

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

FERNANDA PACÍFICO DE ALMEIDA NEVES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DA
LECTINA DE *Cratylia mollis* (pCramoll) EM MODELOS AGUDOS DE ÚLCERAS
GÁSTRICAS EM CAMUNDONGOS**

**Recife
2017**

FERNANDA PACÍFICO DE ALMEIDA NEVES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DA
LECTINA DE *Cratylia mollis* (pCramoll) EM MODELOS AGUDOS DE ÚLCERAS
GÁSTRICAS EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração Bioquímica, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Maria Tereza dos Santos Correia

**Recife
2017**

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Neves, Fernanda Pacífico de Almeida

Avaliação da atividade gastroproterora da lectina de *Cratylia mollis* (pCramoll) em modelos agudos de úlceras gástricas em camundongos / Fernanda Pacífico de Almeida Neves. – 2017.

64 f. : il.

Orientadora: Maria Tereza dos Santos Correia.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Recife, 2017.

Inclui referências.

1. Lectinas 2. Úlceras 3. Estomago – Doenças I. Correia, Maria Tereza dos Santos (orientadora) II. Título.

572.6

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2018 - 070

FERNANDA PACÍFICO DE ALMEIDA NEVES

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE GASTROPROTETORA DA LECTINA DE *Cratylia mollis* (PCRAMOLL) EM MODELOS AGUDOS DE ÚLCERAS GÁSTRICAS EM CAMUNDONGOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de concentração Ciências Biológicas, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 22 / 02 / 2017

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Tereza dos Santos Correia (Orientadora)
Departamento de Bioquímica – UFPE

Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley
Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE

Prof^a. Dr^a. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho
Departamento de Bioquímica – UFPE

AGRADECIMENTOS

À Deus primeiramente, por me orientar nas minhas decisões.

À minha mãe, Antônia das Graças Pacífico Lima, que sempre esteve ao meu lado me proporcionando amor e carinho. Obrigada por todo apoio, incentivo e esforço que você fez e ainda faz para me proporcionar sempre o melhor.

À minha avó Teresa Correia Lima de Albuquerque, pelas constantes orações (esteja onde estiver).

Aos familiares mais próximos, pela admiração e apoio a cada conquista.

À minha orientadora, Professora Dra. Maria Tereza dos Santos Correia por todos os ensinamentos, compreensão, paciência e principalmente, pela confiança dada desde a iniciação científica.

À Professora Dra. Maria das Graças Carneiro da Cunha pelo acolhimento, compreensão e aprendizado no laboratório de Biotecnologia.

Ao Professor Dr. Almir Gonçalves Wanderley e todos os alunos do seu laboratório pela amizade e ajuda nos experimentos com os animais.

Em especial a Samara, por todo conhecimento e contribuição para o desenvolvimento desse projeto, não medindo esforços para me ajudar e fazer os experimentos seja em feriados e finais de semana. MUITÍSSIMO obrigada!

Ao meu namorado, Guilhermy Araújo, pelo carinho, paciência e compreensão durante esse período. Obrigada pelas correções, ajuda, dicas, por entender minha correria e me tranquilizar. Obrigada por tudo!

Aos amigos do Departamento de Bioquímica, Laboratório de Glicoproteínas e Biotecnologia.

Agradeço a Rita de Cássia, José Roberto, George Souza, Raiana Apolinário, Mychelly Melo e Priscila Sales pelo conhecimento, companhia e carinho.

Em especial a Fernanda Andrade e Jan Braz, que contribuíram bastante no desenvolvimento deste projeto, demonstrando apoio e ajudando nas correções. Aos professores e funcionários do Centro de Biociências e do Departamento de Bioquímica, pelo apoio e dedicação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

