observou que a deficiência de prostaglandinas leva ao aparecimento de manifestações indesejáveis, tanto em animais experimentais como no homem e sugeriu que a existência de uma relação causa-efeito entre esses dois fenômenos, deficiência das prostaglandinas e úlcera gástrica, seja muito provável. Esses dados, em conjunto, apontam a favor de uma relevante participação desses prostanóides na fisiologia gastrointestinal. Essa idéia é ainda reforçada pelo fato de as prostaglandinas exercerem sua atividade no seu sítio de produção e que enzimas responsáveis pela sua biossíntese e degradação tenham sido identificadas no epitélio da parede do estômago (Bebiak e cols., 1979; Spenny e Barton, 1981).

Conquanto certas prostaglandinas possam produzir contração da musculatura lisa intestinal, como foi demonstrado "in vitro" por Bennet e cols. (1968) "in vitro", especial interesse foi dado a seus efeitos sobre a secreção gástrica, onde atuam como inibidores tanto da secreção basal como da estimulada, quando

administradas por via oral (Miller, 1983), endovenosa ou subcutânea (Robert, 1974). Essas observações parecem justificar a possível ação anti-ulcerogênica desses prostanóides.

Todavia, entre os primeiros trabalhos mostrando que as prostaglandinas protegem da úlcera gástrica através de um mecanismo independente de sua ação anti-secretora, estão os de Robert e cols. (1979), mostrando que a administração oral dessas substâncias antes da exposição da mucosa a agentes irritantes, como o etanol absoluto, ácido clorídrico 0,6N, o hidróxido de sódio 0,2N, o cloreto de sódio a 25% ou a água em ebulição reduzia a severidade das lesões. A proteção oferecida mostrou-se proporcional às concentrações, sendo essas doses muito menores que as necessárias para inibir a secreção gástrica. Mais tarde, esses mesmos autores estudaram o potencial anti-ulcerogênico de substâncias como a cimetidina e a probantina, comparando-as às prostaglandinas, contra a agressão provocada pela aspirina. Com base em seus mecanismos de ação dividiram os agentes protetores da mucosa em duas categorias. Na primeira foram colocadas as substâncias que previnem as lesões por manter alto o pH luminal, como os anti-ácidos e os antissecretores. Na segunda categoria foram incluídas substâncias capazes de proteger sem afetar a acidez gástrica (Robert e cols., 1984). Essa habilidade das prostaglandinas de, independentemente de seu conhecido efeito anti-secretor, protegerem as células do epitélio gastrointestinal contra uma variedade de agentes nocivos, foi denominada "citoproteção" (Robert 1979; Miller e Jacobson, 1979). Seu mecanismo não está totalmente esclarecido, existindo entretanto alguns fatos sobre os quais parece haver concordância entre os autores como por exemplo, a observação de que compostos agressivos, contra os quais

as prostaglandinas oferecem proteção não se relacionam quimicamente entre si, como foi demonstrado por Robert e cols. (1979). As lesões produzidas por esses agentes geralmente se restringem a células epiteliais da superfície mucosa, na sua porção secretora, eventualmente no antro, e a citoproteção pelos prostanoídes não está ligada a um único sub-grupo de prostaglandinas. A atividade citoprotetora seria propriedade das prostaglandinas A, B, C, D, F₂alfa, F₂beta e I, sendo apenas quantitativas as diferenças demonstradas entre elas (Miller, 1983).

- FLUXO SANGUÍNEO DA MUCOSA GÁSTRICA

Como muitas prostaglandinas possuem potentes propriedades vasoativas, a melhora do fluxo sanguíneo gástrico por esses agentes pode desempenhar importante papel mediando a citoproteção. Certas prostaglandinas exibem notável ação vasodilatadora, afetando leitos vasculares inclusive do trato gastrointestinal (Miller e Jacobson, 1979; Robert e cols., 1979).

Pelo menos dois mecanismos foram propostos para explicar a maneira pela qual o aumento da perfusão protegeria o epitélio gástrico das lesões. O primeiro seria a manutenção de adequado suprimento de oxigênio e fontes de energia para assegurar a eficiência do metabolismo celular. O segundo seria a promoção de uma rápida eliminação e tamponamento dos íons hidrogênio que, se se difundissem retrogradamente, alcançariam a lâmina própria (Miller, 1983).

Utilizando-se da técnica de remoção da anilina ra

diotativa para medida de fluxo sanguíneo, Main e Whittle (1973) observaram que prostaglandinas das séries A e E administradas local ou sistemicamente a ratos aumentam de modo significativo o fluxo sanguíneo da mucosa em repouso. Dos trabalhos de Cloud e Ritchie (1982) ficou demonstrado que a indometacina impede o aumento do suprimento sanguíneo observado após a aplicação intragástrica de ácidos biliares a cães, do que resultam lesões da mucosa. Esse dado sugere que prostaglandinas endógenas sejam capazes de aumentar o fluxo sanguíneo da mucosa, conferindo-lhe citoproteção contra lesões pelos ácidos biliares. Outros estudos têm confirmado esses resultados (Cheung, 1980; Guth e Moler, 1982; Whittle, 1978).

Embora o aumento do fluxo sanguíneo possa mediar os efeitos citoprotetores das prostaglandinas contra algumas formas de ulceração gástrica, outras observações experimentais sugerem que um mecanismo adicional esteja envolvido. Por exemplo, Larsen e cols. (1981) não confirmaram o aumento de perfusão pela 16,16-dimetilprostaglandina E_2 em cães, como havia sido demonstrado por Cheung (1980). Finalmente, a prostaglandina $F_{2\alpha}$ que é francamente vasoconstritora, possui atividade anti-ulcerogênica comparável à prostaglandina E_2 , essencialmente vasodilatadora, numa série de condições experimentais (Robert e cols., 1979).

- SECREÇÃO DE MUCO

A aplicação intragástrica de prostaglandinas re-

sulta em pronta estimulação da secreção de muco em ratos, cães e humanos, comprovada pela medida da incorporação de ácido N-acetilneuramínico nas glicoproteínas do gel (Bolton e Cohen, 1978; Johansson e Kollberg, 1979; Ruppín e cols., 1981).

La Mont e cols. (1983) demonstraram que a prostaglandina $F_{2\alpha}$ administrada intragastricamente em doses citoprotetoras estimula a secreção de mucina contendo hexose, mas não tem efeito sobre a sialomucina. Seu análogo sintético 16,16-dimetilprostaglandina E_2 aplicado topicamente aumentou a espessura do muco de modo dose dependente, enquanto que a carbenoxolona aumentou até cerca de 78%. Admite-se que o muco sobre a parede gástrica está permanentemente em estado dinâmico, sujeito a aumento ou diminuição adaptativos a condições fisiológicas ou fisiopatológicas, modificáveis pelo tratamento com drogas (Bieckel e Kauffman, 1981).

A solubilização do muco pela N-acetilcisteína reduziu o efeito da prostaglandina E_2 contra o etanol (Zlotoff e cols., 1982). Essa observação ressalta a importância da integridade do muco gástrico na citoproteção pelas prostaglandinas. Corroborando esses dados estão os de Dekanski e cols. (1975), Parke (1978) e Rainsford (1978), indicando que drogas anti-inflamatórias não esteróides, incluindo a aspirina e a indometacina, certos corticosteróides sintéticos, todos com reconhecida ação inibidora da síntese de prostaglandinas impedem também a atividade biossintética de enzimas responsáveis pela produção de muco. Esse fato poderia estar ligado à formação de erosões na mucosa gástrica por essas drogas.

Todavia, muito embora existam evidências a favor da participação do muco na citoproteção, uma estrita correla-

ção entre esse fenômeno e produção de glicoproteínas do gel não foi demonstrada quer nos trabalhos de La Mont e cols. (1983) quer no de Ruppín e cols. (1981), onde não se encontrou relação entre quantidades de muco produzidas e proteção por prostaglandinas.

- BARREIRA DA MUCOSA GÁSTRICA

Grande número de trabalhos demonstram que as prostaglandinas naturais ou sintéticas previnem ou atenuam de maneira significativa as alterações de permeabilidade, com rompimento da barreira fisiológica, em modelos experimentais em cães (Bolton e cols., 1978); Tapperman e cols., 1978) e em ratos (Guth e Paulsen, 1979), tratados por vários agentes como aspirina, etanol (Tapperman e cols., 1978; Robert e cols., 1979), indometacina (Cohen e Pollet, 1975) e sais biliares (Whittle, 1977; Bolton e Cohen, 1979). Foi demonstrado também que as prostaglandinas podem, além disso, restringir efeitos destrutivos mesmo quando administradas depois de iniciado o processo irritativo. Evidência experimental deste fato foi conseguida por Cohen e Pollet (1975) mostrando que a redução na diferença de potencial elétrico transmucosa, em resposta à aplicação tópica de aspirina ou indometacina persiste mesmo após a retirada das drogas, sendo totalmente recuperada pela adição de prostaglandinas E_2 .

Aures e cols. (1982), admitiram que a citoproteção por prostaglandinas ocorreria através da inibição da liberação dos estoques de histamina. Seus resultados experimentais

mostraram entretanto que a proteção ainda ocorre apesar da elevada concentração de histamina na mucosa, induzida por sua administração exógena.

A possibilidade das prostaglandinas interferirem na absorção do agente agressor foi estudada por Guth e Paulsen (1979), mas também não foi confirmada experimentalmente. Apesar dos fortes argumentos há ainda discordância entre os autores em relação a esse mecanismo de ação das prostaglandinas, como responsável pela manutenção da integridade da barreira mucosa. Cheung (1981), em preparações de câmaras gástricas de cães "in vitro" não conseguiu repetir experimentalmente o efeito protetor do análogo sintético 16,16-dimetilprostaglandina E₂ contra a destruição da barreira da mucosa, pela aspirina. Afirmou também que uma correlação entre difusão retrógrada de íons hidrogênio e severidade de lesão nem sempre ocorre. Puurunen (1980), porém, demonstrou proteção das lesões produzidas por etanol, conferida pela prostaglandina E₂, ainda que o efeito desse agente sobre a retrodifusão de íons hidrogênio não tenha sido bloqueado pelo prostanóide.

Citoproteção Adaptativa

Trabalhando com ratos, "in vivo", Robert e cols. (1978) demonstraram que a administração intragástrica de uma variedade de irritantes em baixas concentrações, como etanol a 10%, ácido clorídrico a 0,35N, hidróxido e sódio a 0,75N, taurocolato a 5mM e cloreto de sódio a 4%, aos quais denominaram

irritantes moderados, cerca de quinze minutos antes da aplicação de um desses mesmos agentes, agora em concentrações necrotizantes, como etanol absoluto, ácido clorídrico 0,6N, hidróxi do de sódio 0,2N, taurocolato 80mM ou cloreto de sódio a 25%, resultava em proteção da mucosa contra as lesões por tais agressores. Para estudar o mecanismo pelo qual esse fenômeno ocorria e principalmente se era mediado por prostaglandinas, os autores trataram seus animais com indometacina, uma hora antes da execução do protocolo descrito. Ocorreu então inibição da proteção observada anteriormente pelos irritantes moderados. Sugeriram, pois, que as prostaglandinas endógenas seriam as responsáveis pela citoproteção adaptativa frente a repetidas exposições a determinado irritante ou a vários irritantes distintos impostos subseqüentemente (Robert e cols., 1983).

De forma semelhante Cohen e Wallace (citados por Miller, 1983) submetendo animais a curtos intervalos de imobilização verificaram que após dez dias, se tornavam resistentes ao etanol quando comparados aos controles. A indometacina também foi capaz de impedir a adaptação da mucosa. Esses resultados sugerem que a adaptação ou seja, o aumento da resistência da mucosa a agentes irritantes deve ser fisiologicamente ajustada por meio de um ou mais mecanismos dependentes da cicloxigenase ativa (Robert, 1984).

Contra-Irritação

O termo contra-irritação define o fenômeno

no de inibição de um processo inflamatório localizado, pela presença simultânea, no mesmo organismo, de outro processo reacional semelhante (Robinson e Robson, 1964; Goldstein e cols., 1967; Bonta, 1978; Garcia Leme, 1981). Sua descoberta é bastante antiga, sendo difícil situá-la precisamente no tempo. Já em 1901, Winternitz havia demonstrado que o óleo de santal, reconhecidamente um irritante gástrico, produzia inibição da resposta inflamatória provocada pela instilação de veneno de abelhas no saco conjuntival de coelhos. Laden e cols. (1958), bem como Robinson e Robson (1964) admitem que os agentes contra-irritantes promovem a liberação de uma ou mais substâncias no local inflamado. Transportadas pela corrente circulatória, elas produziriam a inibição de outro processo inflamatório à distância.

Em 1966 Jori e Bernardi observaram que a ação anti-inflamatória de vários irritantes estava relacionada com o extravasamento de líquido, para a cavidade peritoneal ou gástrica, cujo volume podia ser medido pela passagem do azul de Evans previamente administrado por via intra-venosa para os locais onde eram encontrados, quais sejam, a cavidade peritoneal e o estômago.

Outros autores observaram que a atividade anti-inflamatória do processo contra-irritativo poderia ser atribuída a uma proteína produzida no fígado, cuja ação se faz sentir particularmente nos estágios tardios da inflamação (Billingham e cols., 1971). Billingham, (1972) afirmou que tal proteína é quase desprovida de atividade irritativa, admitindo porém, ser possível a variação conjunta das atividades anti-inflamatória e irritativa destas moléculas. Atkinsons

(1971) admite que o efeito é inespecífico e mediado por mecanismo comum, qualquer que seja o irritante responsável, mas que além desse mecanismo comum existem outros que dependem diretamente da natureza da particular substância irritante.

Garcia Leme e Shapoval (1975) perfundiram o tecido subcutâneo da pata de ratos injetados previamente com carrageenina. Os perfusados revelaram atividade anti-inflamatória quando testados por via intra-venosa em outros ratos. Essa atividade desaparece nos animais adrenalectomizados, mas não naqueles previamente desmedulados. Castro (1986) demonstrou que em ratos adrenalectomizados o edema inflamatório duplo simultâneo decorrente da aplicação de carrageenina é significativamente maior que nos controles previamente submetidos à adrenalectomia simulada, também com aplicação dupla.

A carrageenina é uma galactana sulfatada obtida por extração aquosa de certas algas marinhas, notadamente Chondrus crispus e Gigartina stellata. Pode ser separada em duas frações "kappa" e "lambda" em função da gelificação sofrida sob ação do íon potássio, sendo que a lambda-carrageenina tem maior teor de sulfato.

A utilização da carrageenina nestes estudos está plenamente justificada, de vez que é o agente flogógeno mais usado atualmente para análise experimental da ação de substâncias anti-inflamatórias. Desde sua introdução com este objetivo, por Winter e cols. (1962), o teste da evolução do edema da pata posterior de rato sob ação da carrageenina passou a ser conhecido com inigualável riqueza de detalhes. Recentemente, Vinegar (1987) catalogou e reviu criticamente cerca de quarenta e duas etapas na evolução desta resposta inflamatória.

Além desta ação edemagênica, outra importante ação biológica da carrageenina chamou-nos a atenção como substância útil nestes estudos. Sabe-se, desde 1936 (Komarov, 1936) que o ácido mucoitin-sulfúrico e outros polissacáridos sulfatados (Levey e Sheinfeld, 1954) exercem atividade anti-péptica, demonstrável tanto "in vitro" como "in vivo", podendo ser usado para proteger o estômago de cobaias da ulceração experimental (Anderson e Watt, 1959). Em 1961, Piper e Fenton confirmaram esta ação da carrageenina e discutiram sua utilização terapêutica no homem. Este uso, entretanto, conhece restrição, dentre as quais, a atividade anticoagulante que possui, capaz de produzir ou agravar hemorragias gástricas (Hawkins e Leonard, 1962).

Em 1967, Garcia Leme e cols. descreveram uma ação anti-inflamatória da carrageenina administrada por via intra-peritoneal, situação em que reduz significativamente o edema de pata provocado pela própria carrageenina, tendo sido sugerido que esta ação decorreria do exaurimento do bradicininogênio plasmático. Castro, em 1986, observou que uma única aplicação intra-peritoneal de carrageenina é suficiente para inibir significativamente o edema experimental logo após uma hora de sua aplicação. Como se percebe a presença, em uma mesma substância, da capacidade de produzir reações irritativas e, ao mesmo tempo, sobre mesmos sistemas, exercer ação anti-inflamatória não é rara e tem enorme importância no estudo dos mecanismos biológicos envolvidos no processo contra-irritativo. É amplamente conhecida a propriedade irritativa dos agentes anti-inflamatórios não esteróides, manifestação constante dessas substâncias, atribuída pelo menos

parcialmente, à inibição da ciclo-oxigenase (Flower e cols., 1985).

Também corticosteroides anti-inflamatórios mostram a dualidade de efeito que no aparelho digestivo se traduz por significativo aumento, até duplicação, do risco da ulceração gástrica provocado por agentes AINE (Messer e cols., 1983).

Sabemos também que sais solúveis de cobre são ao mesmo tempo eficazes agentes irritantes, isto é, inflamagênicos e também antiflogógenos. Além disso, pelo menos a artrite reumatoide e a espondilite anquilosante, duas enfermidades humanas onde o componente inflamatório é muito importante, estão relacionadas com a elevação significativa dos níveis séricos do cobre, e de algumas cuproproteínas como a ceruloplasmina. A evolução ou a remissão dessas duas doenças tem mostrado correlação com a presença dessas cuproproteínas (Whitehouse, 1976; Milanino e cols., 1985). Brown e cols. mostraram, em 1980, que complexos moleculares de cobre com aspirina, ou com levamisol ou com ácido flufenâmico são mais eficazes anti-inflamatórios que estas mesmas moléculas desprovidas de seu componente cúprico.

Sorenson, em 1976, relatou que os complexos de drogas anti-inflamatórias não esteróides (AINE) com cobre não só têm potência maior, como também revelam atividade anti-úlceras gástrica em certos testes, como foi demonstrado por Boyle e cols. (1976). No mesmo ano, Rainsford e Whitehouse descreveram a proteção conferida pelo cloreto de cobre II administrado por via intra-gástrica a ratos.

Também sais de zinco, como admitem vários pesqui-

sadores exercem atividade anti-ulcerogênica, tanto em animais submetidos a estresse como após estímulo parassimpático (Cho e Ogle, 1978). A concentração de zinco no citosol de hepatócitos aumenta em ratos imobilizados, embora não haja queda da sua concentração no soro. No estresse de natureza predominantemente psicogênica como é o da imobilização de ratos, ocorre grande aumento da concentração de metalotioneína hepática e do zinco sérico (Hidalgo e cols., 1986). Outros autores observaram também correlação positiva entre concentração ou mobilização de zinco no organismo e situações de estresse, incluindo as produzidas por infecções (Pakarek e Beisel, 1971; Weinberg, 1972). Em 1967, Rösänen e Taskinen verificaram ser possível proteger a mucosa gástrica de ratos da ação ulcerogênica da reserpina desde que se procedesse previamente a desgranulação dos mastócitos da mucosa. Keller e Sorkin (1970), baseados em sugestão anterior de Kerp (1963) descreveram a incorporação de zinco a mastócitos de ratos e liberação do metal quando da liberação de histamina pelo composto 48/80. Neste contexto, alguns autores têm atribuído a ação cicatrizante exercida pelo zinco sobre úlceras gástricas (Frommer, 1975) à atividade estabilizadora que o metal exerceria sobre o processo de desgranulação dos mastócitos (Cho e Ogle, 1977). Ainda que estas ações se mostrem complexas, entendemos ser útil colher informações sobre os efeitos do zinco e do cobre sobre as lesões pré-ulcerativas do tipo petequial.

Baseados nestas considerações resolvemos:

1. Padronizar uma técnica que permita, apenas pela imobilização do animal em jejum, sem o abaixamento experimental da temperatura, produzir consistentemente lesões leves,

caracteristicamente petequiais, da superfície mucosa do estômago de ratos, verificando algumas de suas características.

2. Obter informação experimental sobre a possível influência exercida por várias substâncias irritantes aplicadas na cavidade peritoneal sobre as lesões petequiais no estômago.

3. Determinar se a irritação prévia, direta da mucosa gástrica produzida pela administração local de várias substâncias modifica a produção das lesões petequiais da imobilização.

MATERIAL E MÉTODO

MATERIAL E MÉTODO

I) Material

- A. Animais: ratos Wistar, machos, com peso de 130 a 200 g., criados no Biotério Central da UNICAMP e no Biotério da UNESP, Botucatu, São Paulo.
- B. Dispositivo para Imobilização
1. Tubos de PVC com 50 mm de diâmetro foram cortados em unidades de 30 cm de comprimento. Nestas, foram feitas quatro pequenas janelas retangulares de 3,0 por 1,5 cm, distando 9,0 cm entre si, cada par na face oposta ao outro par.
 2. Tubos de PVC com 40 mm de diâmetro foram cortados em segmentos de 12 cm e serrados longitudinalmente originando duas canaletas.
 3. Dos tubos de maior diâmetro foram cortados pequenos segmentos de 4,0 por 2,0 cm usados para fechar as aberturas não usadas, nos tubos maiores.
 4. Dois cilindros maciços de madeira de 3,5 cm de diâmetro e 15,0 cm de comprimento.
- C. Material para administração das substâncias: para injeções intraperitoniais foram usadas seringas de 1,0 ml e agulhas hipodérmicas de 25 x 7 mm. Para administração intra-gástrica usamos tubos de polietileno de 2 mm de diâmetro fixados a

agulhas hipodérmicas 30 x 15 mm sem o bisel.

D. Para exame das lesões gástricas: Lupa "Zeiss" binocular que permite aumentos de 8, 12, 20, 32 e 50 diâmetros.

E. Substâncias Químicas:

Nome	Procedência
Carrageenina	Marine Colloids
Sulfato de Zinco	Fisher
Sulfato de Cobre	Merck
Cloreto de Cobre	Merck
Sacarose	Reagent
Cloreto de Sódio	Merck
Glicose	Merck
N-acetilcisteína	Zambom
Eter etílico	Rhodia

Observações: Todos os sais, a sacarose e a glicose são produtos P.A..A carrageenina e a N-acetilcisteína serão referidas no texto respectivamente como CRRG e NAC.

II) Métodos

A. Preparo dos animais

Os ratos, após adaptação às nossas condições ambientes por período de no mínimo 48 horas eram marcados, pesados, sorteados para compor grupos de cinco em cada caixa plástica (de 40 x 25 x 20 cm). Doze horas antes da imobilização todo o alimento sólido era retirado. A imobilização foi sempre executada entre 8:00 e 9:00 horas e nesse período, de 24 horas, os animais não tinham acesso também à água. Quando necessárias, as administrações de drogas por meio de cânulas gástricas ou injeção intraperitoneal eram feitas trinta minutos antes da imobilização.

B. Soluções

A carrageenina foi suspensa e homogeneizada em soro fisiológico, perfazendo 0,25% peso/volume. Todas as demais substâncias foram dissolvidas em água bidestilada, as concentrações estando indicadas nos resultados.

C. Estimativa do tempo de permanência das várias soluções no estômago, no jejum.

As soluções foram administradas através de tubo gástrico e os animais recolocados nas mesmas gaiolas durante o intervalo de tempo pré-estabelecido. Depois disso cada animal era anestesiado pelo éter, o abdômem aberto pela linha branca, o estômago retirado após ligadura do cardia e do piloro, e aberto sobre um pequeno funil transferindo o volume de líquido para uma proveta graduada de 10 ml, lavando-se o fu-

nil com volume conhecido de água.

D. Imobilização

Um dos animais é colocado sobre o balcão, à entrada de um dos tubos de PVC. Tão logo entra espontaneamente em seu interior, as duas extremidades são bloqueadas pelos cilindros de madeira. Com a movimentação destes, o animal é posicionado até que suas patas posteriores saem por uma das janelas, quando são seguras pelo experimentador, encostadas à face externa do tubo no sentido caudal e seladas com fita gomada, com firmeza porém sem prejuízo da circulação. Do mesmo modo são fixados os membros anteriores. As duas janelas próximas do dorso do animal são então bloqueadas pelas peças de 4,0 por 2,0 cm, pelo lado externo. Uma hemicanaleta é então introduzida sob a mandíbula do animal até encostar nos membros anteriores já presos e depois é fixada externamente de modo a restringir ao máximo os movimentos de cabeça, sem qualquer prejuízo dos movimentos respiratórios, e sem oferecer qualquer superfície que possa ser roída. Nessa condição o tubo com o animal já imobilizado em decubito dorsal é suspenso por dois ganchos de metal, permanecendo em posição horizontal durante 24 horas, à temperatura entre 24 e 28°C. Findo este período o animal é anestesiado pelo éter etílico, sacrificado, o estômago é retirado, aberto pela grande curvatura, lavado com soro fisiológico, estendido e fixado sobre pequenas placas de isopor para ser examinado sob lupa.

E. Exame sob lupa

A face mucosa do órgão, assim montado nas placas de isopor,

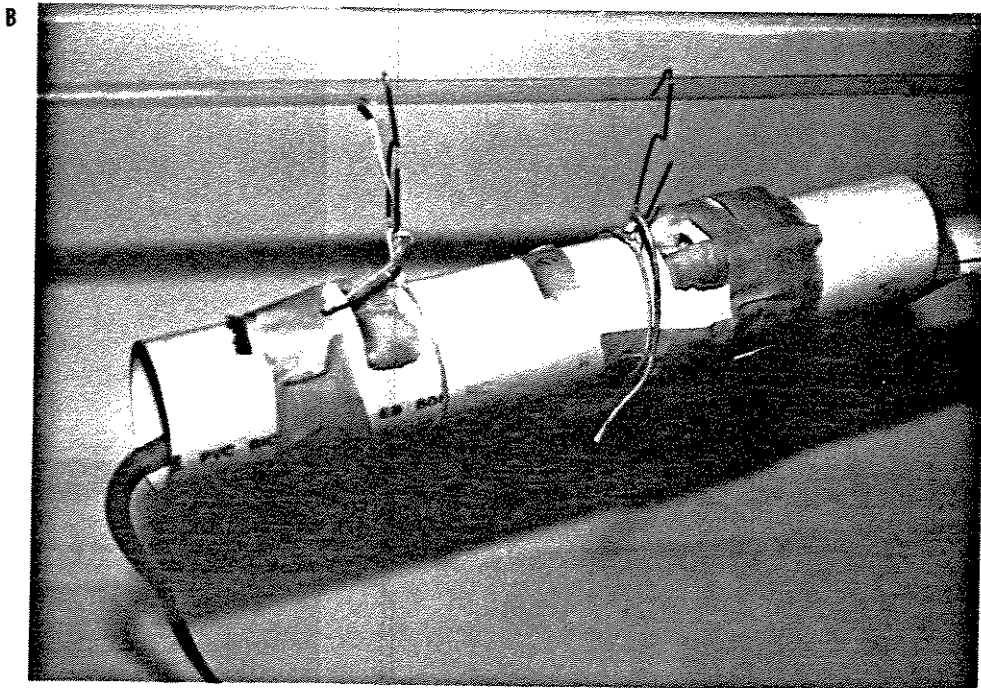
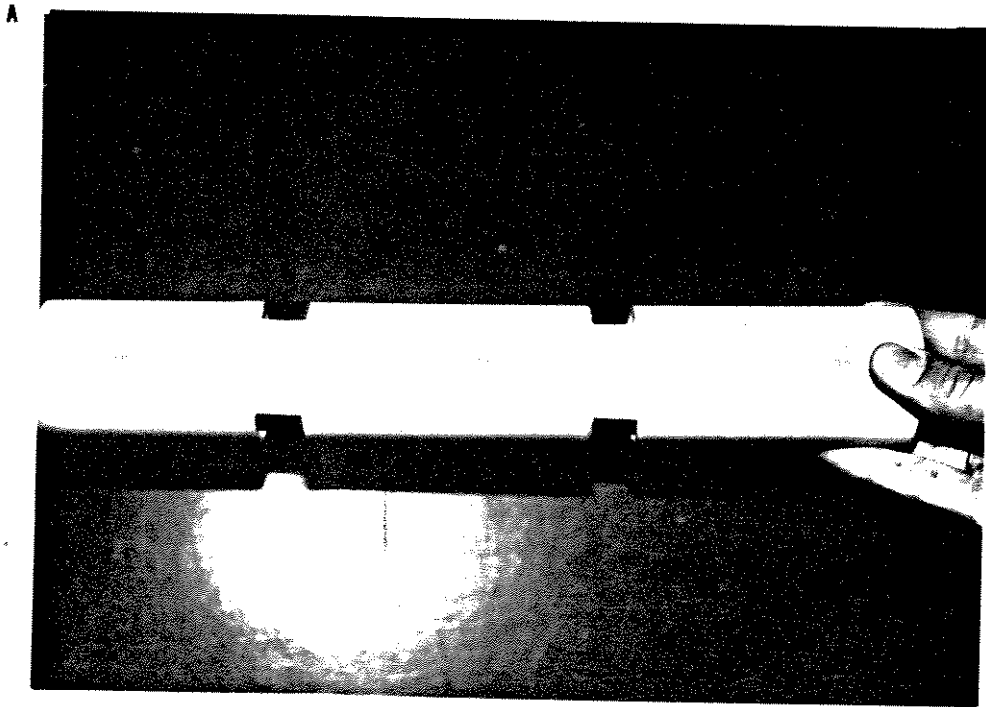
é examinado à lupa com aumentos de 8, 12 e 20 diâmetros, observando-se a quantidade e consistência do muco, a presença de resíduos alimentares, o grau de hiperemia não só nas regiões glandulares e antral, onde posteriormente se demarcam os locais das petéquias, mas também na região do rúmen e porção proximal do duodeno.

F. Estimativa do Índice de Lesão

Com o estômago apoiado sobre sua face serosa à base da lupa, estende-se um papel transparente sobre o órgão, desenhando-se por cobertura (colagem), os limites da superfície mucosa e a seguir os locais das petéquias. Posteriormente, esta colagem das lesões é colocada sobre papel milimetrado, determinando-se as áreas das lesões e da mucosa. O índice de lesão foi definido pela relação entre a área total das lesões e a área da superfície mucosa, multiplicada por um fator que contempla o grau de hiperemia da mucosa, convencionalmente os valores 1,0 para a mucosa normal, 1,1-1,2-1,3, para graus crescentes de hiperemia.

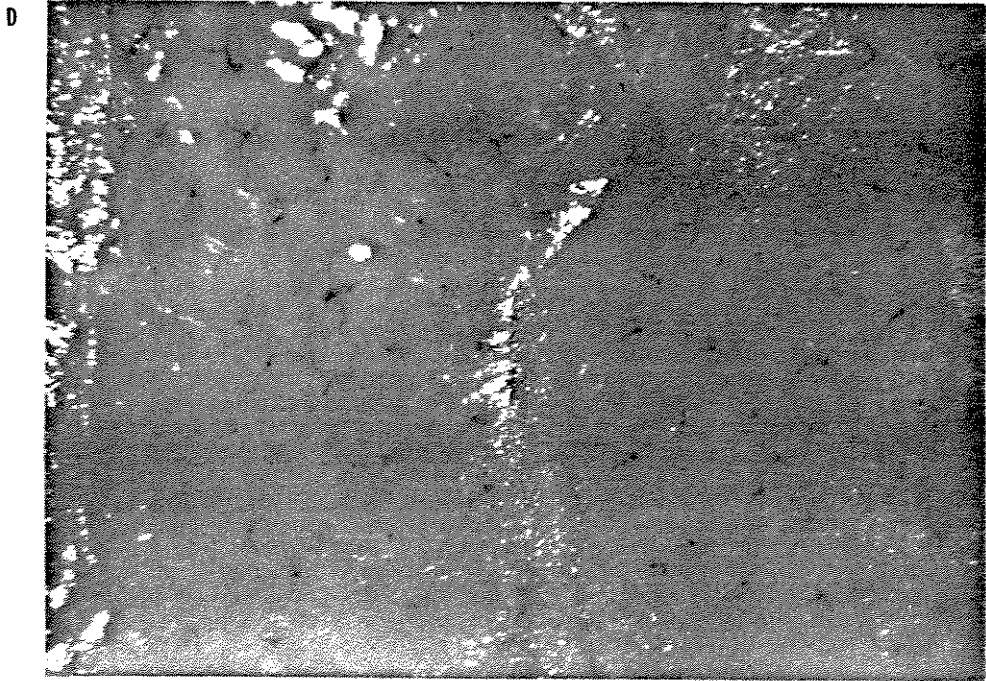
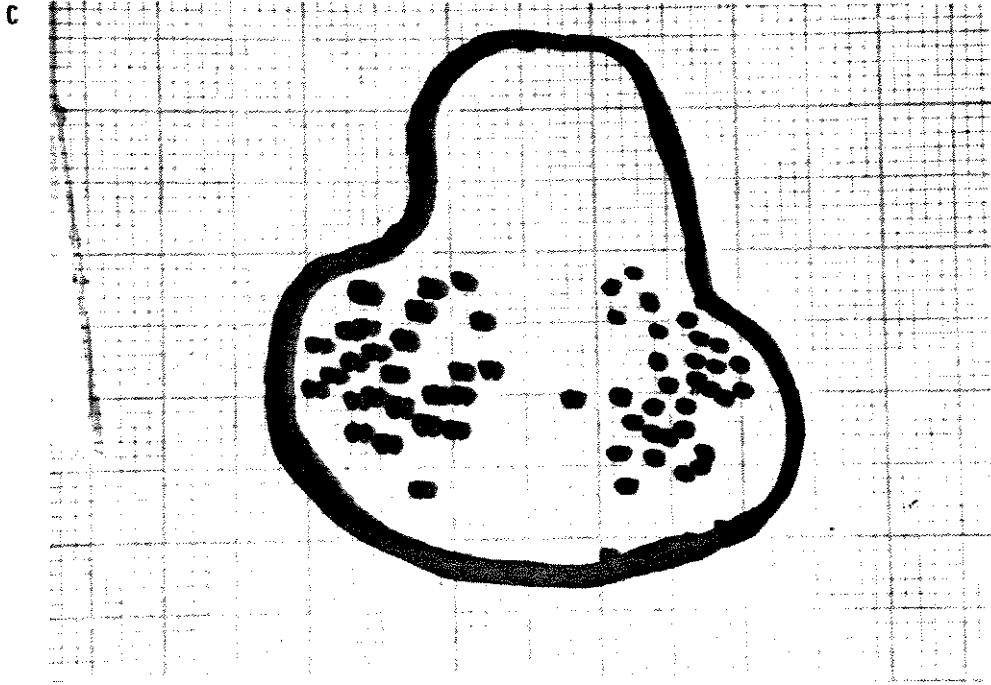
G. Tratamento matemático dos resultados

A análise estatística foi feita pelo teste "t" de Student, avaliando-se a significância das diferenças entre as médias dos grupos, considerando-se probabilidade de 5% adequada para exclusão da hipótese de nulidade.



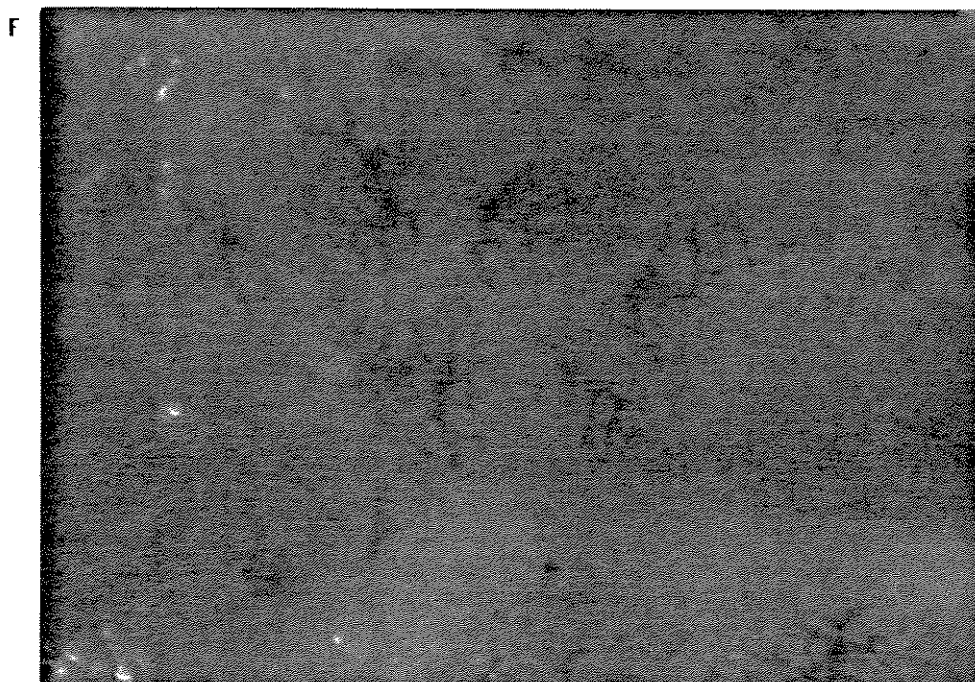
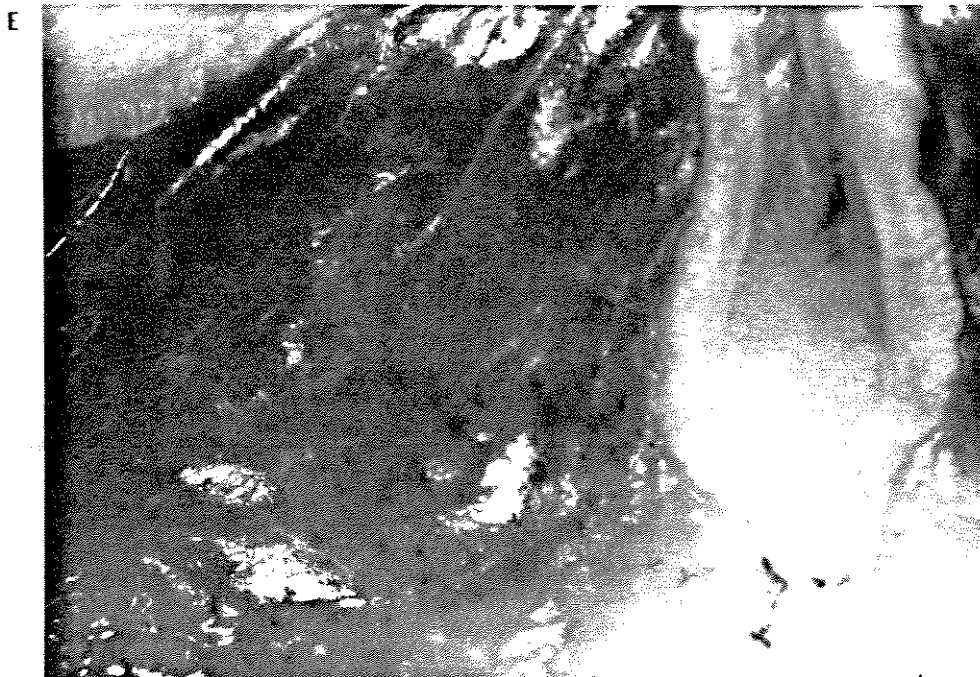
A - Canaleta de PVC, com as aberturas para fixação dos membros.

B - Animal imobilizado na posição supino.



C - Colagem do estômago, em papel celofane, montado sobre papel milimetrado.

D - Lesões gástricas pela imobilização: petéquias na região glandular fúndica (aumento 12x).



E - Petéquias na região cárdica (aumento 12x).

F - Petéquias na região fúndica (aumento 64x).

RESULTADOS

RESULTADOS

I - Lesões Gástricas pela Imobilização de Ratos

A) Relação entre peso dos animais e lesões gástricas provocadas pela imobilização

Foram grupados 10 ratos com peso médio de 126,7 g \pm 6,9 (118 a 138 g) e 16 outros ratos com peso médio de 185,1 g \pm 26,0 (152 a 233 g). Todos os animais foram submetidos ao jejum por doze horas e a seguir imobilizados, permanecendo nessa condição durante 24 horas. Findo este período foram sacrificados por meio de inalação de éter etílico, seus estômagos retirados e os índices de lesão (IL) determinados. A tabela I mostra os IL médios e os desvios-padrão. Observamos que existe diferença estatisticamente significativa, no nível de 5%, na severidade das lesões, que são mais graves nos animais mais jovens.

Grupo Experimental (Peso Médio) ($\bar{X} \pm DP$)	Índice de Lesão ($\bar{X} \pm DP$)	(n)
126,7 \pm 6,9	5,7 \pm 1,2 **	(10)
185,1 \pm 26,0	4,2 \pm 0,8	(16)

TABELA I: Comparação dos índices de lesão entre animais leves e pesados, submetidos à imobilização. Para essa e demais figuras: IL, indica índice de lesão médio; ** valores estatisticamente significantes no nível de 5%, pelo teste "t" de Student; NS, não significante e (n) o número de animais no grupo.

B) Relação entre a perda de peso no período de jejum anterior à imobilização e intensidade das petéquias gástricas

Submetemos 25 ratos com peso médio de $166,7 \pm 14$ g a jejum de doze horas, determinando individualmente a perda de peso depois desse período. Desses animais foram então, separados em dois lotes iguais com sete animais, tomando como critério diferencial elevada e baixa perda de peso no jejum, descartando-se os onze restantes, cujas variações de peso assumiram valores intermediários. Esses dois lotes foram submetidos como já descrito, à imobilização e a seguir comparamos os índices de lesão dos dois grupos. Observamos não haver diferença nas respostas desses animais ao estresse de imobilização, como se pode constatar pelos dados apresentados na tabela 2.

Grupo Experimental (Perda de Peso no Jejum) ($\bar{X} \pm DP$)	Índice de Lesão ($\bar{X} \pm DP$)	(n)
$9,6 \pm 1,6$	$6,3 \pm 1,2$	(7)
$16,2 \pm 1,5$	$6,5 \pm 1,4$ NS	(7)

TABELA 2: Relação entre perda de peso no jejum e lesões gástricas produzidas pela imobilização

C) Influência da temperatura ambiente sobre as lesões gástricas petequiais

Os índices de lesão observados em ratos quando os experimentos foram realizados nos três meses de inverno (I), ou

nos três meses de verão (V), estão apresentados na tabela 3, onde as temperaturas representam as médias dos dez dias anteriores à imobilização dos animais.

Observa-se que para seis experimentos (total de 28 animais) conduzidos no período I, quando a temperatura média foi de $16,2 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$, os índices de lesão ($5,7 \pm 1,5$) são significativamente menores que os valores registrados em seis experimentos ($n = 39$) realizados no período V, quando a média dos IL foi $6,5 \pm 0,8$ e a temperatura média era de $22,3 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$.

Os valores mostram, também, que a dispersão dos IL é muito maior no período V, onde o coeficiente de variação é 0,3, enquanto que no período I a dispersão dos valores corresponde a um coeficiente de variação 0,7.

	(n)	Temperatura ($\bar{X} \pm \text{DP}$)		Índice de Lesão ($\bar{X} \pm \text{DP}$)	
		Valores Individuais	Total	Valores Individuais	Total
INVERNO	(4)	$14,5 \pm 2,2$		$3,4 \pm 1,0$	
	(5)	$15,0 \pm 2,3$		$5,7 \pm 1,1$	**
	(5)	$15,5 \pm 1,9$	$16,2 \pm 1,4^{\circ}$	$6,3 \pm 0,3$	$5,7 \pm 1,5$
	(4)	$17,0 \pm 0,9$		$4,7 \pm 1,2$	
	(5)	$17,5 \pm 1,3$		$6,6 \pm 1,2$	
	(5)	$18,0 \pm 2,8$		$7,7 \pm 1,4$	
VERÃO	(5)	$19,5 \pm 0,6$		$6,0 \pm 0,9$	
	(5)	$20,0 \pm 2,8$		$6,6 \pm 1,0$	
	(14)	$23,0 \pm 1,0$	$22,3 \pm 2,0^{\circ}$	$6,4 \pm 1,3$	$6,5 \pm 0,8$
	(5)	$23,5 \pm 1,1$		$5,6 \pm 1,2$	
	(5)	$24,0 \pm 1,3$		$7,9 \pm 1,5$	
	(5)	$24,0 \pm 1,5$		$6,4 \pm 0,6$	

TABELA 3: Relação entre a variação da temperatura ambiente e intensidade das lesões gástricas em ratos. Os valores de temperatura representam a média dos dez dias que precederam o dia do experimento.

D) Influência de diferentes tratamentos sobre a produção de lesões gástricas pela imobilização de ratos; comparação entre animais de diferentes procedências,

A tabela 4 mostra resultados obtidos da comparação de ratos Wistar de duas procedências, submetidos a várias condições experimentais.