RESUMO

As úlceras gástricas agudas são lesões de caráter inflamatório, causadas por um desequilíbrio entre os fatores defensores e agressores da mucosa. O tratamento dessa doença é realizado através de medicamentos convencionais, no entanto, estes causam efeitos adversos prejudiciais, são tóxicos e não promove a cicatrização de maneira eficiente, o que provoca comumente recidiva. Desse modo, a busca por novas substâncias para o tratamento desta doença envolve o uso de produtos naturais. Lectinas são proteínas de origem não imunológica que se ligam reversivelmente e especificamente a carboidratos. pCramoll é uma das variações lectínicas isolada de sementes de *Cratylia mollis*, popularmente conhecida como feijão Camaratu, uma espécie endêmica do semi-árido do nordeste do Brasil. Algumas atividades farmacológicas já foram descritas para pCramol tais como antitumoral, antiparasitário e cicatrizante. Desse modo, o objetivo desse estudo foi investigar a DL₅₀ e avaliar a atividade gastroprotetora de pCramoll em modelos de úlceras agudas (etanol absoluto, etanol acidificado e indometacina) em camundongos *Swiss abino*. A DL₅₀ foi realizada com administração única de pCramol, por via oral (2 mg/kg) ou NaCl 0,9%, n=3/grupo. Os animais foram observados durante 14 dias e durante esse período foram mensurados o consumo de água e ração, e a massa dos animais. Para o estudo gastroprotetor foram utilizados camundongos Swiss albino machos e fêmeas, os quais foram divididos ao acaso em 5 grupos experimentais: Grupo I – Animais controles pré-tratados com solução de NaCl (0,9%); Grupo II – Animais controles positivos pré-tratados com lansoprazol (30 mg/kg) ou ranitidina (60 mg/kg); Grupo III – Animais t pré-tratados com pCramoll (50µg/kg); Grupo IV – Animais pré-tratados com pCramoll (100 µg/kg) e Grupo V – Animais pré-tratados com pCramoll (200 µg/kg). Para os animais submetidos ao dano gástrico por etanol absoluto, foram realizadas ainda lâminas histológicas e dosagem de citocinas dos estômagos (ex-vivo). As sementes de *C. mollis* foram coletadas e trituradas em multiprocessador, até obtenção de uma farinha e a lectina foi purificada de acordo com o protocolo previamente estabelecido. A administração única (v.o.) de 2 mg/kg de pCramoll em camundongos, não causou alterações comportamentais, além disso, não foi possível calcular a DL₅₀ visto que não houve mortes ao final dos 14 dias de observação. Nas ulcerações causadas por etanol acidificado, etanol absoluto e indometacina houve

inibição da área de lesão ulcerativa (ALU) ou índice de lesão ulcerativa (ILU), para todas as concentrações de pCramoll (50, 100, 200 µg/kg). Essa atividade gastroprotetora foi confirmada por meio da avaliação histopatológica, onde os pré-tratados com pCramoll animais apresentaram a mucosa bem definida e ausência de sinais inflamatórios. Os resultados mostraram uma DI50 superior a 2 mg/kg de pCramoll e um efeito protetor gástrico em lesões induzidas por etanol acidificado, etanol absoluto e indometacina.

Palavras chave: *Cratylia mollis*. Lectinas. pCramoll. Gastroprotetor. Úlceras agudas.

ABSTRACT

Acute gastric ulcers are inflammatory lesions caused by an imbalance between the mucosal defensive and aggressive factors. Treatment of this disease is done through conventional medications; however, these cause harmful adverse effects, besides being toxic and do not promote healing in an efficient manner, which usually causes relapse. Thus, the search for new substances for the treatment of this disease involves the use of natural products. Lectins are proteins of non-immunological origin that reversibly bind to carbohydrates. pCramoll is one of the lectin variations isolated from seeds of *Cratylia mollis*, popularly known as camaratu bean, an endemic species of the semi-arid region of northeastern Brazil. Some pharmacological activities have already been described for pCramol such as antitumor and antiparasitic activity as well as healing. Thus, the goal of this study was to investigate the LD50 and to evaluate the gastroprotective activity of pCramoll in models of acute ulcers (absolute ethanol, acidified ethanol and indomethacin) in *Swiss albino* mice. The LD50 was performed with single oral administration of pCramol (2 mg / kg) or 0.9% NaCl, n = 3 / group. The animals were observed for 14 days and during that period the water and food intake were measured as well as the weight of the animals. To assess the gastroprotective activity, male and female albino *Swiss* mice were used. The mice were randomly divided into 5 experimental groups: Group I - Control animals treated with saline (0.9%); Group I - Animals treated with saline (0.9%); Group II - Animals treated with lansoprazole (30 mg / kg)/ ranitidine (60 mg / kg); Group III - Animals treated with pCramoll (50 µg / kg); Group IV - Animals treated with pCramoll (100µg / kg), and Group V - Animals treated with pCramoll (200 µg / kg). For the animals submitted to gastric lesion by absolute ethanol, histological slides and cytokine dosage of the stomachs (ex-vivo) were also performed. The seeds of *C. mollis* were collected and ground in a multiprocessor until a powder be obtained and the lectin was purified according to a protocol previously reported. The single administration (P.O) of 2 mg / kg of pCramoll in mice did not cause did not cause behavioral changes; furthermore, it is not possible to calculate an LD50 since there were no deaths at the end of the 14 days of observation. In ulcers caused by acidified ethanol, absolute ethanol and indomethacin, the ulcerative lesion area (ALU) or ulcerative lesion index (ILU) was inhibited by pCramoll at all given concentrations (50, 100, 200 µg / kg). This