Verificamos que os índices de lesão são diferentes entre os animais sem qualquer tratamento, provenientes dos biotérios UNICAMP (U) e Botucatu (B). Entretanto, quando os índices de lesão estão aumentados, o que ocorre, seja pelo jejum, seja pela imobilização, quer por ambas condições associadas, já desaparece a diferença em relação à procedência dos animais.

Podemos observar ainda que quando o índice de lesão, medido em animais sem outro tratamento além do jejum sólido de 36 horas é elevado, a imobilização adicional aumenta significativamente as lesões gástricas. Pode-se observar a partir dos mesmos dados que o índice de lesão espontâneo nessas duas amostras pode assumir valores positivos realmente diferentes dos animais submetidos ao jejum.

Para ratos provenientes de um mesmo biotério (B), a imobilização, quando comparada ao jejum, produz índices de lesão significativamente maiores que a segunda condição.

Procedência	Grupo Experimental	Índice de Lesão ($\bar{X} \pm DP$)	(n)
UNICAMP (U)	Jejum 36h (a)	4,1 ± 0,6	(5)
	Jejum + Imob. (b)	5,9 ± 1,6	(5)
	S/Tratamento (c)	2,2 ± 1,3	(12)

BOTUCATU (B)	Jejum 36h (d)	3,7 ± 0,5	(4)
	Jejum + Imob. (e)	6,3 ± 1,3	(14)
	Imob. 24h (f)	4,3 ± 0,1	(5)
	S/Tratamento (g)	1,0 ± 0,5	(5)

TABELA 4: Lesões gástricas pela imobilização e sua variação na presença e ausência de jejum: Comparação entre animais de diferentes procedências. São estatisticamente diferentes entre si: axb; axc; axe; axg; bxc; bxd; bxf; bxg; cxd; cxe; cxg; dxg; exf; exg e fxg.

E) Efeito da posição do animal à imobilização sobre a severidade das lesões gástricas

Três grupos de ratos foram submetidos à imobilização sob iguais condições nas canaletas, porém mantidos nas 24 horas em posições diferentes, isto é, verticalmente com a cabeça para baixo (3), verticalmente com a cabeça para cima (3) e horizontalmente, em decúbito dorsal (3). A tabela 5 mostra médias dos índices de lesão. Pudemos observar que no decúbito dorsal as lesões pela imobilização são significativamente mais intensas do que nas duas posições verticais. Já entre si, as mucosas gástricas dos ratos mantidos na verticalidade não diferem significativamente.

Grupo Experimental	Índice de Lesão ($\bar{X} \pm DP$)	(n)
Decúbito Dorsal	$6,7 \pm 0,7^{**}$	(3)
Vertical Cabeça ↑	$4,2 \pm 0,8$	(3)
Vertical Cabeça ↓	$5,0 \pm 0,6$	(3)

TABELA 5: Índices de lesão produzidos em ratos imobilizados em decúbito dorsal e nas posições verticais. Os dois grupos nessas posições não diferem entre si, mas ambos são significativamente diferentes da posição horizontal, em decúbito dorsal.

II - Irritação Peritoneal e Lesões Gástricas ,

A) Influência da carrageenina (CRRG) por via intraperitoneal, sobre as lesões gástricas pela imobilização

Neste experimento foram usados 16 ratos em jejum, divididos em 4 grupos experimentais, processados numa primeira etapa em que confrontamos animais tratados pela suspensão de CRRG e em seguida imobilizados, com um segundo grupo, controle, somente imobilizado. A segunda etapa foi, realizada dias depois. Nesta, os animais tratados pela CRRG e imobilizados foram comparados a um grupo de animais imobilizados depois da administração por via intraperitoneal de soro fisiológico, veículo do polímero.

Observamos que a CRRG, na dose de 4,5 mg/kg, reduz de modo significante as lesões gástricas produzidas pelo estres

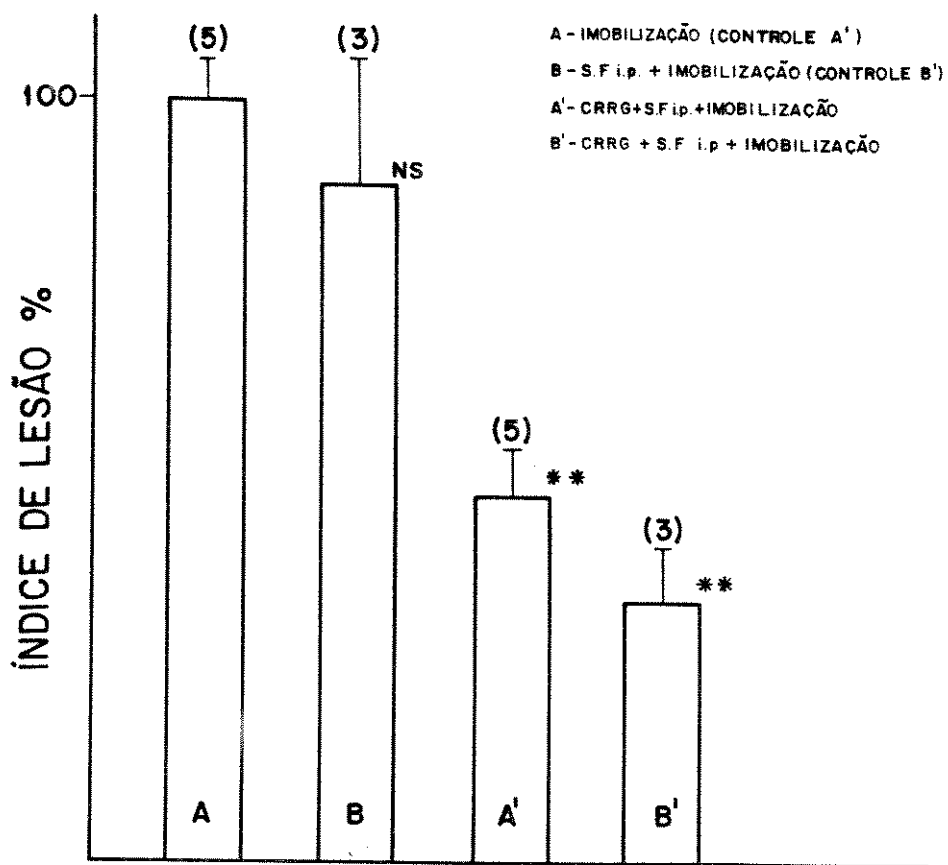


DIAGRAMA 1: Efeito da irritação peritoneal provocada pela CRRG sobre a produção de lesões gástricas pela imobilização. Índices de lesão em valores percentuais. Os grupos A' e B' apresentam diferença estatisticamente significativa em relação aos grupos A ou B.

se da imobilização. O diagrama 1 representa os valores relativos dos índices de lesão registrados neste experimento. Observa-se também que a inibição ocorre, independentemente do grupo controle ter ou não sido tratado pela salina, e que esta não reduz significativamente as lesões provocadas pela imobilização.

B) Efeito do sulfato de zinco sobre as lesões gástricas provocadas pela imobilização.

O sulfato de zinco foi administrado a dois grupos de ratos, nas doses de 8,8 mg/kg (3) e 17,8 mg/kg (3), por via intraperitonal, num volume de 1 ml, trinta minutos antes de serem imobilizados. Esses grupos foram comparados a um grupo controle (3), apenas imobilizado. Todos os animais haviam sido submetidos a jejum por doze horas antes do início dos tratamentos. Observamos que o zinco inibiu as lesões, de modo dose dependente. As reduções foram de 22,5 e 67,4% (diagrama 2).

C) Efeito do cloreto cúprico sobre a produção de lesões petequiais pela imobilização.

Este experimento foi composto por dois grupos de cinco animais. Ao primeiro grupo foi administrado 1 ml da solução de cloreto de cobre intraperitonealmente, trinta minutos antes de sua imobilização. O grupo controle foi apenas imobilizado.

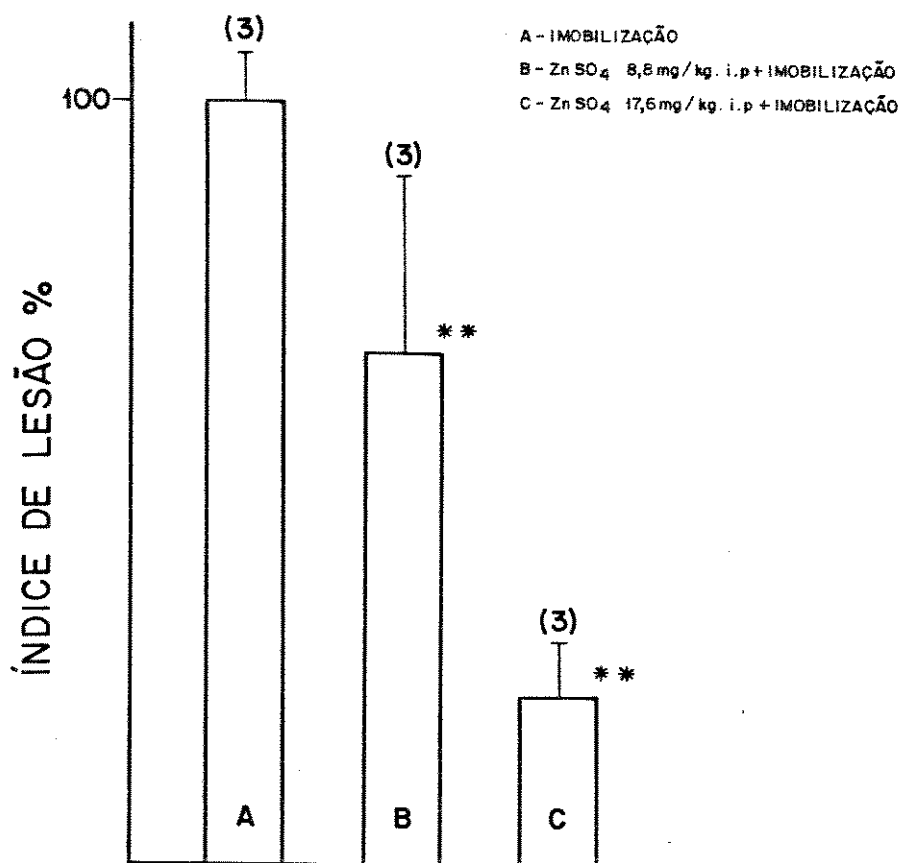


DIAGRAMA 2: Representação dos valores em termos percentuais dos índices de lesão produzidos pela imobilização e o efeito da irritação peritoneal pelo sulfato de zinco. Os tratamentos a que foram submetidos os grupos A, B e C, estão indicados ao lado da figura.

Observação: Os valores numéricos dos IL são: $4,9 \pm 0,5$ para A; $3,3 \pm 1,0$ para B e $1,1 \pm 0,5$ para C.

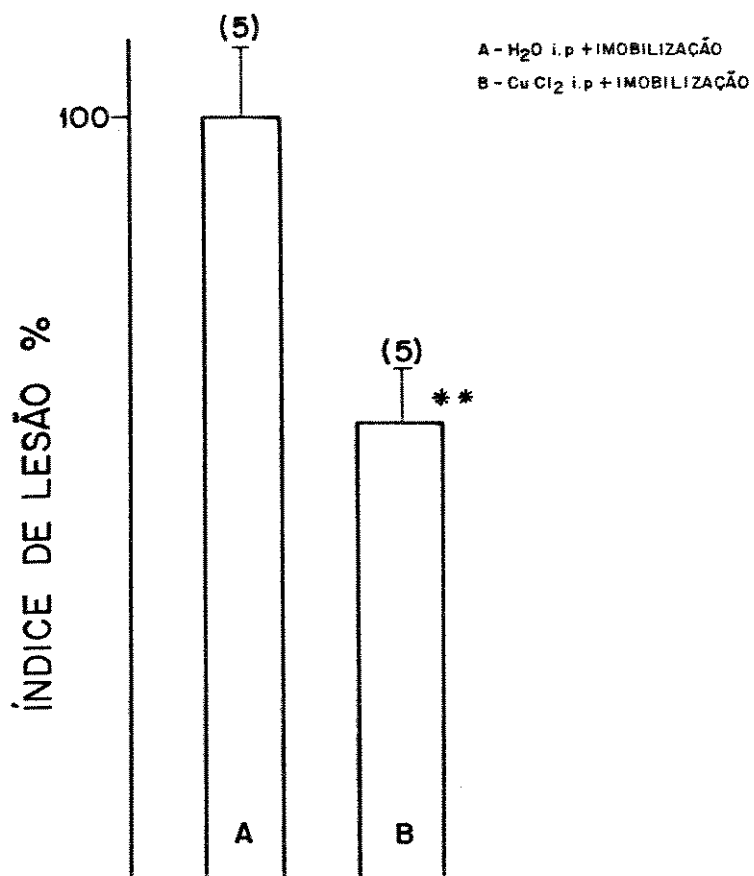


DIAGRAMA 3: Efeito do CuCl₂ sobre a produção de lesões gástricas pela imobilização.

Observação: Os valores numéricos dos IL são: $5,6 \pm 1,2$ para A e $3,4 \pm 0,8$ para B.

Ambos os grupos de ratos sofreram jejum doze horas antes do início dos tratamentos. Os ratos tratados com cloreto de cobre, na dose de 30 mg/kg, apresentaram significativa redução das lesões, em relação aos controles tratados com o veículo. A comparação da intensidade das lesões (diagrama 3) mostra redução de cerca de 34% no índice de lesão médio.

D) Efeito da N-acetilcisteína sobre a produção de lesões gástricas pela imobilização

Quatro grupos de ratos foram preparados da seguinte maneira: ao primeiro grupo, com seis animais, foi administrada a N-acetilcisteína na dose de 200 mg/kg, por via intraperitoneal, trinta minutos antes de ser submetido à imobilização (B). Três outros grupos serviram de controle (ABCD), sendo que um foi apenas imobilizado (A) e o terceiro permaneceu na gaiola sem imobilização (C), no mesmo ambiente dos demais, pelo mesmo período. Os grupos A, B e C sofreram jejum 12 horas antes do início do experimento.

O diagrama 4 mostra o agravamento das lesões provocadas pela imobilização nos animais previamente tratados pela N-acetilcisteína, administrada por via intraperitoneal. O índice de lesão sofreu aumento, em termos percentuais, de 96,4%. Observa-se, também diferença significativa entre os grupos controle, imobilizado e o que não sofreu tratamento (colunas A e C).

Os valores numéricos dos índices de lesão são:

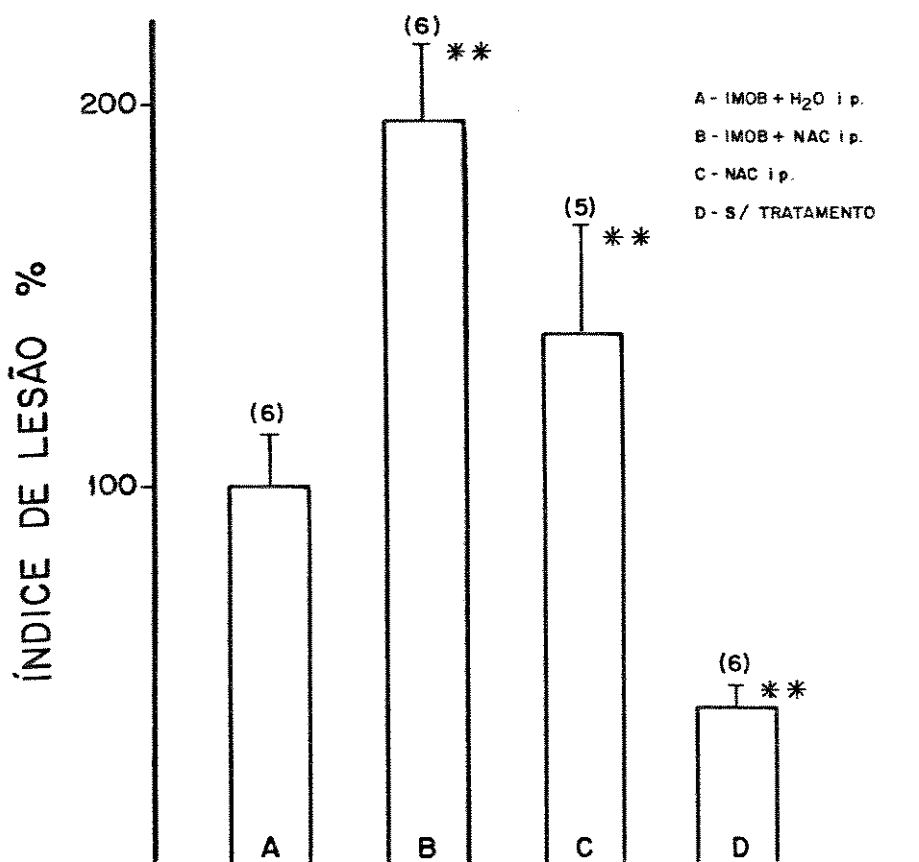


Diagram 4: Efeito da NAC sobre o desenvolvimento de lesões petequiais pela imobilização. À direita estão indicados os tratamentos referentes aos grupos A, B, C e D. Todos são estatisticamente diferentes entre si.

Observação: Os valores numéricos dos IL são: $2,8 \pm 0,5$ para A; $5,5 \pm 0,8$ para B; $3,9 \pm 0,8$ para C; $0,6 \pm 0,2$ para D.

2,8 ± 0,5, para o grupo que recebeu o veículo (salina) e, em seguida, foi imobilizado; 5,5 ± 0,8, para o grupo pré-tratado com NAC e 0,6 ± 0,2, para os animais em condições normais.

III - Irritação Gástrica Prévia e Lesões Gástricas pela Imobilização

A) Efeito do cloreto de sódio hipertônico sobre a indução de lesões gástricas pela imobilização

O objetivo desse experimento foi o de determinar o efeito da aplicação direta, intragástrica, de 2 ml de solução a 4% (diagrama 5) e 12,5% (diagrama 6) de cloreto de sódio, após jejum, com (B) e sem (C) imobilização. A comparação foi completada com o grupo A (jejum, água, imobilização). O grupo D, único sem jejum prévio, constou de seis animais e serviu como controle da produção espontânea de lesões. Os demais grupos foram compostos de cinco ratos cada.

A administração intragástrica de cloreto de sódio, em soluções hipertônicas a 4 e 12,5% produziu significativa redução das lesões provocadas pela imobilização dos ratos. Nos diagramas 5 e 6 estão representados os valores relativos dos índices de lesão, mostrando reduções praticamente iguais, de

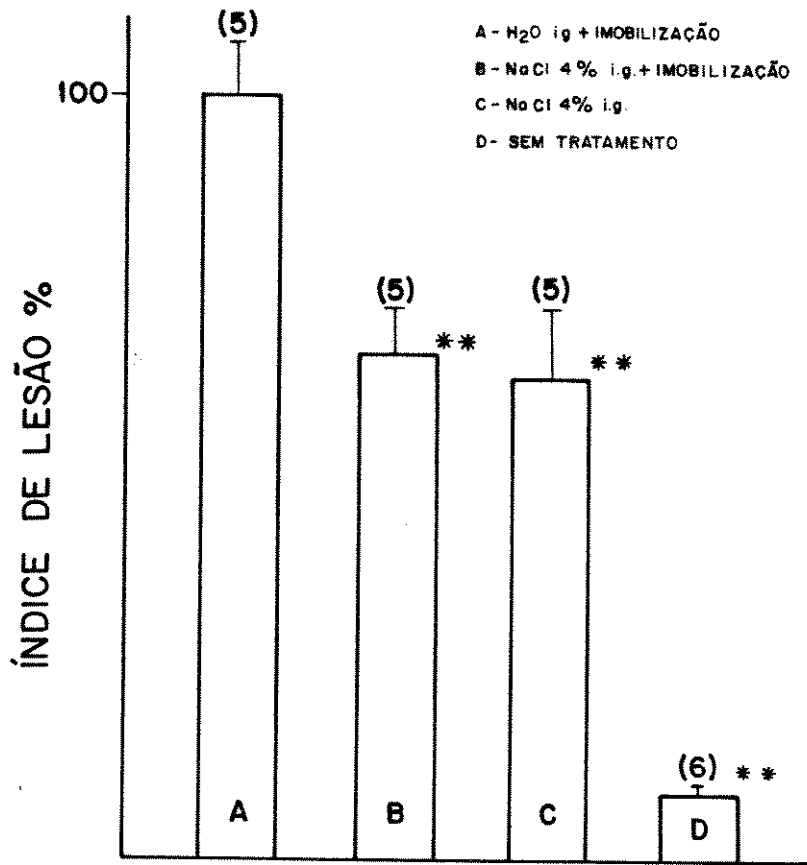


DIAGRAMA 5: Efeito do NaCl a 4%, i.g., sobre as lesões provocadas pela imobilização de ratos. As colunas representam os valores relativos dos IL produzidos pelos tratamentos indicados no quadro ao lado da figura. As diferenças são estatisticamente significantes pra AxB; AxC; AxD; BxD e CxD.

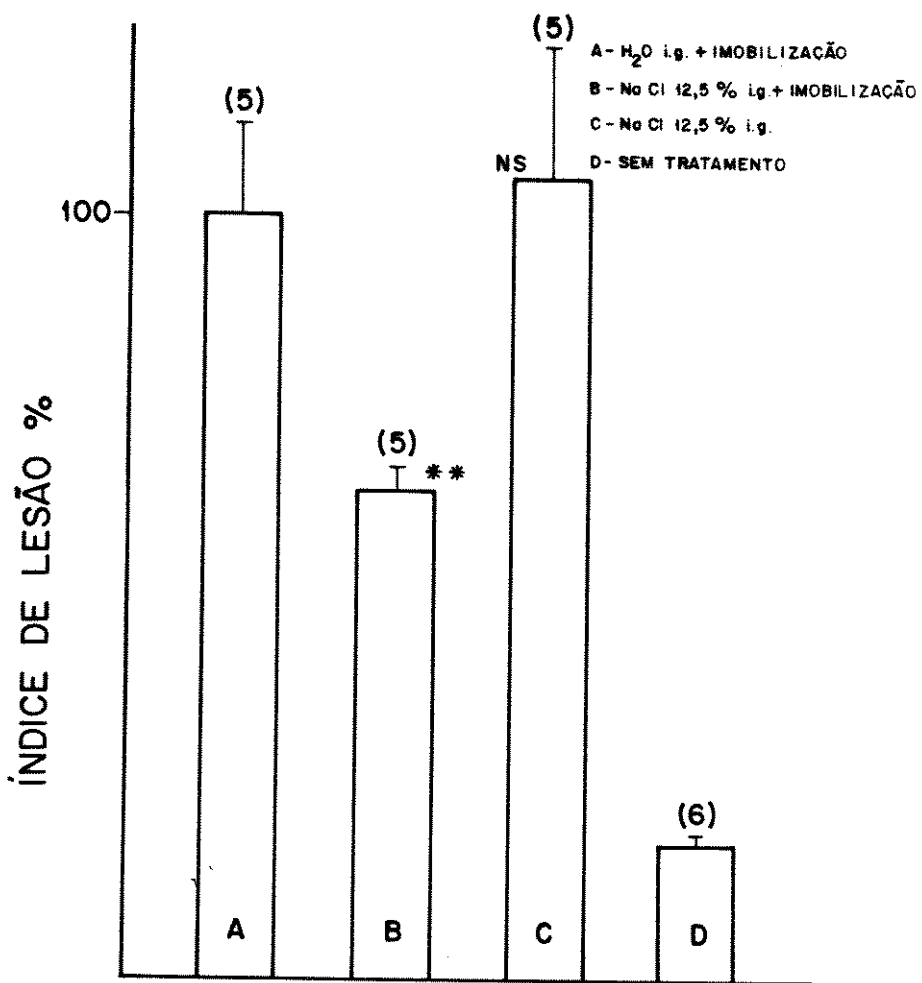


DIAGRAMA 6: Efeito do NaCl a 12,5% sobre as lesões gástricas produzidas pela imobilização. As colunas representam os valores relativos dos IL dos grupos, cujos tratamentos estão indicados no quadro ao lado da figura. São estatisticamente diferentes os grupos AxB; AxD; BxC; BxD e CxD.

34 e 35,5% provocadas pelas soluções a 4 e 12,5% respectivamente. Os valores numéricos dos IL ($\bar{X} \pm DP$) dos grupos são: $4,5 \pm 1,0$ para o grupo tratado e imobilizado; $4,3 \pm 0,7$ para o grupo que recebeu a solução a 4%; $6,8 \pm 1,1$ para o grupo imobilizado sem tratamento e $0,6 \pm 0,2$ para os animais que não sofreram qualquer tratamento. Para a concentração de 12,5% os valores foram: $2,2 \pm 0,2$ para o grupo tratado e imobilizado; $3,4 \pm 1,0$ para o que foi somente imobilizado; $3,6 \pm 1,3$ para o grupo somente administrado e $0,6 \pm 0,2$ para o grupo sem tratamento. A pequena diferença entre os grupos A e C (diagrama 6) não é significativa.

B) Efeito da solução aquosa hipertônica de sacarose sobre as lesões gástricas produzidas por imobilização

Vinte e um ratos constituíram quatro grupos A, B, C e D. Os quinze animais dos grupos iguais A, B e C foram submetidos ao jejum. Os animais do grupo D (6) representam as condições de manutenção no biotério, enquanto que os dos grupos B e C receberam sacarose 40% e os do grupo A, receberam água. O volume utilizado foi sempre de 2 ml, pela via intragástrica. Os grupos A e B foram imobilizados cerca de trinta minutos depois das aplicações.

A sacarose hipertônica a 40% produziu pequena porém significativa redução nas lesões produzidas pela imobilização. A representação dos valores relativos dos índices de lesão, no diagrama 7, mostra redução de 27,3% em relação aos con

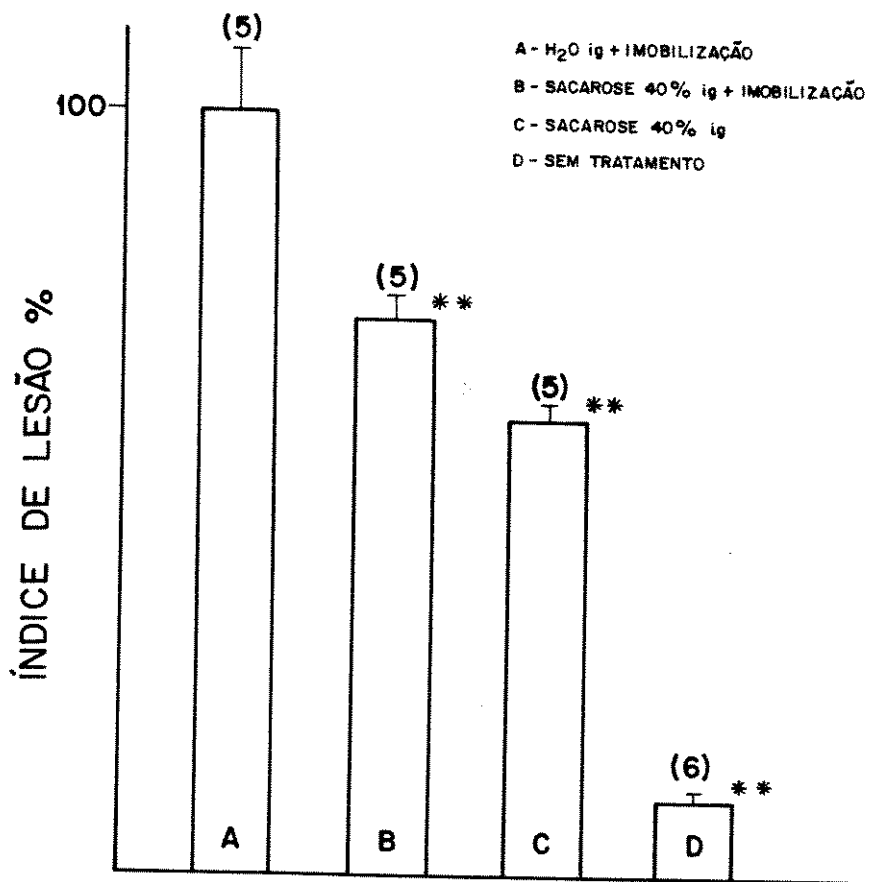


DIAGRAMA 7: Efeito da sacarose, 40% i.g., sobre a produção de petéquias pela imobilização. Ao lado da figura indicamos os tratamentos correspondentes. As diferenças são estatisticamente significantes para AxB; AxC; AxD; BxD; CxD.

troles. Os valores numéricos dos IL foram: $4,4 \pm 0,5$, $6,0 \pm 0,9$, $3,6 \pm 0,3$ e $0,6 \pm 0,2$ para os grupos tratado e imobilizado, imobilizado sem administração, tratado sem imobilização e o que permaneceu nas condições usuais de biotério, respectivamente. Observa-se elevado índice de lesão no grupo tratado apenas pela sacarose em relação aos animais normais (colunas C e D).

C) Efeito da solução de glicose hipertônica sobre as lesões gástricas induzidas pela imobilização,

Foram usados quinze ratos com jejum de doze horas, divididos em três grupos A, B e C iguais. Os animais de B e C receberam solução de glicose 40% e os do grupo A receberam água, sempre num volume de 2 ml por via intragástrica. Os 6 animais do grupo D foram introduzidos para comparação com a produção espontânea de lesões, tendo permanecido nas condições normais, com água e alimento "ad libitum".

O diagrama 8 mostra que o tratamento de ratos por uma solução hipertônica de glicose a 40%, por via i.g. (B), protegeu significativamente a mucosa contra as lesões petequiais produzidas pela imobilização, como se pode observar pela redução de 41,8% no valor do índice de lesão, em relação aos controles que receberam veículo (A). Os IL foram: $7,9 \pm 1,5$ para o grupo controle imobilizado: $4,6 \pm 0,9$ para o grupo tratado e imobilizado: $3,6 \pm 1,0$ para o grupo tratado pela glicose, mas sem imobilização e $0,6 \pm 0,2$ para os ratos em condições usuais de manutenção. Observa-se que também diferem sig-

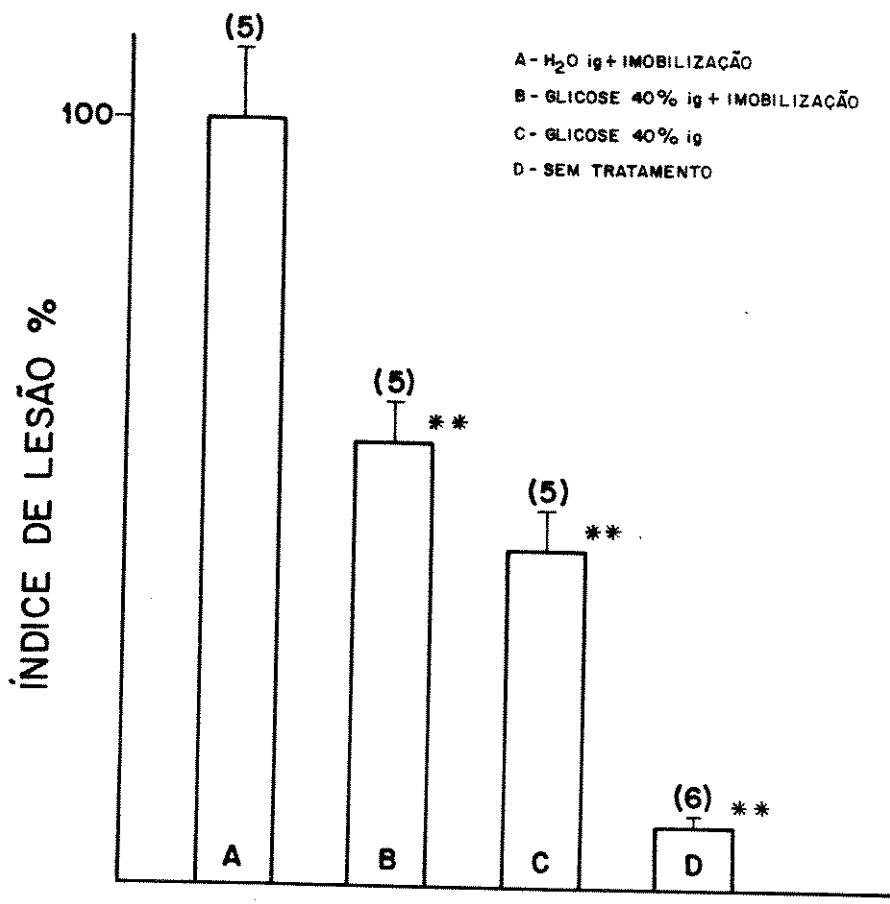


DIAGRAMA 8: Influência da glicose, 40% i.g., sobre a produção de lesões gástricas pela imobilização. Os tratamentos realizados estão indicados à direita da figura. São estatisticamente diferentes AxB; AxC; AxD; BxD e CxD.

nificativamente as lesões da mucosa gástrica de animais mantidos sob condições usuais de biotério (água e ração) e aqueles tratados pela glicose, após jejum porém sem imobilização (colunas C e D).

D) Efeito do sulfato cúprico sobre as lesões provocadas pela imobilização

Nos experimentos realizados com sulfato cúprico, correspondentes aos diagramas 9 e 10, três grupos de cinco animais, depois de um jejum de doze horas, foram submetidos aos seguintes tratamentos: os grupos A sofreram imobilização após terem recebido o veículo por via i.g., os grupos B, receberam aplicação intragástrica da solução de sulfato de cobre na dose de 5 mg ou 30 mg/kg, como mostram os diagramas 9 e 10, seguida de imobilização ou sem ela, nos grupos C. O grupo D foi acrescentado para ilustrar a diferença em relação às lesões espontâneas.

Os diagramas 9 e 10 mostram que o tratamento feito provocou redução, porém não significativa nas lesões da mucosa provocadas pela imobilização, nas duas doses aplicadas (colunas A e B). Observa-se também, que não há diferença significativa entre os controles que foram submetidos apenas à imobilização ou sulfato de cobre isoladamente, para as duas doses usadas (coluna C, nos diagramas 9 e 10).

Os IL foram: $4,7 \pm 1,2$ para o grupo A; $3,7 \pm 0,6$ para o grupo B; $4,8 \pm 0,8$ para o grupo C e $0,6 \pm 0,2$ para D,

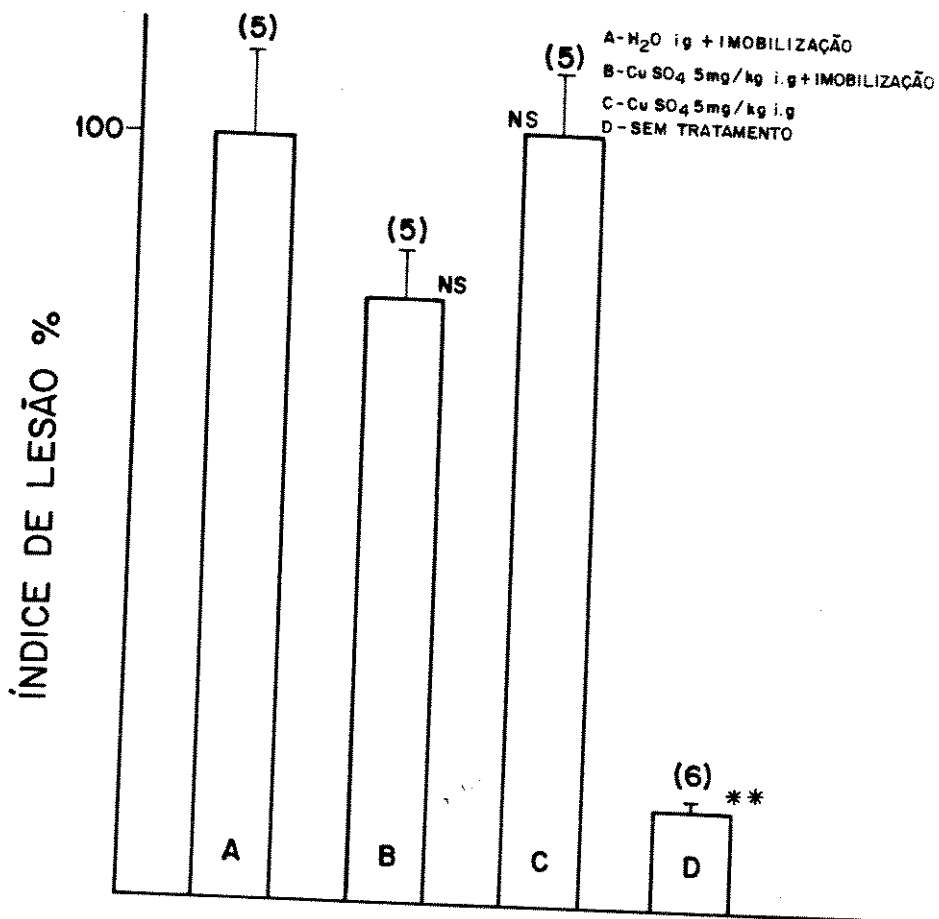


DIAGRAMA 9: Influência do CuSO_4 sobre as lesões da mucosa provocadas pela imobilização. As colunas representam os valores relativos das lesões. Os tratamentos estão indicados ao lado. Não há diferença significativa entre os IL dos grupos A, B e C. Todos os grupos diferem significativamente de D.

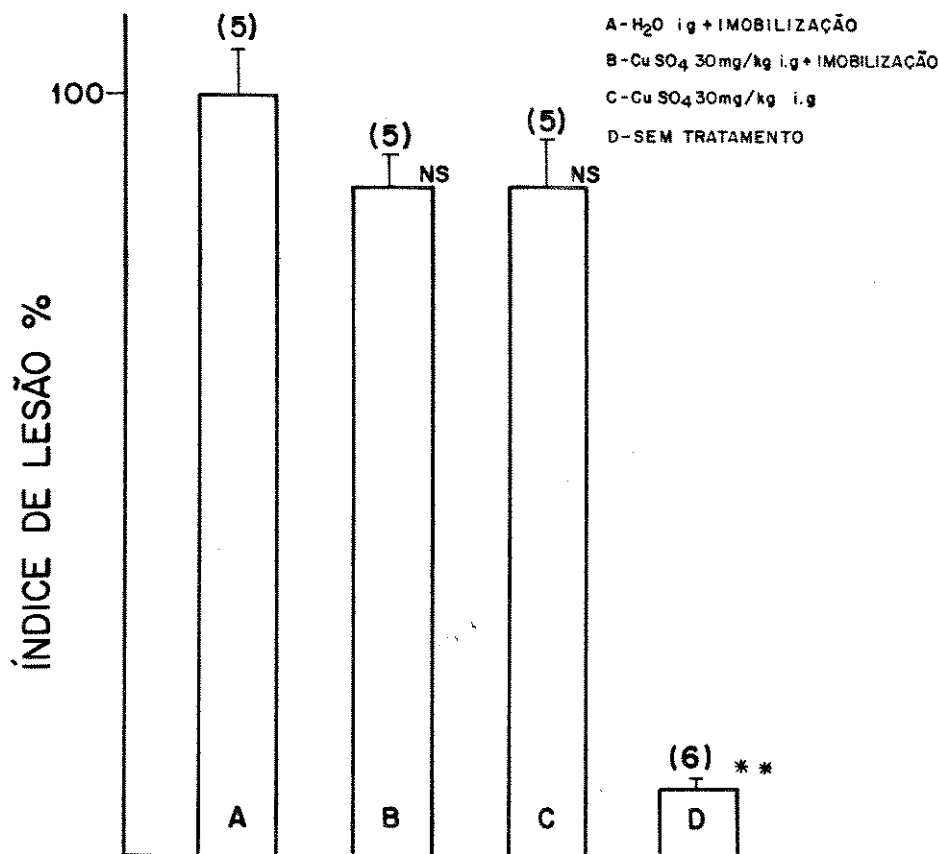


DIAGRAMA 10: Influência do CuSO₄ sobre a produção de lesões gástricas pela imobilização. Os tratamentos correspondentes as colunas A, B, C e D, estão indicados à direita da figura. Não há diferença significativa entre os IL dos grupos A, B e C, mas todos diferem de D.

quando a dose foi de 5 mg/kg. Para a dose de 30 mg/kg, os II foram: $6,6 \pm 1,0$, para A; $5,8 \pm 0,7$, para B; $5,8 \pm 1,0$, para C e $0,6 \pm 0,2$, para D.

E) Efeito do cloreto de cobre II sobre as lesões da mucosa gástrica induzidas pela imobilização

Nesse experimento comparamos os índices de lesão de animais (grupo D = 4) submetidos exclusivamente a jejum, com os índices de lesão (grupo E = 6) de animais sem qualquer tratamento e sem jejum, com os valores obtidos em três outros grupos A, B e C, com cinco animais cada um, todos em jejum. Os dos grupos A e B foram submetidos à imobilização. Os de B e C foram tratados pelo cloreto de cobre II na dose de 30 mg/kg, enquanto que os do grupo A receberam água, sempre no volume de 2 ml, sempre por via intragástrica.

Tal como o sulfato de cobre II, o cloreto de cobre II também não modificou as respostas da mucosa gástrica à imobilização, como mostra o diagrama 11, colunas A e B. Nota-se, entretanto, que os animais tratados apenas com o cloreto de cobre apresentaram índice de lesão significativamente menor do que os grupos imobilizados, tratados ou não. Este fato diferencia esse tratamento do correspondente ao sulfato cúprico. Observamos também, que o tratamento pelo cloreto cúprico após jejum (C) não aumenta as lesões provocadas exclusivamente pelo jejum (D).

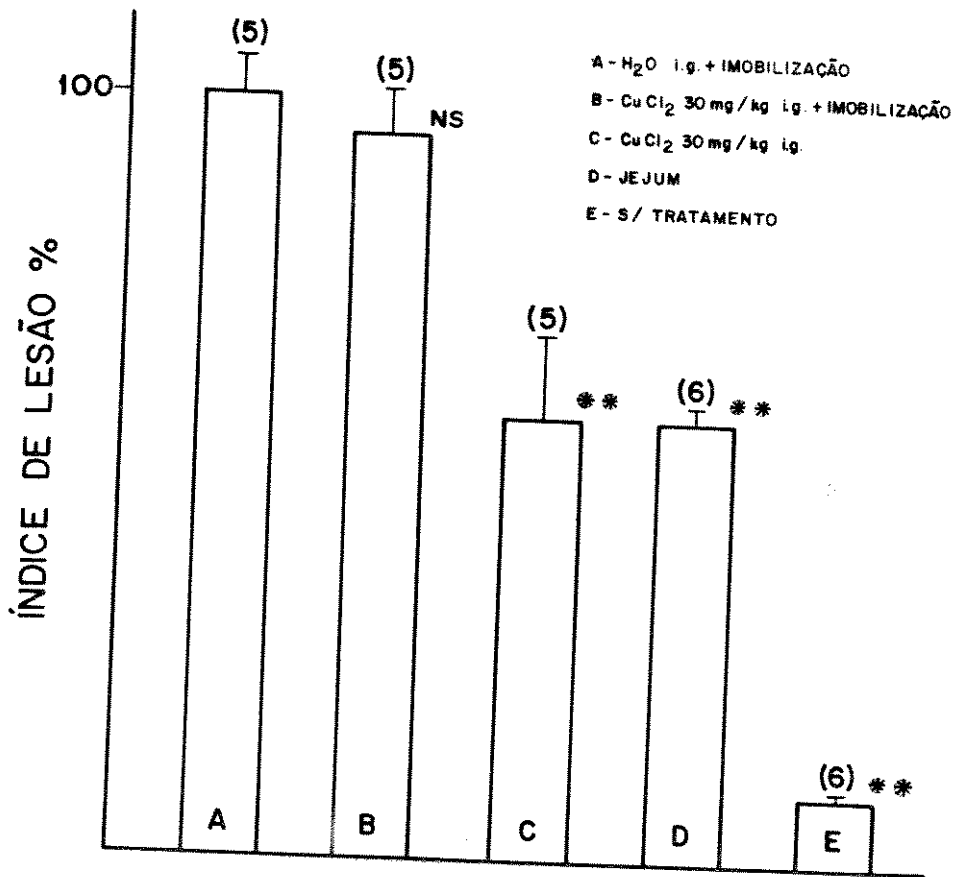


DIAGRAMA 11: Efeito do CuCl₂ sobre as lesões da mucosa gástrica induzidas pela imobilização. As colunas representam os IL em valores percentuais e os tratamentos estão indicados ao lado da figura. As diferenças são significantes para: Ax C; Ax D; Ax E; Bx C; Bx D; Bx E; Cx E; Dx E.