gastroprotective activity was confirmed by histopathological analysis, where the animals treated with pCramoll presented the well defined mucosa and absence of inflammatory signs. The results showed a LD50 greater than 2 mg / kg pCramoll and a gastric protective effect for lesions induced by acidified ethanol, absolute ethanol and indomethacin.

Keywords: *Cratylia mollis*. Lectin. pCramoll. Gastroprotection. Acute ulcers.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES DO REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 - Regiões anatômicas do estômago.....	18
Figura 2 - Camadas teciduais no estômago humano.....	19
Figura 3 - Anatomia funcional da mucosa gástrica humana.....	20
Figura 4 - Fisiopatologia das úlceras pépticas.....	21
Figura 5 - Rede de hemaglutinação mediada por lectinas.....	29
Figura 6 - Sementes, árvore e flores de <i>Cratylia mollis</i>	31
Figura 7 - Alinhamento estrutural de Cramoll isoforma 1 e Concanavalina A.....	32

LISTA DE ILUSTRAÇÕES DO ARTIGO I

- Figura 1** - Effect of pCramoll (pCra) on body (A), food (B) and water (C) weight in female mice in the acute toxicity model (14 days)..... 44
- Figure 2** - Effect of the orally pretreatment with pCramoll (pCra) on gastric lesions induced by acidified ethanol in mices (n=5). Ulcerative lesion index (ULI)..... 45
- Figure 3** - Effect of different doses of pCramoll (pCra) on the severity of gastric lesion (gross analysis) examined in acidified ethanol-induced gastric ulceration model. Stomach treated with NaCl 0.9%, lansoprazole 30 mg / kg, pCra (50 µg / kg), pCra (100 µg / kg) and pCra (200 µg / kg)..... 45
- Figure 4** - Effect of the orally pretreatment with pCramoll (pCra) on gastric lesions induced by absolute ethanol in mices (n=5)..... 45
- Figure 5** - Effect of different doses of pCramoll (pCra) on the severity of gastric lesion (gross analysis) examined in absolute ethanol-induced gastric ulceration model. Stomach treated with NaCl 0.9%, lansoprazole 30 mg / kg, pCra (50 µg / kg) (C), pCra (100 µg / kg) and pCra (200 µg / kg)..... 46
- Figure 6** - Histopathology of the gastric mucosa of experimental groups pretreated with: 0.9% NaCl (Injured control A and B), lanzoprazole 30 mg / kg (C), pCra 50µg / kg (D), pCra 100µg / kg (E) and pCra 200µg / kg (F) in ethanol-induced ulcer. M-mucosa; Sm - submucosa; Large arrow - muscular layer; Small arrow - muscular mucosa..... 46
- Figure 7** - Levels of IL-6 (A) and IL-1β (B) cytokines in the stomachs of mice with gastric ulcers by absolute ethanol..... 47
- Figure 8** - Effect of the orally pretreatment with pCramoll (pCra) on gastric lesions indomethacin-induced in mice (n=7)..... 48