IV) Tempo de Permanência no Estômago de Soluções de Concentrações Variadas .

O objetivo desse experimento foi o de se obter uma estimativa do tempo de permanência da água, soluções de cloreto de sódio iso (0,9%), hipo (0,4%) e hipertônica (12,5%) e de sacarose e glicose concentradas (40%), no conteúdo gástrico de ratos em jejum, aplicados com volume de 4 ml, por meio de cânula gástrica. Dezoito grupos de dois animais receberam essas soluções e foram sacrificados após períodos de tempo discriminados na tabela 6.

Solução (subst./conc.)	Volume Medido (ml)	Tempo até Medida (min)
água destilada	(0,5 - 0,5)	05
água destilada	(0,3 - 0,4)	30
cloreto de sódio (0,4%)	(0,1 - 0,2)	30
cloreto de sódio (0,4%)	(0,2 - 0,0)	60
cloreto de sódio (0,9%)	(0,3 - 0,1)	30
cloreto de sódio (0,9%)	(0,0 - 0,2)	60
cloreto de sódio (12,5%)	(6,0 - 5,0)	05
cloreto de sódio (12,5%)	(4,5 - 5,0)	10
cloreto de sódio (12,5%)	(5,5 - 5,0)	30
cloreto de sódio (12,5%)	(5,0 - 5,0)	60
cloreto de sódio (12,5%)	(6,0 - 6,0)	180
sacarose (40%)	(5,5 - 4,5)	05
sacarose (40%)	(5,0 - 4,0)	20
sacarose (40%)	(5,5 - 3,5)	60
sacarose (40%)	(0,4 - 0,2)	180
glicose (40%)	(3,5 - 3,7)	20
glicose (40%)	(3,8 - 5,0)	60
glicose (40%)	(0,4 - 0,6)	180

A Figura 1 registra a velocidade do esvaziamento gástrico após a administração das soluções, nas concentrações e tempos indicados na tabela 6.

Observamos que nestas condições, a água tem um período muito breve de permanência no estômago, tendo-se reduzido a volume insignificante já após os primeiros dez minutos. Neste intervalo, evidencia-se o comportamento contrastante das soluções hipertônicas (NaCl a 12,5% e sacarose a 40%) e das soluções iso e hipertônicas de cloreto de sódio. Assim, já aos cinco minutos, observa-se significativo aumento no volume recuperado das soluções concentradas, enquanto que as soluções diluídas do sal mostram tendência pronunciada no sentido oposto, atingindo aos trinta minutos valores muito reduzidos. Por sua vez, a solução hipertônica de glicose não sofreu alteração de volume digna de nota, até a primeira hora, tempo em que a solução de cloreto de sódio hipertônico ainda apresenta volume maior que os 4 ml iniciais. Aos cento e oitenta minutos, verificamos que os valores finais dessa observação correspondem a volumes mínimos para os açúcares, enquanto que permanece elevado o volume do conteúdo gástrico nos ratos que foram tratados pelo cloreto de sódio hipertônico.

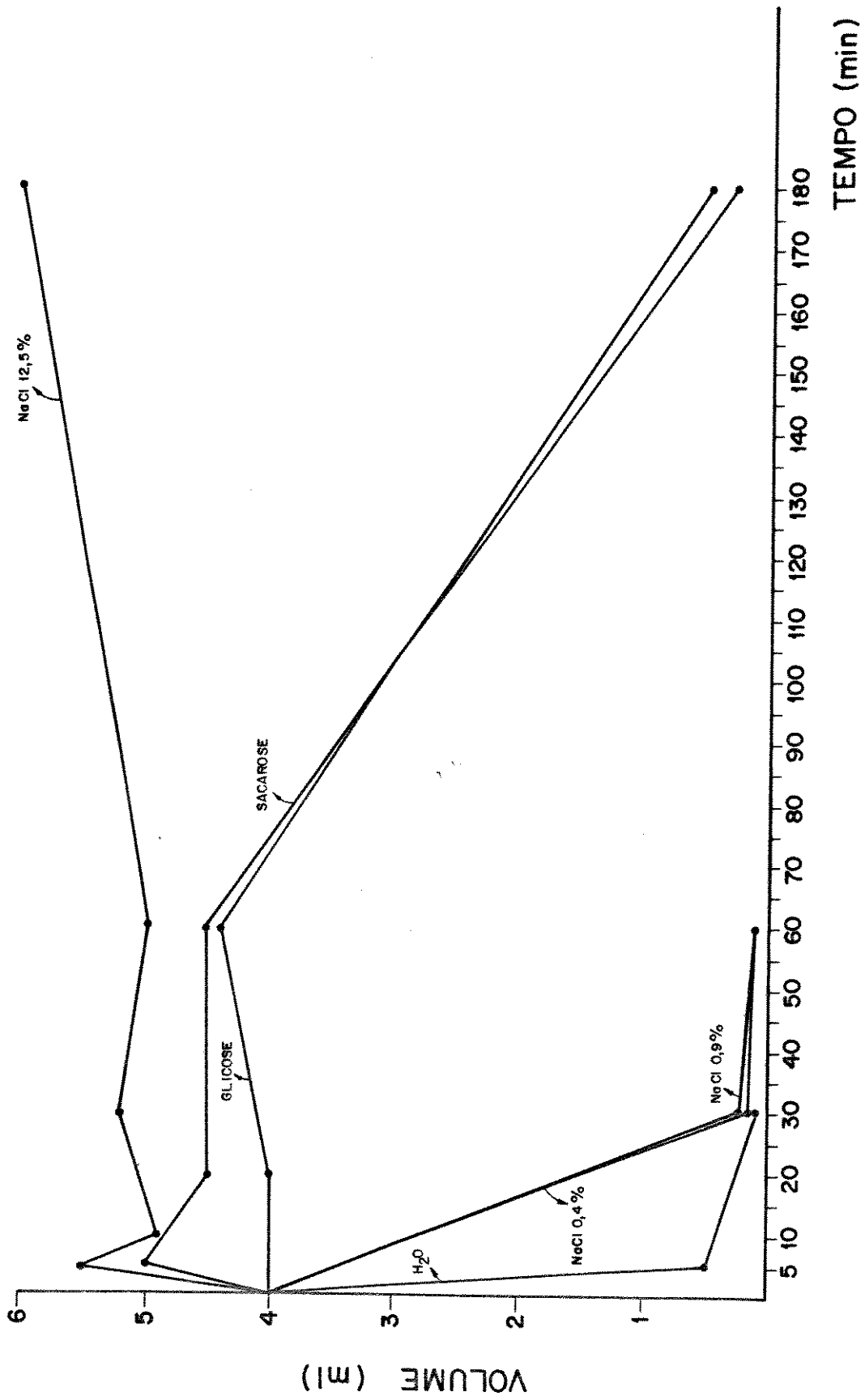


FIGURA 1: Cinética do esvaziamento gástrico para as soluções de cloreto de sódio a 0,4-0,9 e 12,5%, glucose e sacarose a 40%.

DISCUSSÃO

DISCUSSÃO

A produção experimental de lesões gástricas ulcerativas tem sido bastante estudada por meio de numerosas técnicas, em várias espécies animais. Observa-se, da vasta literatura especializada, que o procedimento de imobilização de ratos e sua simultânea exposição a baixas temperaturas foi adotado com grande freqüência na ulcerogênese experimental (Senay e Levine, 1967; Glavin e Mikhail, 1976; Wozniak e Goldstein, 1980; Cho e Ogle, 1978; Garrick e cols, 1986). A técnica de ligadura do piloro, descrita por Shay e cols. (1945), é hoje menos empregada, limitando-se a estudos diretamente relacionados com a secreção gástrica. Nas condições de imobilização associada ao resfriamento ocorre interação de fatores agressivos que atuam sinergisticamente na produção de lesões. Assim, o processo de anestesia, quase sempre utilizado para facilitar a contenção do animal, o abaixamento da temperatura freqüentemente justificado pela redução no tempo necessário para o aparecimento das lesões, o jejum, além da própria imobilização, todos influenciam de alguma maneira a intensidade da agressão a que o animal é submetido. O resultado final desse procedimento é a formação de lesões do tipo ulcerativo (Senay e Levine, 1967; Glavin e Mikhail, 1976; Goldstein e Wozniak, 1979; Garrick e cols., 1986; Cho e Ogle, 1978).

Na ulcerogênese experimental é fácil acreditar que o jejum é essencial, seja pelo fato conhecido de que o estômago está mais exposto à agressão quando vazio, seja também pela enorme dificuldade de se padronizar um tipo ou quantidade

de alimento que permanecesse no órgão durante o período de produção das lesões, de modo igual, nos vários animais de experimentação.

Entretanto, o abaixamento da temperatura ambiente impõe ao animal exigências profundas e imediatas de modificações de todo seu metabolismo, envolvendo praticamente todo seu sistema neuro-endócrino com adaptações mais ou menos eficazes da circulação sanguínea, com reflexos importantes sobre a função digestiva. Por essa razão, procuramos desenvolver uma técnica para obtenção de lesões gástricas que fosse não-invasiva e, ao mesmo tempo, a mais simples do ponto de vista dos mecanismos internos solicitados. Além disso, que permita estudar nos mesmos animais de experimentação as reações inflamatórias iniciais sobre a mucosa, sua normalização, nova reação, e assim sucessivamente, conforme discutiremos.

Adotamos, a convenção de Weinschelbaum (1974), de que os defeitos da mucosa limitados à região acima da "muscularis mucosae" sejam chamados de erosões, reservando o termo úlcera para as soluções de continuidade mais profundas, que pelo menos ultrapassem a "muscularis mucosae".

O desenvolvimento de lesões gástricas do tipo ulcerativo por imobilização de ratos, combinada ou não ao frio, foi analisado sob vários aspectos por diversos autores como Rossi e cols. (1956), Brodie e Hanson (1960), Senay e Levine (1967), Vincent e cols. (1980), Vincent e cols. (1977). Rossi e cols. (1956) e Brodie e Hanson (1960), imobilizando animais por meio de telas de arame, analisaram os fatores potencialmente influentes na produção e desenvolvimento das úlceras gástricas em ratos, com ou sem jejum prévio. Os primeiros autores

salientaram a importância da desidratação, enquanto que Brodie e Hanson concluíram que o jejum prévio agrava as lesões, que são tanto mais evidentes quanto maior o período que fizeram variável de seis a vinte e quatro horas, no qual mantiveram imóveis os animais.

Wozniak e Goldstein (1980), analisando a influência do período de jejum sobre a ulcerogênese experimental em ratos Wistar, machos ou fêmeas, concluíram que curtos intervalos de privação de alimento têm pouca influência sobre a região glandular, mas seu prolongamento até cento e quarenta e quatro horas está associado a lesões consistentes no rúmen dos animais. Vincent e cols. (1980), com a associação da imobilização em baixas temperaturas e jejum, verificaram que nem um jejum tão prolongado quanto o de quarenta e oito horas, nem a imobilização por três horas de ratos saciados, acrescidos de exposição ao frio de 4 a 7°C eram capazes de produzir úlcera gástrica nesses animais. A associação entre um intervalo ótimo de doze horas de jejum seguido de imobilização por três horas e frio era necessário para o aparecimento de úlceras na região glandular de ratos (Vincent e cols, 1980; Goldstein e Wozniak, 1979). Wozniak e Goldstein (1980) assinalaram ainda que a presença de alimento no estômago dos animais oferecia proteção à mucosa contra as lesões, quando se permitia que os ratos se alimentassem depois do período de jejum, antes da imobilização. Afirmaram que a presença física do alimento no estômago é crítica para a sua proteção. Entretanto, esse procedimento de permitir que o animal se alimente depois do período de jejum está, provavelmente, proporcionando, adicionalmente, uma recuperação parcial do estresse causado inicialmente pela

privação do alimento.

As afirmativas em relação aos efeitos agravantes do jejum na úlcera produzida pela imobilização (Goldstein e Wozniak, 1979; Vincent e cols. 1980) estão entretanto em claro contraste com os resultados anteriores de Robert e cols. (1966) que observaram efeito protetor do jejum, na formação de úlcera gástrica pelo estresse.

Nossos resultados mostram que o período de trinta e seis horas de jejum, sem imobilização, resulta em índices de lesão significativamente menores, comparados com vinte e quatro horas de imobilização precedidas de jejum por doze horas (tabela 4).

Distinguimos dois períodos de jejum. O jejum prévio que antecede a imobilização e o jejum simultâneo que a acompanha sempre. Verifica-se que o jejum prévio de doze horas é essencial para a produção de petéquias em número significativo quando os animais são imobilizados por vinte e quatro horas (tabela 4). Esses dados concordam com os anteriores de Goldstein e Wozniak (1979) e Vincent e cols (1980), nos quais o jejum seguido de imobilização associados ao frio levam as lesões do tipo ulcerativo.

O método aqui descrito não seria, provavelmente, apropriado para a obtenção de úlceras gástricas propriamente ditas, pois para isso o período de imobilização teria que ser substancialmente prolongado. Isso implicaria num significativo aumento do tempo de jejum imposto ao animal, que acarreta graves alterações metabólicas.

Em experimentos com animais de laboratório existe

número limitado de dados que além disso são freqüentemente conflitantes quanto à susceptibilidade da patologia gástrica provocada pelo estresse em função da idade. Esta deficiência é lamentável quando se considera a relevância dessa informação. Nos experimentos de Sawrey e Sawrey (1966), citados por Goldstein e Wozniak (1979), ratos de 164 dias exibiram maior incidência de erosões que os mais jovens (84 ou 124 dias). Já Paré e cols. (1979) não encontraram diferenças de respostas ao estresse entre animais de 50 a 120 dias. Para Goldstein e Wozniak (1979) os resultados da associação do jejum com a imobilização e o frio em ratos adultos não se repetem se os animais estiverem em idade de desmame, quando o sofrimento da região glandular gástrica se deve principalmente ao jejum, que exerce nestes animais pouco efeito potencializador sobre o da imobilização.

Brodie e Hanson (1960) dividiram ratos em dois lotes, jovens e adultos, segundo um critério de peso médio maior e menor que 180 gramas. Esses animais, todos machos, da raça Holtzman, apresentaram diferença nos índices de lesão, sempre maiores nos mais jovens. À semelhança desses autores, tomando o peso de 150 gramas como base para separar dois grupos, mostramos que também as lesões pré-ulcerativas provocadas pela imobilização em tubos rígidos, sem associação de frio ou anestesia, são mais graves nos animais mais leves e a diferença é estatisticamente significativa, como mostra a tabela 1.

Os resultados discordantes, de Paré e cols. (1980) já mencionados são importantes para esclarecer que a correlação peso-idade é complicada, particularmente na análise de respostas inflamatórias. Numa condição ideal, estes experimentos

deveriam ser acompanhados das curvas de crescimento dos animais desde o nascimento até o final do experimento, incluindo sempre um grupo sem tratamento mas com todos os processamentos técnicos simulados.

Há dificuldades para se interpretar os experimentos já citados de Wozniak e Goldstein (1980), em que após o jejum os animais recebem alimento antes de serem imobilizados. É preciso considerar o significado desse repasto sobre o experimento, face também ao observado por Lepkovsky e cols. (1967) os quais demonstraram que ratos submetidos a períodos intermitentes de jejum realizam hiperfagia compensatória no período de alimentação. Davemport (1978) afirma que a digestão gástrica é, ela própria, em função da natureza do alimento, uma leve agressão à mucosa.

A secreção de muco é estimulada pelo contato mecânico com o alimento e durante a digestão a camada mucosa varia de espessura de uma área para outra, como varia também, regionalmente, o conteúdo de células descasmadas (Cameron, 1971). Percebe-se com clareza que a multiplicidade de fatores influentes têm impossibilitado avanços decisivos na compreensão das relações causa-efeito na ulcerogênese experimental. Modelos experimentais extremamente simples como o que estudamos, onde as petéquias são a evidência macroscópica de lesão, onde a sucessão petéquia-regeneração é contínua interessam também porque a adaptação da mucosa é muito semelhante ao que ocorre quando são efetuadas exposições repetidas a um irritante moderado (Bolton e Cohen, 1978; Lacy, 1985).

Bailey e cols. (1963) e mais tarde Vincent e cols. (1977) imobilizaram seus animais em decúbito dorsal, mas em

ambos os casos associaram o abaixamento da temperatura. Também para nós, as lesões petequiais são significativamente mais freqüentes na posição supino em relação a posição vertical, com a cabeça para cima ou para baixo (tabela 5). Em supino, o estímulo gerado pela necessidade de endireitamento atua de modo contínuo e deve representar, como sugerem os resultados, fator significativo na origem das lesões da microcirculação gástrica, enquanto que a posição vertical se afasta menos do fisiológico, para esta espécie animal.

Autores como Tran e Gregg (1974a) observaram e deram grande importância a uma redução significativa da temperatura registrada no cólon de ratos submetidos à imobilização, logo nos primeiros trinta minutos que a sucedem. Sugeriram que a ulcerogênese decorria de um fator produzido ou liberado como consequência do abaixamento da temperatura dos animais (Tran e Gregg, 1974b).

Observações feitas por nós seguindo dezenas de protocolos experimentais permitiram estabelecer um padrão muito constante de comportamento reacional dos ratos durante e depois da imobilização. No ato da contenção, delicada porém firme, o animal luta para se libertar. Uma vez preso e quase que totalmente imobilizado, permanece em atividade física intensa durante aproximadamente duas horas. Segue-se período de gradual esmorecimento das reações físicas até quietude quebrada apenas pela vocalização, também paulatinamente diminuída em intensidade e freqüência. Nas nossas condições, conquanto não tenhamos medido a temperatura dos animais, não cremos, como relataram Tran e Gregg (1974a), possa haver nos trinta minutos iniciais queda da temperatura corpórea dos animais. O que

estes autores observaram deve decorrer do procedimento cirúrgico complexo realizado para manter os animais em pares parabióticos. Apesar do período de jejum, a descarga de catecolaminas das adrenais e de noradrenalina dos neuroterminais simpáticos, além dos adrenocorticosteróides lançados à circulação devem garantir aceleração metabólica com conseqüente calorígenes. O padrão de liberação dessas substâncias em ratos submetidos à imobilização é conhecido em detalhes, como por exemplo o aumento da atividade tanto da tirosina-hidroxilase como da dopamina-beta-hidroxilase, a primeira pelo aumento da atividade neuronal e a segunda pela estimulação tanto do eixo hipófise-adrenal como da neuratividade. Esses aspectos foram excelentemente revistos por Axelrod e Reisine (1984).

A aceleração do consumo de oxigênio, isto é, da atividade metabólica celular pode representar fator ponderável na gênese das lesões gástricas principalmente considerando-se a enorme velocidade de renovação do epitélio (Croft e Cotton, 1973; Stevens e Leblon, 1953). Mais ainda, existe uma significativa diferença regional na velocidade de renovação das células da mucosa gástrica em ratos, sendo de 2,9 dias na região fúndica, de 1,9 dias na região pilórica e de 6,4 dias para as células do cólon glandular, mais profundamente situadas (Cameron, 1971). Há também transição gradual entre a renovação celular fisiológica e a descamação que ocorre em algumas patologias reunidas sob a designação de "high turnover diseases" ou na renovação acelerada experimentalmente pelo contato da mucosa gástrica com substâncias irritantes (Croft e Cotton, 1973). Se por algum motivo a renovação é deficiente pode ocorrer erosão da mucosa, com exposição dos capilares subjacentes, suce-

12

dendo-se a hemorragia, em função da natureza dos fatores agressivos bem como do tempo de sua atuação (Higson e Ito, 1978, p.108).

A descarga simpática, além dos eventos metabólicos que produz, realiza modificações importantes na circulação da parede gástrica por meio da noradrenalina liberada cuja ação vasoconstritora é bem conhecida. Com a vasoconstrição, o fluxo sanguíneo total é reduzido, ocorrendo hipotensão relativa nos capilares da mucosa, os quais se ramificam em ângulos retos a partir do plexo arterial submucoso. Após a vasoconstrição, manifesta-se hipoperfusão, pela lentidão do fluxo sanguíneo capilar e talvez, pela formação de micro-trombos nos vasos menores contraídos, agravada pela estase venular (MacGreevy e Moody, 1981).

A provocação de hipoxemia pela redução experimental do oxigênio do ar inspirado leva ao aparecimento de típicas úlceras de estresse. O tono alfa-adrenérgico é dominante e agrava a hipoxemia porque coexiste com aumento da demanda de oxigênio. Ocorre então, um déficit energético celular. Essa hipótese nunca pôde ser diretamente comprovada, uma vez que a deficiência circulatória não leva à ulceração, sem auxílio de fatores adjuvantes. Contudo, tanto a simpatectomia como o bloqueio alfa-adrenérgico impedem o aparecimento das lesões mucosas (Menguy e Masters, 1978).

A estrita vulnerabilidade da mucosa gástrica em situações de hipóxia, como ocorre no choque hipovolêmico pode ser atribuída à sua exigência quanto ao suprimento sanguíneo, uma vez que esse epitélio é incapaz de realizar glicólise anaeróbica (Menguy e Masters, 1978). O exemplo sempre lembrado de que a aspirina produz lesões sem redução do fluxo san

guíneo não é importante, já que neste caso o desacoplamento da fosforilação oxidativa seria o fator crítico (Flower e cols. 1985).

O estômago de roedores, na sua região glandular contém normalmente altas concentrações de glutathione (GSH) reduzido (Boyd e cols., 1979) fundamental na manutenção da integridade física e funcional das células. Assim, por exemplo, lesões gástricas pelo etanol são precedidas por redução na concentração de GSH, e podem ser prevenidas por substâncias protetoras de grupos sulfidrilas (Szabo e cols., 1981). Esse efeito é o que esperávamos observar quando usamos a N-acetilcisteína. Entretanto, ocorreu uma elevação de mais de 90% no índice de lesão (diagrama 4) quando este aminoácido foi administrado por via intra-peritoneal. Esses resultados podem ser atribuídos à quebra das pontes dissulfeto entre as subunidades das glicoproteínas estruturais, promovendo desorganização da barreira protetora de muco. Assim, nestas condições experimentais prevalece a ação direta, a curto prazo, da N-acetilcisteína sobre o muco gástrico.