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

ALU	- Área de lesão ulcerativa
CDR	- Domínio de reconhecimento de carboidrato
ConA	- Concanavalina A
COBEA	- Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
COX	- Ciclooxygenase
ERRO	- Espécie reativa de oxigênio
ECL	- Enterocromafins
GFs	- Fatores de crescimentos
HCl	- Ácido clorídrico
HE	- Hematoxilina-Eosina
IL-1	- Interleucina-1
IL-4	- Interleucina-4
IL-6	- Interleucina-6
IL-10	- Interleucina-10
LIKA	- Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami
LOX	- Lipoxigenase
NO	- Óxido nítrico
PG	- Prostaglandina
PGE₂	- Prostaglandina E ₂
ROS	- Espécies reativas de oxigênio
TGI	- Trato gastrointestinal
TGF-α	- Fator de crescimento transformante- α
TGF-β	- Fator de crescimento transformante- β
TNF-α	- Fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS.....	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	18
3.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO TRATO GASTROINTESTINAL.....	18
3.2 ÚLCERAS PÉPTICAS.....	20
3.3 FATORES PROTETORES DA MUCOSA GÁSTRICA.....	22
3.3.1 Muco e Bicarbonato.....	22
3.3.2 Epitélio gástrico.....	22
3.3.3 Microcirculação.....	23
3.3.4 Prostaglandinas.....	23
3.3.5 Sistema antioxidante.....	23
3.3.6 Óxido nítrico.....	24
3.4 MODELOS DE LESÃO GÁSTRICA.....	24
3.4.1 Etanol e lesão gástrica.....	25
3.4.2 AINES e lesão gástrica.....	26
3.5 TRATAMENTOS DAS ÚLCERAS PÉPTICAS.....	27
3.6 LECTINAS.....	28
3.6.1 Lectinas e o trato gastrointestinal.....	29
3.6.2 Lectinas de <i>Cratylia molis</i> (pCramoll)	30
4 ARTIGO I: EVALUATION OF THE GASTROPROTETIC ACTIVITY OF CRAMOLL IN ACUTE ULCER MODELS OF MICE.....	34
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	53
REFERÊNCIAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

Lectinas podem ser compreendidas como proteínas de origem não imunológica que tem a capacidade de ligar especificamente e reversivelmente a carboidratos (SHARON, 2008). Essa propriedade possibilita as lectinas a desempenharem eventos celulares como: aglutinação, reconhecimento celular, simbiose, estimulação da proliferação, opsonização, metástase e apoptose (WITITSUWANNAKUL; WITITSUWANNAKUL; SAKULBORIRUG, 1998). Encontram-se amplamente distribuídas entre plantas (PEREIRA et al., 2012), bactérias (REYNOLDS et al., 2012), fungos (HAMSHOU et al., 2012) e animais (NUNES et al., 2012), e podem ser determinadas através de sua habilidade em aglutinar células, especialmente eritrócitos de diferentes espécies animais (CORREIA; COELHO, 1995). As plantas constituem ricas fontes de lectinas e sua distribuição ocorre principalmente nas raízes, folhas, flores, frutos, sementes, tubérculos, bulbos, rizomas e entrecascas. As lectinas são particularmente abundantes em sementes de leguminosas (SOL; CAVADA; CALVETE, 2007), chegando a constituir até 10% da proteína total (SHARON; LIS, 1990) e, além disso, tem crescido o interesse por lectinas presentes em outros tecidos, como também por produção em sistemas de expressão heteróloga de proteínas (LAM; NG, 2011)

Cratylia mollis é uma planta endêmica da região do Semiárido do estado de Pernambuco, pertencente à família Phaseoleae, subfamília Dioclineae, e popularmente conhecida como feijão camaratuba ou camaratú. De suas sementes é obtida a pCramoll, uma preparação lectínica contendo duas isoformas (Cramoll 1 e Cramoll 4) de quatro lectinas purificadas de *C. mollis* (Cramoll 1, 2, 3, 4). (PAIVA & COELHO, 1992 e CORREIA & COELHO 1995).