Outros fatores de variação precisam, contudo, ser analisados. Vinegar, em 1979, alertou que quando se usam ratos em experimentação eles devem estar livres de processos pneumônicos agudos ou sub-agudos que pervadem e prevalecem em muitas colônias de criações convencionais, e que tanto o desenvolvimento de reações inflamatórias experimentais como a hiperalgesia estão diminuídos em relação aos animais saudáveis (Vinegar e cols., 1979). Nós observamos ao longo de vários anos, que ratos Wistar na faixa de peso entre 90 e 180 gramas, submetidos a jejum sólido por doze horas, revelam perda de peso com

distribuição bastante variável, assumindo desde valores quase nulos até aproximadamente 20 gramas. Considerando a prevalência significativamente mais elevada de condições patológicas nos períodos de inverno, e que estes animais são criados em condições convencionais, admitimos que a queda da resistência, nos meses mais frios do ano poderia representar fator decisivo para aparecimento das manifestações clínicas pelo agravamento de processos inaparentes, isto é, infecções sub-clínicas. Sendo assim, selecionando os animais grandes e pequenos perdedores de peso no jejum, poderíamos verificar experimentalmente se a susceptibilidade à formação de petéquias na mucosa gástrica pela imobilidade poderia se distribuir de modo diferente nestas duas amostras de animais. Nossos resultados (tabela 2) mostram que a diferença das lesões entre as amostras não é significativa no nível de 5% de probabilidade. Esses resultados obtidos no mês de novembro não excluem a possibilidade de que esses grupos de grande e pequena perda de peso no jejum difiram realmente entre si quando a temperatura média ambiental for baixa.

Foi demonstrado experimentalmente neste laboratório (Castro, 1986) que a intensidade da reação edematógena à administração sub-plantar de um agente flogógeno, como por exemplo a carrageenina em ratos, depende estreitamente da presença simultânea de reações inflamatórias. Esse fenômeno permite aplicar o teste da CRRG, para estimar a severidade dessas reações prevalentes nos animais que chegam ao laboratório, e confirmam desse modo as observações de Vinegar (1979).

As susceptibilidades dos ratos à ulcerogênese pela imobilização nos períodos I e V, diferem significativamente

entre si. O índice médio de lesão é menor no período I (tabela 3). É sugestivo o fato de que a incidência de processos inflamatórios respiratórios entre ratos, em biotérios de criação seja mais elevada no inverno. Esse resultado concorda com a afirmativa de Vinegar (1979) sobre a redução das reações de dor e inflamação revelada pelos animais com processos patológicos. Restaria saber se a capacidade reacional está diminuída ou se se trata de simultaneidade com outros processos inflamatórios pouco ou não aparentes, em outros órgãos, já que, pelo menos para reações a substâncias irritantes, a capacidade total do organismo parece estar limitada pelos mecanismos contra-irritativos, ainda incompletamente conhecidos.

Concluindo o estudo da técnica para obtenção de lesões gástricas produzidas apenas pela imobilização podemos afirmar que dominamos uma metodologia caracterizada pela sua simplicidade, considerando-se que, após algum treino, pode-se executar a imobilização cuidadosa de um animal em cerca de dois minutos, sem a necessidade de anestesiá-lo e, principalmente, sem fazer uso de procedimentos cirúrgicos ou fortemente agressivos. O material utilizado é de fácil obtenção e preparo. Da maneira como são construídos, os tubos de PVC têm vantagens sobre as telas de arame usadas por Rossi e cols. (1956) e Brodie e Hanson (1960), visto que o grau de pressão exercido por essas telas semi-flexíveis sobre as várias partes do corpo do animal nunca é homogêneo, e as tentativas de movimentação feitas pelos animais produzem lesões maiores ou menores, por exemplo na cabeça ou nos membros superiores. Mais importante do que isso, e uma das razões de havermos abandonado este material é que não se consegue o mesmo grau de imobilização para os vários animais,

ainda que anestesiados durante sua fixação. O tipo de resposta obtida é o de lesões pré-ulcerativas, caracterizadas pela formação de típicas petéquias sob a mucosa gástrica.

Tendo analisado as características das condições experimentais que levam à patogênese pela imobilização em ratos Wistar, e considerando a boa reprodutibilidade da técnica utilizada, a etapa subsequente foi o estudo da susceptibilidade das respostas petequiais da mucosa gástrica à presença de substâncias irritantes quer no local, quer à distância.

A carrageenina é o agente flogógeno mais utilizado atualmente para a análise experimental de substâncias potencialmente anti-inflamatórias. Antes de sua introdução com esse objetivo por Winter e cols. em 1962, já havia sido comprovada (Anderson e Watt, 1959) sua ação inibitória sobre a atividade péptica tanto "in vitro" como "in vivo". A reação ocorre entre os grupos sulfatados carregados negativamente e os grupos positivos das moléculas de proteínas. A carrageenina também forma complexo com o componente protéico do muco que recobre a mucosa gástrica (Piper e Fenton, 1961).

Interessa-nos particularmente a análise das ações anti-inflamatórias de substâncias potencialmente flogógenas, pois sugerem envolvimento de mecanismos contra-irritativos. Neste sentido se coloca também a observação de Riis e cols. (1973) de que a sulfasalazina é eficiente no tratamento da inflamação intestinal, por exemplo na colite ulcerativa. Tal efeito decorre da liberação no intestino, do ácido 5-aminosalicílico que se acumula. Glickman (1983) afirma que o componente salicilato liberado atua terapêuticamente sobre a colite ulcerativa através da inibição da biossíntese de prostaglan

dinas. A própria aspirina que na maioria das vezes exerce ação fortemente agressiva sobre mucosas hígidas (Garrett, 1959), aplicada topicamente, possui alguma ação analgésica ou mesmo anestésica local, especialmente sob a forma de pó, aplicada na laringe ou nas tonsilas inflamadas, ou aliviando o prurido cutâneo, quando aplicado sobre a pele na forma de pomada. Afirma-se que esses efeitos são provocados pela própria molécula do ácido acetil-salicílico (Willete, 1977).

Com efeito, as observações de Winternitz realizadas em 1901 já chamavam a atenção para a importância do fenômeno biológico pelo qual o óleo de santal administrado "per os" a coelhos provoca irritação gástrica, que por sua vez, inibe respostas inflamatórias provocadas pela instilação de veneno de abelhas no saco conjuntival desses animais.

Não há consenso em relação à participação causativa de prostaglandinas no processo de adaptação da mucosa gástrica à agressão, por falta de medidas diretas que permitam decidir que sua produção não é evento simplesmente paralelo à citoresistência aumentada.

Em 1985 Lacy verificou que é rápida a reconstrução da superfície da mucosa lesada após uma primeira exposição ao etanol a 70% e que depois de uma segunda exposição igual, as lesões só ocorrem naqueles locais onde a recuperação do epitélio não havia se completado.

Tendo observado o comportamento da mucosa gástrica de ratos frente a repetidas exposições à aspirina, Bolton e Cohen (1977) sugeriram que a aceleração da renovação celular pode ser a responsável pelo aumento da resistência da mucosa à uma segunda agressão. Hingson e Ito (1971) mostraram que de-

pois de aproximadamente dez minutos de contato com a aspirina, numerosas células da mucosa gástrica lesadas "in situ" são lançadas para o lúmen, desnudando capilares que à microscopia eletrônica se revelam já alterados, enquanto que a maioria das organelas permanece ainda intacta.

Devemos dar a essa questão uma atenção especial. Se o aumento da resistência que sucede o período reconstitutivo é fenômeno experimentalmente comprovado e lembrando ainda que a própria natureza do alimento pode representar fator agressivo de variável intensidade (Davemport, 1978) decorre que sucedem, em um mesmo animal, variações cíclicas do "estado de resistência" da mucosa gástrica. Essas oscilações regionais da resistência da mucosa gástrica a agressões de vários tipos podem coincidir temporalmente com condições externas variáveis como, por exemplo, traumas extensos em outras áreas do organismo, estresse psíquico agudo, quedas bruscas da resistência geral por abaixamento drástico da temperatura externa, dentre outras. A esse fator atribuímos pelo menos parte da variabilidade de resultados obtidos com animais sob condições aparentemente normais.

Sabe-se que a mucosa gástrica de todas as espécies animais estudadas secreta prostanóides a partir principalmente de ácido araquidônico. A administração de prostanóides exógenos afeta o fluxo sanguíneo da mucosa gástrica, estimula a secreção de muco, estimula a secreção de bicarbonato, protege a mucosa de lesões por substâncias irritantes, dentre as quais os anti-inflamatórios não-esteróides como a aspirina e indometacina. Além disso facilita a cicatrização da úlcera péptica (Kauffman, 1984). Este autor admite que a deficiência de

prostanóides endógenos seja responsável, pelo menos em parte, pelos danos gástricos provocados por certas substâncias, e que o excesso desses autacóides responda pela proteção da mucosa.

Deregnaucourt e Code (1979) afirmam que uma segunda exposição da mucosa gástrica de ratos ao ácido taurocólico ou ao etanol a 20% produz alterações significativamente menores tanto em fluxo catiônico como sobre a diferença de potencial da membrana, comparada à primeira exposição, o que decorreria da presença de um fator "resistência" da própria mucosa gástrica, estimulado pelo primeiro contato com o irritante. Entretanto, quando produzimos irritação peritoneal em ratos, pela administração de carrageenina, sulfato de zinco ou cloreto de cobre II (diagramas 1, 2 e 3), observamos sempre redução estatisticamente significativa das lesões mucosas provocadas pela imobilização. O fenômeno responsável por essa redução certamente difere do anterior, pelo fato de poder ser induzido à distância e porque provavelmente não implica em solicitação específica do aumento localizado da resistência da parede gástrica à agressão. O fenômeno implicado é o da contra-irritação.

Como vimos, entende-se por contra-irritação a habilidade de um processo irritativo influenciar o desenvolvimento de outro, sendo essa influência sempre de natureza inibitória. O procedimento de se combater a inflamação num determinado local do organismo é, talvez, o mais antigo dos métodos utilizados para aliviar a dor, que é freqüentemente um sintoma mais importante que a própria inflamação (Bonta, 1978). Segundo Laden e cols. (1958), agentes irritantes liberariam alguma substância no local do tecido inflamado que, levada através da

corrente circulatória, poderia exercer efeitos sistêmicos.

Neste trabalho mostramos que a aplicação intra-peritonial de uma suspensão de carrageenina, protege o estômago de ratos das lesões pela imobilização, como se pode ver pelo diagrama 1. A inibição é significativa, quer os controles tenham ou não sido tratados com o veículo do polissacárido.

É importante salientar que a reatividade química das carrageeninas se deve primariamente aos grupos sulfato-ésteres $R-O-SO_3$, que são fortemente aniônicos. Na maioria dos casos, senão em todos, ocorrem interações iônicas dos grupamentos sulfato da carrageenina com os grupos carregados das proteínas. A reação depende da força iônica e do pH do meio, dentre outros fatores. Todavia, está bem estabelecido que o próprio soro fisiológico, solvente da carrageenina, produz efeito anti-inflamatório inespecífico, pois inibe a formação do edema na pata de rato pela própria carrageenina (Castro, 1986) e no sistema por nós estudado provoca redução consistente, embora não significativa, dos índices de lesão em relação aos controles sem tratamento (diagrama 1). Experimentalmente pudemos demonstrar em trabalho anterior (Castro, 1986) que a redução significativa de processos inflamatórios por meio de irritação provocada à distância depende de dois componentes, sendo que apenas um subsiste em ausência de adrenais. Naquele estudo considerou-se somente a produção da inflamação da pata de ratos pela aplicação local de uma substância flogógena. Os estômagos de ratos submetidos à imobilização mostram índices de lesão significativamente aumentados, processo este que também provoca inibições estatisticamente significantes no volume do edema de pata medido no pletismógrafo.

Em 1978, Cho e Ogle demonstraram que o sulfato de zinco administrado por via intra-peritoneal inibe a produção de úlceras gástricas provocadas pela imobilização com abaixamento da temperatura, em ratos. Atribuíram essa proteção à estabilização da membrana de mastócitos da parede do estômago, impedindo a liberação de autacóides vasoativos sobre a microcirculação local. Esses mesmos autores (Cho e Ogle, 1977) verificaram também, que o cromoglicato dissódico, substância que produz bloqueio da desgranulação de mastócitos (Cox, 1967) administrado por via oral, é capaz de prevenir a formação de úlceras provocadas pela reserpina em ratos. Por isso realizaram uma análise da extensão dessa propriedade anti-ulcerogênica do cromoglicato (Ogle e Lau, 1979). A favor dessa hipótese está também a demonstração feita por Keller e Sorokin em 1970 de que o zinco radioativo se incorpora seletivamente a mastócitos teciduais, de onde pode ser liberado pelo composto 48/80 conhecido liberador de histamina (Paton, 1957).

Em um estudo clínico, Frommer verificou que pacientes portadores de úlcera gástrica, se submetidos ao tratamento com sulfato de zinco, apresentam taxa de recuperação das lesões três vezes maior que seus controles tratados com placebo (Frommer, 1975). Entretanto, na dependência da via de administração, do tecido atingido e da concentração utilizada, o zinco promove o aparecimento de respostas menos específicas, como observaram Rainsford e Whitehouse (1976), demonstrando que o sulfato de zinco possui propriedades irritantes capazes de provocar inflamação e edema, quando injetado na região subplantar da pata de ratos.

Nas nossas condições experimentais, o sulfato de

zinco administrado por via intra-peritoneal reduziu o número de petéquias da mucosa gástrica de ratos submetidos à imobilização (diagrama 2). A redução no índice de lesão que observamos é estatisticamente significativa e proporcional à dose aplicada como se observa pelo diagrama 2. Está constatado que as lesões pré-ulcerativas induzidas pela agressão da imobilização também são inibidas pelo sulfato de zinco, administrado na cavidade peritoneal. No presente momento não existem dados quantitativos que permitam decidir qual a participação de fenômenos ligados à estabilização de mastócitos na proteção conferida pelo sulfato de zinco sobre as lesões gástricas experimentais em ratos, embora não permaneçam dúvidas quanto a importância do efeito contra-irritante na inibição do processo lesivo.

Em 1976 Whitehouse mostrou que sais cúpricos inorgânicos bem como complexos orgânicos de cobre com glicina ou citrato são altamente irritantes e, aplicados parenteralmente, são capazes de produzir edema e ulceração no local. Contudo, o acetato cúprico exerce nítido efeito inibitório, considerado mais ativo que o do próprio cortisol no modelo da inflamação ou do edema de pata pela carrageenina (Aspinal e Eich, 1976).

A atividade flogógena do cloreto de cobre, demonstrada por Rainsford e Whitehouse (1976), também no modelo do edema na pata posterior de ratos, é comparável à atividade da aspirina neste local. Apesar das semelhanças nas propriedades irritantes dessas duas substâncias, o cloreto de cobre, aplicado por via intra-gástrica, promoveu resposta protetora da mucosa, a qual não pudemos confirmar (diagrama 11), enquanto que a aspirina, nas mesmas condições, produz ulceração. Admite-se (Vane, 1971)

que a propriedade anti-inflamatória da aspirina decorra da inibição que produz sobre a ciclo-oxigenase, do que resulta bloqueio da biossíntese de prostaglandinas. Desta forma, a ação benéfica desses prostanoides na citoproteção da mucosa gástrica, aceita por numerosos autores (Robert e cols., 1978; Robert e cols., 1983; Miller, 1983; Derengnaucourt e Code, 1979; Bolton e Cohen, 1978), pode ser prejudicada pela presença de aspirina no estômago. Todavia, deve ainda ser considerada a reatividade química intrínseca adicional do ácido salicílico que se origina no próprio estômago (Paton e Payne, 1968).

O cloreto de cobre, administrado por via intragástrica, foi também, capaz de proteger o estômago de ratos das lesões ulcerativas provocadas pela prolongada exposição dos animais à temperatura de quinze graus negativos durante três horas, enquanto que sua injeção parenteral mostrou-se totalmente inefetiva contra essas lesões (Rainsford e Whitehouse, 1976). Esse fato de se obter proteção por contra-irritação pela mesma substância administrada em dose mais baixa na cavidade peritoneal e não se observar proteção quando a administração foi por via intragástrica, ainda que em concentração maior demonstra claramente a importância da sensibilidade ou reatividade específica do tecido em contato com o flogógeno potencial.

Em nossas condições, o cloreto de cobre, por aplicação intragástrica, não modificou significativamente a resposta da mucosa à imobilização, como mostra o diagrama 11, enquanto que por via intra-peritoneal, produziu redução estatisticamente significativa nos índices de lesão, em relação aos controles adequados, isto é, representados pelos animais que receberam veículo por via peritoneal. Essa redução de aproxima

damente 34% pode ser observada no diagrama 3. Procurando surpreender alguma participação do ânion sulfato, administramos por via intra-gástrica o sulfato de cobre a ratos, posteriormente imobilizados. Os resultados não confirmaram a suspeita em relação ao ânion, mas reproduziram o efeito observado para o cloreto de cobre, isto é, não inibiram as lesões gástricas da imobilização (diagramas 9 e 10). A proteção do estômago obtida por Rainsford e Whitehouse, pela administração intra-gástrica do cloreto de cobre, foi atribuída à estimulação da secreção de muco em resposta a irritação causada pelo íon cobre, sugerindo um efeito contra-irritante desse metal na mucosa gástrica (Rainsford e Whitehouse, 1976).

Foi amplamente demonstrado que as reações irritativas inespecíficas induzidas no peritônio de ratos, por numerosas substâncias são capazes de inibir o edema de pata por carrageenina, nestes animais (Castro, 1986). Este autor observou também que o próprio soro fisiológico estéril, quando colocado no peritônio, inibe o edema na pata de ratos. Nos nossos experimentos, como já vimos, o soro fisiológico causa discreta mas consistente inibição das lesões gástricas, embora não significativa no nível de 5%. É provável que o potencial irritativo do soro fisiológico no peritônio seja mais pronunciado em relação a sistemas mais simples ou menos protegidos, ou mensuráveis com mais precisão, como é o edema de pata, comparado por exemplo com o estômago, onde múltiplos fatores defensivos estão envolvidos, e onde a variabilidade das medidas é maior.

Quando atuamos diretamente sobre o estômago, pela aplicação intra-gástrica de outras substâncias como o clo-

reto de sódio, a sacarose, a glicose, o sulfato de cobre e o cloreto cúprico (diagramas 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11), constatamos todos os resultados possíveis, quais sejam, nenhuma modificação, agravamento, e inibição das lesões petequiais, decorrentes da imobilização.

Estudos epidemiológicos realizados na década de setenta mostraram possível correlação entre alta ingestão de sal e câncer gástrico (Haenzel e cols., 1972; Capoferro e Torgersen, 1974). Em 1979, Danon e Assouline propuseram uma ação anti-ulcerogênica para o cloreto de sódio hipertônico, visto que o pré-tratamento de ratos com essa solução reduziu consideravelmente as lesões gástricas produzidas pela ligadura do piloro ou pela administração de indometacina, ou ainda, as lesões duodenais pela cisteamina. Esses resultados têm despertado vivo interesse no estudo dos efeitos do cloreto de sódio hipertônico sobre as lesões gástricas em geral e, para nós, em relação às lesões pré-ulcerativas.

A irritação gástrica de origem físico-química é função complexa de vários fatores como a natureza do irritante, o tamanho da partícula, a concentração em que atinge o órgão e, também, do período de permanência no estômago, isto é, do seu tempo de contato com o tecido. Não apenas a intensidade da resposta como também a natureza desta pode depender do tempo de permanência, ou seja, do contato da substância irritante com a mucosa gástrica. Esse contato, por sua vez, é influenciado por vários fatores quais sejam a absorção gástrica, quando significativa, a passagem para o duodeno e, eventualmente, a diluição, quando a permanência e a hipertonicidade se combinam para atrair água plasmática ou tecidual para o lúmen gástrico.

Nossos resultados (figura 1) mostram que aproximadamente 97% da água (4 ml) administrada por via intra-gástrica a ratos, desaparecem do estômago após cinco minutos. Porcentagem semelhante a esta mede o desaparecimento da solução de cloreto de sódio a 0,4% ou 0,9% após 30 minutos enquanto que a 12,5% neste mesmo período ocorre aumento expressivo do volume inicial de 4 ml.

Colocada em contato com a mucosa gástrica, uma solução hipertônica exercerá efeitos variáveis durante o período subsequente. O volume pode se modificar por conta de alterações da microcirculação, liberação de autacóides e aumento da permeabilidade vascular, desidratação celular e desidratação com desorganização da estrutura polimérica do muco (Allen e Garner, 1980). A concentração da solução inicialmente hipertônica, por sua vez, será influenciada pelo menos por dois fatores, quais sejam, a fuga de pequenos volumes que podem escapar do estômago e pelas mudanças de volume anteriormente descritas. No final, o que se pode obter é uma estimativa do tempo em que permanecem no estômago concentrações elevadas de soluto, avaliado pelo período em que o volume remanescente se mostra elevado. Lembramos, ainda, a necessidade de se considerar um importante fator de variação representado pelo fato dessas observações terem sido realizadas sobre animais não imobilizados.

A existência de excitação osmótica provocada por soluções de glicose sobre receptores duodenais foi proposta, já em 1905, por Carnot e Chassevant (citados por Elias e cols. 1968). Davenport descreveu a ocorrência de contração de volume dos osmoreceptores duodenais quando a pressão osmótica é

mais elevada na face mucosa da parede, o que dá início a impulsos nervosos que constituem a via aferente do reflexo duodeno-gástrico. Solutos não penetrantes como a glicose, o sorbitol e o sulfato de sódio são, em base osmolar, quase igualmente eficazes entre si. O cloreto de amônio, soluto rapidamente penetrante, não influencia a velocidade de esvaziamento gástrico. A uréia e o glicerol, solutos penetrantes, quando em alta concentração retardam o esvaziamento gástrico, mas seu efeito é muito menor que o da glicose (Davemport, 1978).

Sabe-se que a velocidade de esvaziamento gástrico varia inversamente com a concentração de glicose. Também os produtos da hidrólise da sacarose por dissacaridases presentes na bordadura em escova do epitélio duodenal atingem os osmoreceptores que reflexamente induzirão retardo do esvaziamento gástrico. Contudo, o atraso no esvaziamento, por miliosmol de açúcar é bastante variável, segundo Elias e cols. (1968). Além disso, o amido, isocalórico com a glicose retarda o esvaziamento gástrico no mesmo grau que a glicose, apesar de osmoticamente menos efetivo (Hunt, 1960). Uma hipótese alternativa é a de Mac Gregor e colaboradores (1976), para quem as diferentes eficácias dos vários carboidratos sobre as velocidades de esvaziamento gástrico seriam afetadas pela hiperglicemia, decorrente da absorção do carboidrato. Assim, os açúcares são diferentemente eficazes de acordo com o grau em que elevam os níveis glicêmicos e não em relação à intensidade com que influenciam os osmoreceptores. Esses autores, entretanto, não puderam confirmar experimentalmente tal hipótese. Também se sugeriu a participação de peptídeos endógenos, como a somatostatina, a gastrina ou mesmo a própria insulina no retardamento que a glicose hipertônica produz sobre o esvaziamento

gástrico. Esta hipótese também não pôde ser confirmada por Sasaki e cols. (1983).