Várias atividades farmacológicas foram demonstradas para pCramoll como, sua elevada ação antitumoral (CUNHA et al., 2016), perfil imunomodulatório (OLIVEIRA, et al., 21013), produção de óxido nítrico (MELO et al., 2011a; DA SILVA et al., 2015) caracterização de tecidos cancerígenos humanos (BELTRÃO et al., 1998; LIMA et al., 2010), ação antiparasitária in vivo e in vitro (FERNANDES et al., 2010; MELO et al., 2011a) e desenvolvimento de sensores para detecção de sorotipos do vírus da dengue (OLIVEIRA et al., 2011). Estudos também comprovam o seu efeito cicatrizante no reparo de lesões experimentais em camundongos normais e

imunocomprometidos (MELO et al., 2011b;c) e no tratamento de queimaduras de segundo grau em associação a um hidrogel, promovendo aceleração no processo de reepitelização, granulação e retração das feridas, mostrando-se assim como um potencial composto cicatrizante futuro para o tratamento de feridas em sua forma isolada ou associada a outros bioprodutos (PEREIRA et al., 2012).

A doença ulcerosa péptica constitui uma desordem do trato gastrointestinal produzida pelo desequilíbrio entre os fatores protetores e lesivos da mucosa gástrica. É caracterizada por uma lesão profunda que ultrapassa os limites da camada muscular estendendo-se a submucosa e encontram-se presente em vários estudos experimentais, devido as suas complicações clínicas, o alto risco de recidiva e alta prevalência na população (ANDREO et al., 2006; TYTGAT, 2011; TARNAWSKI e AHLUWALIA 2012). Além disso, são responsáveis por elevados custos médicos e afetam significativamente a qualidade de vida dos indivíduos, representando um problema social de importância econômica global (SÁNCHEZ-MENDOZA et al, 2011).

Os principais fatores que induzem o surgimento de úlceras gástricas é o consumo por período prolongado de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), a infecção por *Helicobacter pylori* e o consumo de bebidas alcoólicas, os quais provocam lesões na mucosa de maneira gradativa até a formação das úlceras (JAHOVIC, et al., 2007; MATSUHASHI, et al., 2007). Os AINEs encontram-se entre os medicamentos mais prescritos no mundo e são responsáveis por efeitos colaterais que afetam especialmente o trato gastrointestinal como desenvolvimento da hipergastrinemia, o risco de infecção bacteriana por *H. pylori*, principal agente responsável pelo surgimento de úlceras pépticas, e em casos mais graves podem levar à formação de câncer gástrico (BRUNTON, et al., 2006; SOSTRES et al., 2010; TARNAWSKI et al., 2013). Alguns estudos também revelam que a produção de espécies reativas do oxigênio (ROS) e a peroxidação lipídica estão envolvidos na patogênese das lesões gástricas e nos danos gastrointestinais induzidos por etanol, atacando e danificando muitas moléculas biológicas protetoras da mucosa como prostaglandinas e reduzindo a produção de muco (BIRDANE et al., 2007; VIANA et al., 2013).

Quando se considera as opções terapêuticas existentes, os medicamentos convencionais, apesar de promoverem a neutralização do ácido gástrico e a redução da secreção ácida estomacal, não propiciam o aumento de fatores endógenos para gastroproteção dificultando a cicatrização das lesões existentes na mucosa gástrica.

Mesmo com a variedade de drogas sintéticas disponíveis na prática clínica, ainda se buscam compostos antiulcerogênicos que apresentem efeitos colaterais de forma mais branda, com menores custos e que proporcionem o tratamento cicatricial. A realização de experimentos que investiguem de forma mais aprofundada as possíveis formas de tratamento desta doença, poderão assim possibilitar um maior conhecimento das alternativas de reparação das lesões (ANDREO et al., 2006).

Os compostos de fontes naturais mostram-se promissores candidatos para o combate dessa patologia, onde diversos estudos demonstram os efeitos gastroprotetores de várias plantas medicinais. (DA ROCHA LAPA et al, 2007; DE OLINDA et al, 2007; BUCCIARELLI et al, 2010; RODRIGUES et al, 2012;AWAAD et al., 2013) Dessa maneira, busca-se nos compostos naturais não-tóxicos encontrar novas substâncias terapêuticas que estimulem gastroproteção com propriedades estimuladoras de reparo, sem efeitos colaterais e de baixo custo (SEHN et al., 2009; KINGHORN et al., 2011).