Para nós, todas as soluções hipertônicas testadas produziram significativa redução das lesões pré-ulcerativas e, para o cloreto de sódio na concentração mais elevada resultou ainda em maior proteção. Para os açúcares, a glicose foi mais efetiva que a sacarose sugerindo, em ambos os casos, que as soluções de maior atividade osmótica são mais eficazes na contra-irritação.

Essa capacidade de exercer efeitos antagônicos, isto é, irritativos ou inflamatórios e também anti-inflamatórios que muitas substâncias possuem foi, no caso particular do íon cobre, chamada de efeito ambivalente (Whitehouse, 1976). É, na verdade, um fenômeno menos raro do que se supõe. Em nossos experimentos (diagrama 5) o próprio cloreto de sódio a 4% produziu lesões em cinco animais (grupo controle), enquanto que reduziu significativamente as lesões provocadas pela imobilização. Para nós, está claro que essa potencialidade deve ser considerada como regra, pois para se evidenciar esse comportamento biológico, basta haver margem para que se possa variar algo amplamente as concentrações, de vez que a maioria das substâncias têm maior ou menor potencial irritativo sobre determinado tecido. Não estamos admitindo a hipótese simplista de que apenas graus variáveis de irritação poderiam responder pela ambivalência de efeitos, que na verdade depende da convergência de vários fatores, alguns deles decorrentes da natureza dos tecidos envolvidos. Na irritação gástrica, um dos mais importantes é representado pela liberação da noradrenalina das neuroterminais simpáticas, todas vez que se transpõe certo limiar de agressão, como acontece, por exemplo, na imobilização

dos ratos. A isquemia regional que se repete experimentalmente comprometendo sempre a mesma área da superfície gástrica permite caracterizar lesões mucosas tardias, localizadas nestas mesmas áreas primitivamente isquêmicas (Mac Greevy e Moody, 1981). Além disso, o tempo é fator crítico não só para a geração do processo adaptativo, como também, para sua manutenção. Há um intervalo determinado, depois do qual três fenômenos podem ocorrer: se o irritante for muito fraco, não desencadeará nenhuma alteração morfológica importante; se for demasiado potente, as lesões evoluirão diretamente para hemorragia ou para necrose, o que ocorre por exemplo com o cloreto de sódio a 25%; finalmente, se for de intensidade moderada, como por exemplo o cloreto de sódio a 12,5%, será efetivo na solicitação de mecanismos defensivos da mucosa.

Foi atribuído papel primordial ao muco na proteção gástrica (Hollander, 1954; Davenport e cols., 1964; Davenport, 1970; Heatly, 1959). Admitindo-se que certos alimentos, bem como irritantes de diversas naturezas constituem estímulo à secreção (Davenport, 1978), então o processo de adaptação da mucosa a essas substâncias deve depender da intensidade de resposta a esses estímulos. Entendemos que a contra-irritação, fenômeno amplamente estudado neste laboratório, em relação à inflamação experimental em ratos (Castro, 1986) deve envolver, no estômago, o fenômeno descrito como "citoproteção adaptativa" da mucosa a irritações de diferentes naturezas, que se sobrepõe à enorme velocidade de renovação das células da mucosa mesmo em condições fisiológicas. A quebra dessa citoproteção adaptativa favorece a retrodifusão de prótons no muco. Várias investigações mostraram que para uma mesma distância, o movi-

mento de íons hidrogênio para dentro do muco-gel é três vezes mais lento do que através de uma solução salina isotônica, enquanto que a transferência de pepsina deve ser ainda mais lenta (Williams e Turnberg, 1981). Lembramos que no rato, quando o pH do lúmen é 2,0, o pH próximo da membrana das células superficiais do epitélio gástrico é cerca de 6,7 mas esse gradiente desaparece se o pH luminal cai para 1,5 ou menos (Ross e Turnberg, 1983).

Robert e cols. (1978) demonstraram adaptação da mucosa de ratos frente a irritantes químicos, tendo observado que substâncias diversas como etanol, hidróxido de sódio, ácido taurocólico e cloreto de sódio, quando aplicados sobre o estômago em baixas concentrações são capazes de proteger a mucosa contra as lesões de subseqüentes aplicações dessas mesmas substâncias, agora em concentrações efetivamente necrotizantes. O processo é inespecífico no sentido em que ocorre a proteção cruzada entre os diferentes agentes. O mecanismo dessa adaptação envolveria a produção de prostaglandinas endógenas, baseados na demonstração de que a indometacina, um inibidor de ciclo-oxigenase, impede o desenvolvimento dessa proteção (Robert e cols., 1979). Entretanto, esses mesmos autores já haviam demonstrado que a aspirina, outro inibidor dessa enzima e reconhecidamente capaz de produzir erosões da mucosa gástrica é, paradoxalmente, também capaz de inibir a formação de lesões em vários modelos experimentais, como a úlcera gástrica por indometacina ou a úlcera por ligadura do piloro. Embora esses autores tenham atribuído a proteção a uma atividade inibitória da aspirina sobre a secreção ácida, estamos mais inclinados a aceitar a hipótese segundo a qual é o intervalo entre a primeira aplicação do anti-inflamatório e o seu par (teste)

que determina a resposta da mucosa à agressão subsequente, que se manifestará através de um aumento de sua susceptibilidade ou de sua resistência.

Lembrando que o próprio soro fisiológico, aplicado por via intra-peritoneal provoca redução, ainda que discreta, das lesões gástricas pela imobilização, nosso resultado com o uso da N-acetilcisteína chama a atenção para o cuidado que se deve ter na elaboração da hipótese de trabalho e na interpretação dos resultados. A glicoproteína diretamente separada do muco gástrico, que é um gel polimérico com quatro sub-unidades interligadas por pontes dissulfeto a seus centros proteicos, tem também uma região glicosilada recoberta por uma cadeia polissacárida. A parte final, que perfaz aproximadamente um quarto da parte proteica é não-glicosilada mas contém os resíduos de cisteína que formam pontes dissulfeto, que por sua vez, mantêm unidas as sub-unidades estabilizando o sistema macromolecular (Allen e Garner, 1980). Como consequência, nesse sistema, a proteção dos grupos S-H, pela N-acetilcisteína não resulta em redução da produção de lesões. A razão está no fato de que a forma oxidada dos resíduos de cisteína é que constituem as pontes S-S, responsáveis também pela viscosidade essencial ao muco. Confirmamos, assim, os trabalhos de Zlottof e cols. (1982) que também registraram predominância do efeito irritativo quando do uso de N-acetilcisteína. A participação de radicais superóxido na gênese das lesões pela imobilização, proposta por Boyd e cols. (1979), poderia ser de limitada importância neste sistema, pela eficiência da geração de grupos S-H celularmente, respeitando porém a integridade das pontes S-S essenciais extra-celularmente, isto é, no lúmen do órgão.

A eficiência da recuperação da mucosa após sua exposição a soluções irritantes pode ser de importância capital. As evidências mostram que uma adaptação da mucosa ocorre mediante subseqüentes exposições a agentes agressivos, embora o mecanismo pelo qual se torna resistente não tenha ainda explicação definitiva.

No presente trabalho, verificamos que a interação dos processos irritativos por meio de soluções hipertônicas com o estresse de imobilização, ou seja, com a exposição da mucosa não a aplicações repetidas do mesmo agente, mas a agressões de natureza distinta, também provoca uma reação adaptativa da mucosa (diagramas 5, 6, 7 e 8).

Assouline e cols. (1977) observaram aumento considerável da produção de prostaglandinas pela mucosa gástrica isolada exposta a soluções hipertônicas. Esses autores admitiram que se essa situação também ocorre "in vivo", a osmolaridade do conteúdo gástrico pode ter papel chave na regulação da biossíntese de prostaglandinas pelo estômago.

Vimos, em concordância com outros autores (Danon e Assouline, 1979; Assouline e cols., 1977), que a hiperosmolaridade do conteúdo gástrico tem um efeito inespecífico em relação aos agentes lesivos usados. As lesões pré-ulcerativas pela imobilização sofreram redução significativa de intensidade pelo pré-tratamento dos animais com cloreto de sódio, sacarose ou glicose hipertônicos (diagramas 5, 6, 7 e 8). Entretanto, a relação causal desse fenômeno com a produção aumentada de prostaglandinas, admitida por Assouline e cols. (1977), Danon e Assouline (1979) e Robert e cols. (1983), nos parece um tanto simplista. Prostanóides certamente estão envolvidos nas alte-

rações da mucosa gástrica no nível celular (Flower e cols., 1985). Contudo, é preciso analisar com cuidado essa participação, pois está baseada em medidas da concentração dessas substâncias quando liberadas das células ou de dosagens de prostaglandinas extracelulares ou após extração, o que pode não refletir o quadro intracelular, já que qualquer procedimento ou dispositivo introduzido no tecido, com finalidade analítica ou não, certamente produz modificações importantes quali ou quantitativas desses autacóides no local (Orehek e cols., 1975).

A mucosa gástrica é uma estrutura necessariamente adaptável à presença de partículas mais ou menos grosseiras de diferentes composições, que freqüentemente constituem ou acompanham o próprio alimento. O processo de contra-irritação deve, pois, apresentar no estômago características condizentes com essas propriedades peculiares da parede gástrica.

Admitimos que uma abordagem mais frutífera poderá se fazer agora, usando esta metodologia que permite obter lesões de baixa intensidade e rápida regeneração (Silen e Ito, 1985; Svanes e cols., 1982) para se conseguir explicações mais completas das características e dos mecanismos envolvidos no ciclo lesão-regeneração, repetida várias vezes em um mesmo animal.

SUMMARY

SUMMARY

A reliable, simple and inexpensive method was developed to produce petechial lesions in the gastric mucosa of rats, by immobilizing the animals, without submitting them to low temperature conditions, to surgical processes or anaesthesia.

The petechial lesions plus the accompanying hyperemia, referred to as pre-ulcerative lesions, were studied also in animals treated by one of several drugs in solution, administered into the peritoneal cavity. Also the direct challenging of the stomach by the administration through gastric tube of solutions of variable concentrations, to analyse its influence on the lesions induced by the immobilization, was performed.

The protection of the gastric mucosa from these lesions was the most frequent result, and was interpreted as inespecific counter-irritation phenomena induced by local or distant tissue reaction to previous contact with the different substances.

Copper sulphate and copper chloride solutions administered through gastric tube did not protect the mucosa from the lesions, while N-acetylcysteine increased their severity.

The mechanisms involved and some factors potentially able to affect the inducement of the lesions or the protection of the mucosa were analysed.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- ALLEN, A. & GARNER, A. (1980). Mucus and bicarbonate secretion in the stomach and mucosal protection. Gut 21: 249-62.
- ALLEN, A. & SNARY, D. & PAIN, R.H. (1970). Model for structure of the gastric mucus gel. Nature 264: 88-9.
- ANDERSON, W.; WATT, J. (1959). Inhibition of the proteolytic action of pepsin by sulphate-containing polysaccharides. J. Pharm. Pharmacol. 11: 318-24.
- ASPINAL, R.L. & EICH, S. (1976). Comunicação pessoal e sorenson, 1976.
- ASSOULINE, G.; LEIBSON, V. & DANON, A. (1977). Stimulation of prostaglandin output from rat stomach by hypertonic solutions. Eur. J. Pharmacol. 44: 271-3.
- ATKINSON, D.C. (1971). A comparison of the systemic anti-inflammatory activity of three different irritants in the rat. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 193: 391-96.
- AURES, D.; PAULSEN, G.; GUTH, P.H. & GROSSMAN, M.I. (1982). Effect of increased gastric mucosal histamine on alcohol-induced gastric damage in rats. Dig. Dis. Sci. 27: 341-52.
- AXELROD, J. & REISINE, T.D. (1984). Stress hormones: Their interaction and regulation. Science 244: 452-9.
- AZUUMI, Y.; CHARA, S.; ISHIHARA, K.; OKABE, H. & HOTTA, K. (1980). Correlation of quantitative changes of gastric muco-

sal glycoproteins with aspirin-induced damage in rats. Gut 21: 533-6.

BAILEY, K.R.; MEDLER, E.M.; GERRITSEN, G.C.; SHEFFNER, A.L. & COX, W.M. Jr. (1963). Evaluation of dietary treatment of gastric ulcers in the restrained rat (Abstract). Fed. Proc. 22: 276.

BEBIAK, K.D.M.; MILLER, E.R.; HUSLING, W.L.; SMITH, S. & WHITE HAIR, C.K. (1979). Distribution of prostaglandin-forming cyclo-oxygenase in the porcine stomach. (Abstract). Fed. Proc. 36: 884.

BENNET, A.; ELEY, K.G. & SCHOLES, G.B. (1968). Effects of prostaglandines E₁ and E₂ on human, guinea-pig and rat isolated small intestine. Br. J. Pharmacol. 34: 630-5.

BIECKEL, L.M. & KAUFFMAN, G.L. Jr. (1981). Gastric gel mucus thickness: effect of distention, 16,16-dimethyl - prostaglandin E₂ and carbenexolone. Gastroenterology 80: 770-5.

BILLINGHAM, M.E.J., GORDON, A.A. & ROBINSON, B.V. (1971). Role of the liver in inflammation. Nature 231: 26-7.

BILLINGHAM, M.E.J. (1972). Separation of irritancy from the anti-inflammatory component of inflammation exudate. Br. J. Pharmacol. 44: 317-20.

BOLTON, J.P. & COHEN, M.M. (1977). Effect of repeated aspirin administration on the gastric mucosal barrier and cell turnover. J. Surg. Res. 23: 251-6.

BOLTON, J.P. & COHEN, M.M. (1978). Stimulation of non-parietal

cell secretion in canine Heidenhain pouches by 16,16-dimethyl prostaglandin E₂. Digestion 17: 291-9.

BOLTON, J.P.; PALMER, D. & COHEN, M.M. (1978). Stimulation of mucus and non-parietal cell secretion by E₂ prostaglandins. Am. J. Dig. Dis. 23: 359-64.

BOLTON, J.P. & COHEN, M.M. (1979). The effect of prostaglandin E₂, 15-methyl-prostaglandin E₂ and metiamide on established canine gastric mucosal barrier damage. Surgery 85: 333-7.

BONTA, I.L. (1978). Endogenous modulators of the inflammatory response. In: VANE, J.R. & FERREIRA, S.H., ed., Inflammation (Handbook of Experimental Pharmacology, v. 50, pt. 1) Berlin, Springer-Verlag, p. 523-560.

BOYD, S.C.; SESAME, H.A. & BOYD, M.R. (1979). High concentrations of glutathione in glandular stomach: possible implications for carcinogenesis. Science 305: 1010-12.

BOYLE, E.; FREEMAN, P.C.; GOUDIE, A.C.; MORGAN, F.R. & THOMSON M. (1976). The role of copper in preventing gastrointestinal damage by acidic anti-inflammatory drugs. J. Pharm. Pharmacol. 28: 865-8.

BROWN, D.H.; SMITH, W.E. & TEAPE, J.W. (1980). Anti-inflammatory effects of some copper complexes. J. Med. Chem. 23: 729-34.

BRODIE, A. & HANSON, H.M. (1960). A study of the factors involved in the production of gastric ulcer by the restraint technique. Gastroenterology 38: 353-60.

- CAMERON, I.L. (1971). Cell proliferation and renewal in the mammalian body. In: CAMERON, I.L. & THRASHE, J.D., ed. Cell and molecular renewal in the mamalian body. New York, Academic. Cap. 3, p. 45-85.
- CAPOFERRO, R. & TORGERSEN, O. (1974). The effect of hypertonic saline on the uptake of tritiated 7,12-dimethyl - benzo (a) anthracene by the gastric mucosa. Scand J. Gastroenterol., 9: 343-9.
- CASTRO, G.A.P.V. (1986). Estudo experimental do edema e da contra-irritação produzidos pela carrageenina em ratos. Campinas. Tese (mestrado) UNICAMP, Instituto de Biologia.
- CHAUDHURY, T.R. & JACOBSON, E.D. (1978). Prostaglandin cytoprotection of gastric mucosa. Gastroenterology 74: 59-63.
- CHEUNG, L.Y. (1980). topical effects of 16,16-dimethyl prostaglandin E₂ on gastric blood flow in dogs. Am. J. Physiol. 238: 514-19.
- CHEUNG, L.Y. (1981). Effect of topical 16,16-dimethyl-prostaglandin E₂ on aspirin-induced disruption of gastric permeability barrier in dogs. Prostaglandins (Suppl. 21): 125-9.
- CHO, C.H. & OGLE, C.W. (1977). The effects of zinc sulphate on vagal-induced mast cell changes and ulcers in the rat stomach. Eur. J. Pharmacol. 43: 315-22.
- CHO, C.H. & OGLE, C.W. (1978). A correlative study of the anti-ulcer effects of zinc sulphate in stressed rats. Eur. J. Pharmacol. 48: 97-105.

- CLOUD, W.G. & RITCHIE, W.P. (1982). Evidence for cytoprotection by endogenous prostaglandins in gastric mucosa treated by bile-acids. Surg. Forum 33: 150-52.
- COGGON, D.; LAMBERT, P. & LANGMAN, M.J.S. (1981). Twenty years of hospital admissions for peptic ulcer in England and Wales Lancet 1: 1302-4.
- COHEN, M.M. & POLLET, J.M. (1975). Prostaglandin E₂ prevents aspirin damage to human gastric mucosa. Surg. Forum 27: 400-1.
- COX, J.S.G. (1967). Disodium chromoglycate (FPL-670-Intal): a specific inhibitor of reaginic antibody-antigen mechanisms. Nature 216: 1328-9.
- CROFT, D.N. & COTTON, P.B. (1973). Gastrointestinal cell loss in man. Digestion 8: 144-60.
- DANON, A. & ASSOULINE, G. (1979). Anti-ulcer activity of hypertonic solutions in the rat: possible role of prostaglandins. Eur. J. Pharmacol. 58: 425-31.
- DAVENPORT, H.W.; WARNER, H.A. & CODE, C.F. (1964). Functional significance of gastric mucosal barrier to sodium. Gastroenterology 47: 142-52.
- DAVENPORT, H.W. (1970). Effect of lysolecithin, digitonin, and phosphatase-A upon the dogs gastric mucosal barrier Gastroenterology 59: 505-9.
- DAVENPORT, H.W. (1978). Digestão e esvaziamento gástrico. In: DAVENPORT, H.W., ed., Fisiologia do Trato Digestivo. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1978, cap. 13, p. 167-176.

- DEKANSKI, J.B.; MAC. DONALD, H. & SACRA, P. (1975). Effects of fasting, stress, and drugs on gastric glycoprotein synthesis in the rat. Br. J. Pharmacol. 55: 387-92.
- DEREGNAUCOURT, J. & CODE, C.F. (1979). Increased resistance of the gastric mucosal barrier to barrier brakers in the rat. Gastroenterology 77: 309-12.
- DOLL, R. & BUCH, J. (1950). Hereditary factors in peptic ulcer. Ann. Eugen. 15: 135-46.
- ELIAS, E.; GIBSON, G.J.; GREENWOOD, L.F.; HUNT, J.N. & TRIPP, J.H. (1968). The slowing of gastric emptying by monosacharides and disaccharides in test meals. J. Physiol. (Lond.) 194: 317-26.
- FLOWER, R.J.; MONCADA, S. & VANE, J.R. (1985). Analgesic-antipyretic and anti-inflammatory agents; drugs employed in the treatment of gout. In: GOODMAN, L.S. & GILMAN, A.G. ed., The Pharmacological Basis of Therapeutics. 7. ed., New York, MacMillan. Cap. 29, p. 674-715.
- FROMMER, D.J. (1975). The healing of gastric ulcer by zinc sulphate. Med. J. Aust. 2: 793-6.
- GARCIA LEME, J.; SHAPOVAL, E.S. & ROCHA E SILVA, N. (1967). In: Proceeding, International Symposium on Vaso-tectivy Polypetides: Bradykinin and Related Kinines, Ribeirão Preto, 1966. N. ROCHA E SILVA & H.A. ROTSCCHILD, Ed., São Paulo, Edart, p. 213-243.
- GARCIA LEME, J. & SHAPOVAL, E.E.S. (1975). Stimulation of the

hypothalamus-pituitary-adrenal axis by compounds formed in inflamed tissue. Br. J. Pharmacol. 53: 75-83.

GARCIA LEME, J. (1981). Regulatory mechanisms in inflammation: new aspects of autopharmacology. Gen. Pharmacol. 12: 15-24.

GARNER, A. & FLEMSTRON, G. (1978). Gastric HCO_3^- secretion in the guinea pig. Am. J. Physiol. 234: E535-E541.

GARRET, E.R. (1959). The physical chemical evidence for aspirin anhydride as a superior form for the oral administration of aspirin. J. Am. Pharmac. Assoc. 48: 676-83.

GARRICK, T.; BREACK, S. & BASS, P. (1986). Gastric motility as a major factor in cold restraint-induced lesion formation in rats. Am. J. Physiol. 250: G191-G199.

GASKILL, H.V.; SERINECK, K.R. & LEVINE, B.A. (1982). Prostacyclin-mediated gastric cytoprotection is dependent on mucosal blood flow. Surgery. 92: 220-5.

GERBER, J.G. & NIES, A.L. (1982). Canine gastric mucosal vasodilatation with prostaglandin and histamine analogs. Dig. Dis. Sci. 27: 870-74.

GLAVIN, G.B. & MIKHAIL, A.A. (1976). Stress and ulcer etiology in the rat. Physiol. Behav. 16: 135-9.

GLICKMAN, R.M. Inflammatory bowel disease. In: PETERSDORF, R.G.; ADAMS, R.D.; BRAUNWALD, E.; ISSELBACKER, K.J.; MARTIN, J.B.; WILSON, J.D., ed. Principles of Internal Medicine. New York, Mac Graw-Hill Book. p. 1738.