Diante das inúmeras atividades biológicas já relatadas para pCramoll, este projeto buscou elucidar a toxicidade aguda e atividade gastroprotetora de pCramoll frente a modelos úlceras gástricas agudas, para assim constituir uma nova conduta terapêutica.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a atividade gastroprotetora de pCramoll frente a modelos agudos de úlceras gástricas em camundongos *Swiss albino*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a toxicidade aguda de pCramoll em camundongos *Swiss albino* durante um acompanhamento de 14 dias;
- Determinar a atividade antiulcerogênica de pCramoll, através de modelos de úlceras agudas induzidas por etanol acidificado, etanol absoluto e indometacina;
- Realizar a dosagem das citocinas IL-1 β e IL-6 das biópsias da mucosa gástrica submetidas à lesão por etanol absoluto;
- Acompanhar a evolução do ponto de vista clínico através do índice de lesão ulcerativa e área total de cada estômago com o auxílio do programa *ImageJ*;
- Acompanhar o processo antiulcerogênico do ponto de vista histopatológico, através de biópsias das mucosas gástricas submetidas a etanol absoluto, onde será analisada a efetividade do tratamento do ponto de vista microscópico.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DO TRATO GASTROINTESTINAL

O estômago é um órgão sacular localizado abaixo do diafragma, entre o esôfago e o duodeno, e pode ser dividido em três porções: fundo, corpo e antr/o pilórico, sendo limitado na parte superior ou proximal do estômago pelo esfíncter esofágico inferior e na parte inferior ou distal do estômago pelo esfíncter pilórico (**Figura 1**). Além disso, o estômago também pode ser dividido em razão da sua motilidade em uma porção inicial e uma final. A parte inicial do estômago recebe alimentos oriundos do esôfago e a porção final serve para misturar e fazer a propulsão do conteúdo pelo lúmen. Esse órgão do trato gastrointestinal (TGI) executa uma variedade de funções, incluindo servir como reservatório para alimentos, expor o alimento ingerido ao ácido e à pepsina e proporcionar uma barreira que impede a entrada de microrganismos no intestino (FEHER, 2012).

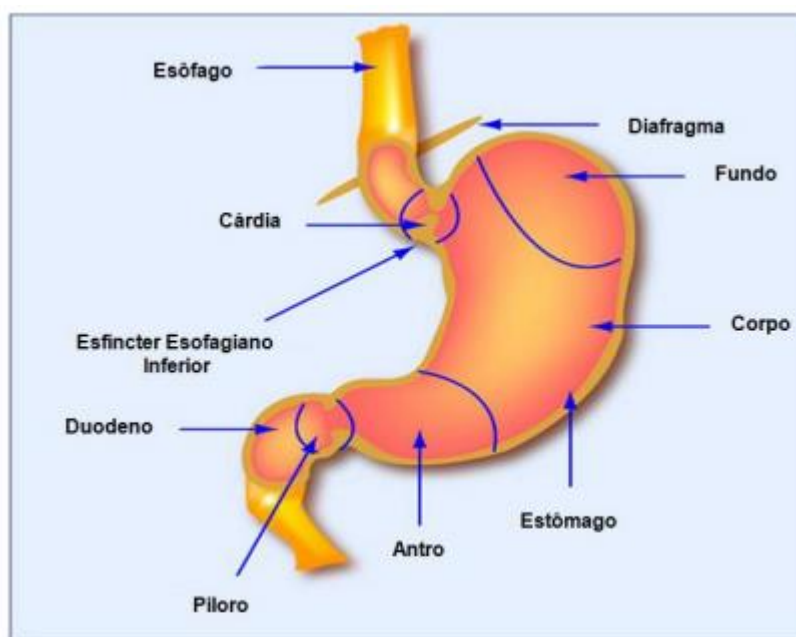


Figura 1. Regiões anatômicas do estômago. Fonte: JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2011.

Histologicamente o estômago é composto por camadas teciduais: serosa, muscular, submucosa e mucosa (**Figura 2**). A camada serosa é a que reveste a maior parte do órgão e é constituída principalmente de tecido conjuntivo. A camada muscular é composta de três subcamadas, sendo uma longitudinal externa, uma circular. A

submucosa é constituída de tecido conjuntivo frouxo e possui uma rica rede vascular, e por fim, a mucosa é a camada mais interna do estômago e abriga numerosas glândulas gástricas, sendo a região responsável pela produção e secreção de compostos necessários para o funcionamento do sistema digestório (MOHAN, 2008; BANSAL et al., 20009).