GOLDSTEIN, S.; SHEMANO, I.; BEILER, J.M. & DEMEO, R. (1967). Anti-inflammatory activity of several irritants in three models of experimental inflammation in rats. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 167: 39-54.

GOLDSTEIN, S. & WOZNIACK, D. (1979). Effect of age, food deprivation, and stress on gastric erosions in the rat. Physiol. Behav. 23: 1011-15.

GUTH, P.H. & HALL, P. (1966). Microcirculatory and mast cell changes in restraint-induced gastric ulcer. Gastroenterology 50: 562-70.

GUTH, P.H. & PAULSEN, G. (1979). Prostaglandin cytoprotection does not involve interference with aspirin absorption. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 162: 128-30.

GUTH, P.H. & MOLLER, T.L. (1982). The role of endogenous prostanooids in the response of the gastric microcirculation to vasoactive agents. Microvasc. Res. 23: 336-46.

HAENZEL, W.; KURIHARA, M.; SEGI, M. & LEE, R.K.C. (1972). Stomach cancer among Japanese in Hawaii. J. Nat. Cancer Inst. 49: 969-88.

HALL, W.J. & O'REGAN, M.G. (1975). The effects of indomethacin and prostaglandin E_2 on cyclic AMP-levels in frog skin. J. Physiol. (Lond) 247: 31-2.

HARMON, J.W. & LEWIS, C. (1981). Effects of intravenous, 16,16-dimethyl-prostaglandin E_2 on bile salt-induced injury of the gastric mucosa in canine Heidenhain pouches. Prostaglandins (Suppl 21): 103-12.

- HASE, T. & MOSS, B.J. (1973). Microvascular changes of gastric mucosa in the development of stress ulcer in rats. Gastroenterology 65: 224-34.
- HAWKINS, W.W. & LEONARD, V.G. (1962). Antipeptic and antithrombic properties of carrageenin. J. Lab. Clin. Med. 60: 641-48.
- HEATLY, M.G. (1959). Mucosubstance as a barrier to diffusion. Gastroenterology 37: 313-17.
- HIDALGO, J.; ARMARIO, R.F. & GARVEY, J.S. (1986). Restraint stress changes induced in rat liver and serum metallothionein and in Zn metabolism. Experientia 42: 1006-10.
- HIGSON, D.J. & ITO, S. (1971). Effect of aspirin and related compounds on the fine structure of mouse gastric mucosa. Gastroenterol 61: 156-77.
- HOLLANDER, F. (1952). Gastric secretion of electrolytes. Fed. Proc. 11: 706-14.
- HOLLANDER, F. (1954). The two-component of mucus barrier. Arch. Intern. Med. 93: 107-20.
- HUNT, J.N. (1960). The site of receptors slowing gastric emptying in response to starch in test meals. J. Physiol. (Lond) 154: 270-6.

- JOHANSSON, C. & KOLLBERG, B. (1979). Stimulation of intra-gastrically administered E₂ prostaglandins of human gastric mucus output. Eur. J. Clin. Invest. 9: 229-32.
- JOHNSON, H.D. (1965). Gastric ulcer: Classification, blood group characteristics, secretion patterns and pathogenesis. Ann. Surg. 162: 996-1003.
- JORY, A. & BERNARDI, D. (1966). Presence of a general irritation and inhibition of a local inflammation. Med. Pharm. Exp. 14: 500-6.
- KAUFFMAN, G.L. Jr. & WHITTLE, B.R.J. (1982). Gastric vascular action of prostanoids and the dual effect of arachidonic acid. Am. J. Physiol. 242: G582-G587.
- KAUFFMAN, G.L. Jr. (1984). Mucosal damage to the stomach: how, when and why? Scand. J. Gastroenterol. 19 (Suppl. 105) 19-26.
- KELLER, R. & SORKIN, E. (1970). Selective incorporation of zinc into rat mast cells. Experientia. 26: 30-1.
- KENT, P.W. & ALLEN, A. (1968). The biosynthesis of intestinal mucins. Biochem. J. 106: 645-58.
- KENYON, G.S.; ANSELL, T.F. & CARTER, D.C. (1978). Methylated analogs of prostaglandin E₂ and the gastric mucosal barrier. Prostaglandins 15: 779-94.
- KERP, L. (1963). significance of zinc for fixation of histamine in mast cells. Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 22: 112-20.

- KIM, Y.S. & HAROWITZ, M.I. (1971). Solubilization and chemical and immunochemical characterization of sparingly soluble canine gastric mucin. Biochim. Biophys. Acta. 236: 686-701.
- KOMAROV, S.A. (1936). The influence of mucoitinsulphuric acid on peptic digestion. Am. J. Dig. Dis. 3: 164-8.
- KONTUREK, S.J.; ROBERT, A.; HANCHAR, A.J. & NEZAMIS, J.E. (1980). Comparison of prostacyclin and prostaglandin E₂ on gastric secretion, gastrin release and mucosal blood flow in dogs. Dig. Dis. Sci. 25: 673-9.
- KONTUREK, S.J.; BRZOWSKI, T.; PIASTUCKI, I.; RADECKI, T.; DEMBINSKI, A. & DEMBINSKA-KIEK, A. (1982). Role of locally generated prostaglandins in adaptative cytoprotection. Dig. Dis. Sci. 27: 907-71.
- LACY, E.R. (1985). Gastric mucosal resistance to a repeated ethanol insult. Scand. J. Gastroenterol (Suppl. 110): 63-72.
- LADEN, G.; BLACKWELL, R.Q. & FOSDICK, L.S. (1958). Anti-inflammatory effects of irritants. Am. J. Physiol. 195: 712-18.
- LA MONT, J.T.; VENTOLA, A.S.; MAULL, E.A. & SZABO, S. (1983). Cysteamine and prostaglandin F_{2α} stimulate gastric mucin release. Gastroenterology 84: 306-13.

- LARSEN, K.R.; JENSEN, N.F.; DAVIS, E.K.; JENSEN, J.C. & MOODY, F.G. (1981). The cytoprotective effects of (+) 15-deoxy- 16- α - β -hydroxy-16-methylPGE₁, methyl ester (SC-29333) versus aspirin-shock gastric ulcerogenesis in dog. Prostaglandins (Suppl. 21): 119-24.
- LEPKOVSKY, S.; FELDMAN, S.E. & SHARON, I.M. (1967). food and water intake of full. In: CODE, C.F.; ed., Handbook of Physiology, Washington, American Physiological Society. v. I, pt. 8, p. 117-128.
- LEVEY, S. & SHEINFELD, S. (1954). The inhibition of the proteolytic action of pepsin by sulphat-containing polyssacharides. Gastroenterology 27: 625-30.
- LUCAS, C.E.; SUGAWA, C.; FRIEND, W. & WALT, A.J. (1972). Therapeutic implications of disturbed gastric physiology in patients with stress ulcerations. Am. J. Surg. 123: 25-34.
- MC GREEVY, J.M. & MOODY, F.G. (1981). Focal microcirculatory changes during the production of aspirin-induced gastric mucosal erosions. Surgery 89: 337-41.
- MAC GREGOR, I.L.; GUELER, R.; WATTS, H.D. & MEYER, J.A. (1976) The effect of hyperglycemia on gastric emptying in man. Gastroenterology 70: 190-96.
- MAIN, J.H.M. & WHITTLE, B.J.R. (1973). The effects of E and A prostaglandins on gastric mucosal blood flow and acid secretion in the rat. Br. J. Pharm. 49: 428-36.
- MENGUY, R. & MASTERS, Y.F. (1974). Gastric mucosal energy metabolism and stress ulceration. Ann. Surg. 180: 538-48.

- MENGUY, R. & MASTERS, Y.F. (1978). Mechanism of stress ulcer: influence of α -adrenergic blockade on stress ulceration and gastric mucosal energy metabolism. Am. J. Dig. Dis. 23: 493-7.
- MERSEREAU, W.A. & HINCHEY, E.J. (1973). Effect of gastric acidity on gastric ulceration induced by hemorrhage in the rat, utilizing a gastric chamber technique. Gastroenterology 64: 1130-5.
- MESSER, J.; REITMAN, D.; SACKS, A.S.; SMITH, A. Jr. & CHALMERS J.C. (1983). Association of adrenocorticosteroid therapy and peptic ulcer disease. N. Engl. J. Med. 309: 21-4.
- MILANINO, R.; CONFORTI, A.; FRANCO, L.; MARRELA, M. & VELO, G. (1985). Copper and inflammation - a possible rationale for the pharmacological manipulation of inflammatory disorders. Agents Actions 16: 504-13.
- MILLER, T.A. & JACOBSON, E.D. (1979). Gastrointestinal cytoprotection by prostaglandins. Gut 20: 75-87.
- MILLER, T.A. (1983). Protective effects of prostaglandins against gastric mucosal damage: current knowledge and proposed mechanisms. Am. J. Physiol. 245: G601-G623.
- MOODY, F.G.; CHEUNG, L.Y.; SIMONS, M.A. & ZALESKI, C. (1976). Stress and acute gastric mucosal lesion. Am. J. Dig. Dis. 21: 148-54.
- OGLE, C.W. & LAU, K.H. (1979). Disodium chromoglycate: a novel gastric anti-ulcer agent? Eur. J. Pharmacol. 55: 411-5.

- OREHEK, J.; DOUGLAS, J.S. & BOUHUYS, A. (1975). Contractile responses of the guinea pig traches "in vitro": modification by PG-synthesis inhibiting drugs. J. Pharmacol. Exp. Ther. 194: 554-64.
- PAKAREK, R.S. & BEISEL, W.R. (1971). Characterisation of endogenous mediator(s) of serum zinc and iron depression during infection and other diseases. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 138: 728-32.
- PARKE, D.V. (1978). Pharmacology of the mucus. Br. Med. Bull 34: 89-94.
- PARE, W.P.; VINCENT, G.P. & ISON, K.E. (1979). Age differences and stress ulcer in the rat. Exp. Aging Res. 5: 31-42.
- PATON, W.D.M. (1957). Histamine release by compounds of simple chemical structure. Pharmacol. Rev. 9: 269-328.
- PATON, W.M.D. & PAYNE, J.P. (1968) Control of Pain. In PATON, W.M.D. & PAYNE, J.P., ed. Pharmacological Principles and Practice. London. J. & A. Churchill Ltd. cap. 4, p. 94-126.
- PFEIFFER, C.J. (1967). The physiological effects of restricted activity in the rat: stress effects of chronic restraint. Exp. Med. Surg. 25: 201-17.
- PIPPER, D.W. & FENTON, B. (1961). Effect of a sulphated polysaccharide on peptic digestion. A study in vitro of carrageenin. Gastroenterology 40: 638-45.
- PUURUNEN, J. (1980). Effect os prostaglandin E₂, cimetidine and atropine on ethanol-induced gastric mucosal damage in the rat. Scand. J. Gastroenterol. 15: 485-8.
- RAINSFORD, K.D. & WHITEHOUSE, M.W. (1976). Gastric mucus effusion elicited by oral copper compounds: potencial anti-ulcer activity. Experientia 32: 1172-3.

- RAINSFORD, K.D. (1978). The effects of aspirin and other non-steroid anti-inflammatory/analgesic drugs on gastrointestinal mucus glycoprotein biosynthesis in vivo: relationship to ulcerogenic actions. Biochem. Pharmacol. 27: 877-85.
- RHODES, J. (1972). Etiology of gastric ulcer. Gastroenterology 63: 171-82.
- RIECKER, H.H. (1946). Peptic ulcer in identical twins. Ann. Intern. Med. 24: 878-81.
- RIIS, P.; ANTHONISEN, P.; WULFF, R.; FOLKENBORG, O.; BONNEVIL, O. & BINDEN, V. (1973). The prophylactic effect of salicylazosulphapyridine in ulcerative colitis during long-term treatment. Scand. J. Gastroenterol. 8: 71-4.
- ROBERT, A.; PHILLIPS, P. & NEXAMIS, J.E. (1966). Production by restraint of gastric ulcer and of hydrotorax in the rat, Gastroenterology 51: 75-81.
- ROBERT, A. (1974). Effects of prostaglandin on the stomach and intestine. Prostaglandins 6: 523-32.
- ROBERT, A.; LANCASTER, C.; HANCHAR, A.J. & NEXAMIS, J.E. (1978). Mild irritants prevent gastric necrosis through prostaglandin formation: histological study (Abstract). Gastroenterology 74: 1086.
- ROBERT, A.; NEXAMIS, J.E.; LANCASTER, C. & HANCHAR, A.J. (1979). Cytoprotection by prostaglandins in rats: Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. Gastroenterology 77: 433-43.

- ROBERT, A.; NEXAMIS, J.E.; LANCASTER, C.; DAVIS, J.P.; FIELD, S.O. & HANCHAR, A.J. (1983). Mild irritants prevent gastric necrosis through "adaptative cytoprotection" mediated by prostaglandins. Am. J. Physiol. 245: G113-G121.
- ROBERT, A. (1984). Mechanism of cytoprotection. In: PATON, W.D.M.; MITCHELL, J. & TURNER, P. ed. Proceedings of International Congress of Pharmacology, 9. London, 1984. London, MacMillan. p. 355-59.
- ROBERT, A.; LANCASTER, C.; DAVIS, J.P.; FIELD, S.O. & NEXAMIS, J.E. (1984). Distinction between anti-ulcer effect and cytoprotection. Scand. J. Gastroenterol 19: (Suppl. 105): 69-72.
- ROBINSON, B.V. & ROBSON, J.M. (1964). Production of an anti-inflammatory substance at a site of inflammation. Br. J. Pharmacol. 23: 420-32.
- ROBSON, R.; ALLEN, A. & PAIN, R.H. (1975). Non-covalent forces hold glycoprotein molecules together in mucous gel. Biochem. Soc. Trans. 3: 1105-7.
- RÖSÄNEN, T. & TASKINEN, E. (1967). Protection of the gastric mucosa against the lesions caused by reserpine through degranulation of mucosal mast cells. Acta Physiol. Scand. 71: 96-102.
- ROSS, I.N. & TURNBERG, L.A. (1983). Studies of the mucus-bicarbonate barrier on rat fundic mucosa; the effects of luminal pH and a stable prostaglandin analogue. Gut 24: 1030-3.

- ROSSI, G.; BONFILS, S.; LIEFFOGH, F. & LAMBLING, A. (1956).
Technique nouvelle pour produire des ulcerations gastriques
chez le rat blanc: l'ulcère de contrainte. C. R. Soc. Biol.
(Paris) 150: 2124:6.
- RUPPIN, H.; PERSON, B.; ROBERT, A. & DOMSCHKE, W. (1981). Gas-
tric cytoprotection in man by prostaglandin E₂. Scand. J.
Gastroenterol 16: 647-52.
- RYDNING, A. & BERSTAD, A. (1985). Dietary aspects of peptic
ulcer disease. Scand. J. Gastroenterol 20 (Suppl. 110): 29-
-33.
- SASAKI, H.; NAGULLSPARAN, M.; DUBOIS, A.; VASQUEZ, B.; STRAUS,
E.; SIEVERS, M.L. & UNGER, R.H. (1983). Inhibitory effect of
intra-gastric glucose on gastric and secretion and gastric
emptying of liquids in man: Role of endogenous somatostatin,
gastrin and insulin. Dig. Dis. Sci. 28: 502-6.
- SCAWEN, M. & ALLEN, A. (1977). The action of proteolytic en-
zymes on the glycoprotein from pig gastric mucus. Biochem.
J. 163: 363-8.
- SELYE, H. (1936). Thymus and adrenals in the response of the
organism to injuries and intoxications. Br. J. Exp. Pathol
17: 234:48.
- SENAY, E.C. & LEVINE, R.J. (1967). Synergism between cold and
restraint for rapid production of stress ulcers in rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124: 1221-3.
- SHAY, H.; KOWAROV, S.A.; FILLS, S.; MERANZE, D.; GOLDSTEIN, M.
& SIPLET, H. (1945). A simple method for uniform production

- of gastric ulceration in the rat. Gastroenterology 5: 43-61.
- SILEN, W. (1977). New concepts of the gastric mucosal barrier. Am. J. Surg. 133: 8-12.
- SILEN, W. & ITO, S. (1985). Mechanisms for rapid re-epithelialization of the gastric mucosal surface. Annu. Rev. Physiol. 47: 217-29.
- SINGER, C. (1913). The production of ulcer of the stomach in the rat. Lancet 2: 279-81.
- SLOMIANY, B.L.; PIASEK, A.; SACOSIEK, J. & SLOMIANY, A. (1985) The role of surface and intracellular mucus in gastric mucosal protection against hydrogen ion. Scand. J. Gastroenterol. 20: 1191-6.
- SLOMIANY, B.L. & MEYER, K. (1972). Isolation and structural studies of sulphated glycoproteins from hog gastric mucosa. J. Biol. Chem. 247: 5062-70.
- SONNEMBERG, A. (1985). Geographic and temporal variations in the occurrence of peptic ulcer disease. Scand. J. Gastroenterol. 20 (Suppl. 110): 11-24.
- SORENSEN, J.R.J. (1976). Copper chelates a possible active forms of the anti-arthritis agents. J. Med. Chem. 19: 135-47.
- SPENNEY, J.G. & BARTON, J.C. (1981). 15-hydroxy-prostaglandin-dehydrogenase and Δ^{13} reductase content of gastrointestinal organs of rabbits and rats. Prostaglandins (Suppl 21): 15-23.

- STEVENS, C.E. & LEBLOND, C.P. (1953). Renewal of the mucous cells in the gastric mucosa of the rat. Anat. Rec. 115: 231-45.
- SUSSER, M. (1962). Civilization and peptic ulcer. Lancet 1: 115-9.
- SVANES, K.; ITO, S.; TAKEUCHI, K. & SILEN, W. (1982). Restitution of the surface epithelium of the "in vitro" frog gastric mucosa after damage with hyperosmolar sodium chloride. Gastroenterology 82: 1409-26.
- SZABO, S.; TRIER, J.S. & FRANKEL, P.W. (1981). Sulfhydryl compounds may mediate gastric cytoprotection. Science 214: 200-2.
- TAKAGAKI, Y.M. & HOTTA, K. (1979). Characterization of peptic inhibitory activity associated with sulphated glycoprotein isolated from gastric mucosa. Biochim. Biophys. Acta. 584: 288-97.
- TAPPERMAN, B.L.; MILLER, T.A. & JOHNSON, L.R. (1978). Effect of 16,16-dimethyl prostaglandin E₂ on ethanol induced damage to canine oxyntic mucosa. Gastroenterology 75: 1061-65.
- TEORELL, T.L. (1947). Electrolyte diffusion on relation to the acidity regulation of the gastric juice. Gastroenterology 9: 425-43.
- TRAN, T.A. & GREGG, R.V. (1974). Transmittal of restraint induced gastric ulcers by parabiosis in rats. Gastroenterology 66: 63-8.

- TRAN, T.A. & GREGG, R.V. (1974). Hypothermia in restraint induced gastric ulcers in parabiotic rats. Gastroenterology 67: 271-5.
- VANE, J.R. (1971). Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. Nature 231: 232-5.
- VINCENT, G.; GLAVIN, G.; RUTKOWSKI, J. & PARÉ, W.P. (1977). Body orientation, food deprivation and potentiation of restraint-induced gastric lesions. Gastroenterol. Clin. Biol. 1: 539-43.
- VINCENT, G.P.; PARÉ, W.P. & GLAVIN, G.B. (1980). The effects of food deprivation on restraint-induced gastric lesions in the rat. Physiol. Behav. 25: 727-30.
- VINEGAR, R.; TRUAX, J.F.; SELPH, J.L.; JOHNSTON, P.R.; VENABLE, A.L. & MCKENZIE, K.K. (1987). Pathway to carrageenin-induced inflammation in the hind limb of the rat. Fed.Proc. 46: 118-26.
- VINEGAR, R.; TRUAX, J.F.; SELPH, J.L. & JOHNSTON, P.R. (1979). Antagonism of pain and hyperalgesia. In: VANE, J.R. & FERREIRA, S.H., ed., Anti-inflammatory Drugs. Berlin, spring Verlag, vol. 50/II, p. 75-88.
- WEINBERG, E.D. (1972). Infections diseases influenced by trace element environment. Ann. N.Y. Acad. Sci. 199: 274-83.
- WEINSHELBAUM, E.I. (1974). applied anatomy of the stomach. In: BOCKUS, H.L. ed., Gastroenterology. Philadelphia, W.B. Saunders. Cap. 19, p. 389-404.

- WHITEHOUSE, M.W. (1976). Ambivalent role of copper in inflammatory disorders. Agents Actions 6: 201-6.
- WHITTLE, B.J.R. (1977). Mechanisms underlying gastric mucosal damage induced by indomethacin and bile salts and the actions of prostaglandins. Br. J. Pharmacol. 60: 455-60.
- WHITTLE, B.J.R. (1978). Potential endogenous inhibitors of prostaglandin synthetase in plasma: failure to inhibit cyclo-oxygenase in platelets and the gastric mucosa. J. Pharm. Pharmacol. 30: 467-8.
- WILLETTE, R. (1977). Analgesic Agents. In: WILSON, C.O.; GISVOLD, O.; DOERGE, R.F. ed., Textbook of Organic Medical and Pharmaceutical Chemistry. Philadelphia, J.B. Lippincott, p. 715-16.
- WILLIAMS, S.E. & TURNBERG, L.A. (1981). Demonstration of a pH gradient across mucus adherent to rabbit gastric mucosa: evidence for a "mucus-bicarbonate" barrier. Gut 22: 94-96.
- WILSON, T.R. (1967). Strain and sex differences in gastric ulceration in restrained rats. Acta. Genet. Med. Gemellol (Roma) 16: 310-16.
- WINTER, C.A.; RISLEY, E.A. & NUSS, G.W. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 11: 544-7.
- WINTERNITZ, R. (1901). Über die entzündungswirkende ätherische Öle. Naunyn-Schmiedeberg's. Arch. Exp. Path. Pharmak. 46: 163-180.

WOZNIAK, D.F. & GOLDSTEIN, R. (1980). Effect of deprivation duration and prefeeding on gastric stress erosions in the rat. Physiol. Behav. 24: 231-5.

ZLOTOFF, R.A.; LAKE, A.M.; HAMILTON, S.R. & HENDRIX, T.R. (1982). N-acetylcysteine attenuates cytoprotective effect of topical PGE₂ in the rat stomach. (Abstract). Gastroenterology 82: 1218.