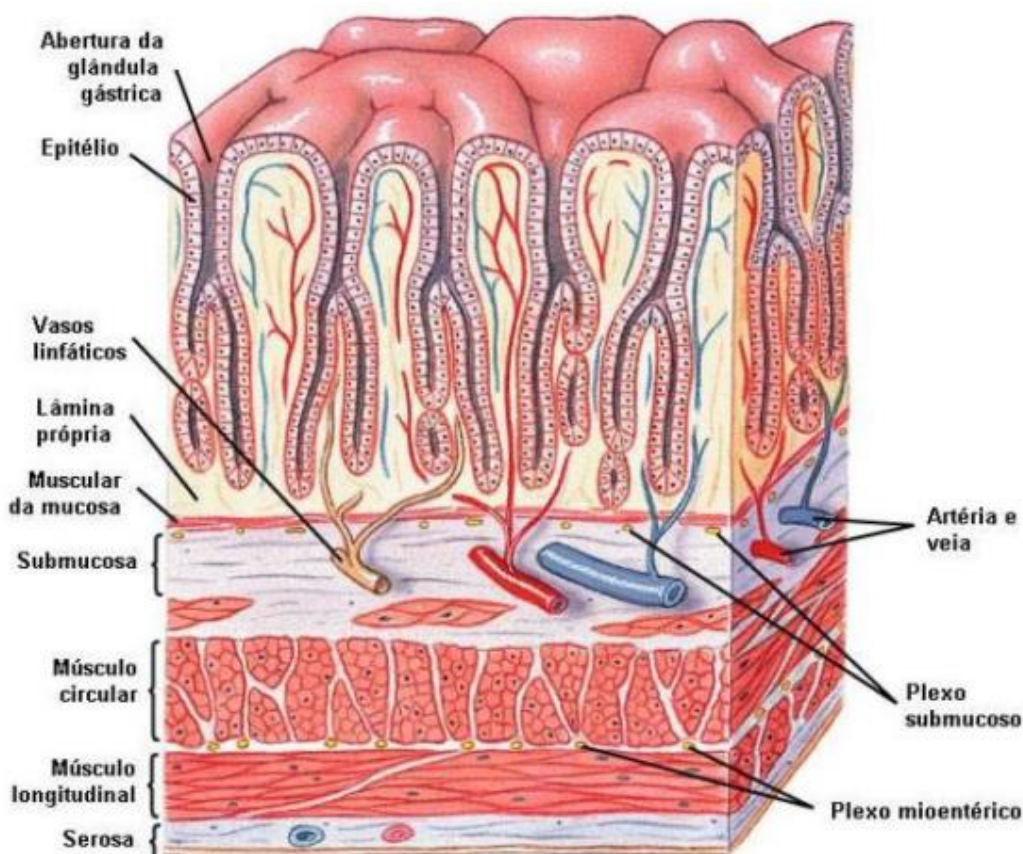


Figura 2. Camadas teciduais no estômago humano. Fonte: SILVERTHON, 2003.

A superfície da mucosa estomacal é recoberta por diferentes tipos celulares, entre elas células epiteliais colunares, as quais secretam o muco que protege o epitélio da lesão mecânica e do ácido gástrico. Funcionalmente, a mucosa do estômago pode ser dividida em três porções glandulares, de acordo com as glândulas presentes: região glandular cardíaca, oxíntica e pilórica (**Figura 3**). A porção glandular cardíaca está localizada logo abaixo do esfíncter esofágico inferior e contém células glandulares do tipo mucosa especializadas em secretar grande quantidade de muco alcalino com elevada viscosidade, formando uma barreira física protetora contra danos que podem ser provocados pela secreção ácida, além de favorecer o transporte

do alimento através da lubrificação. A porção glandular oxíntica compreende as células parietais secretoras de ácido clorídrico, abrangendo cerca de 80% do estômago (fundo e corpo), células principais (produtoras de pepsinogênio), células produtoras de somatostatina (células D) e células do tipo enterocromafins (ECL) que liberam histamina. A porção glandular pilórica abrange 20% da área total do estômago e apresenta os mesmos tipos celulares das glândulas oxínticas, exceto as células principais, e também possuem as células G produtoras de gastrina. (JAIN et al., 2007; SCHUBERT & PEURA, 2008).

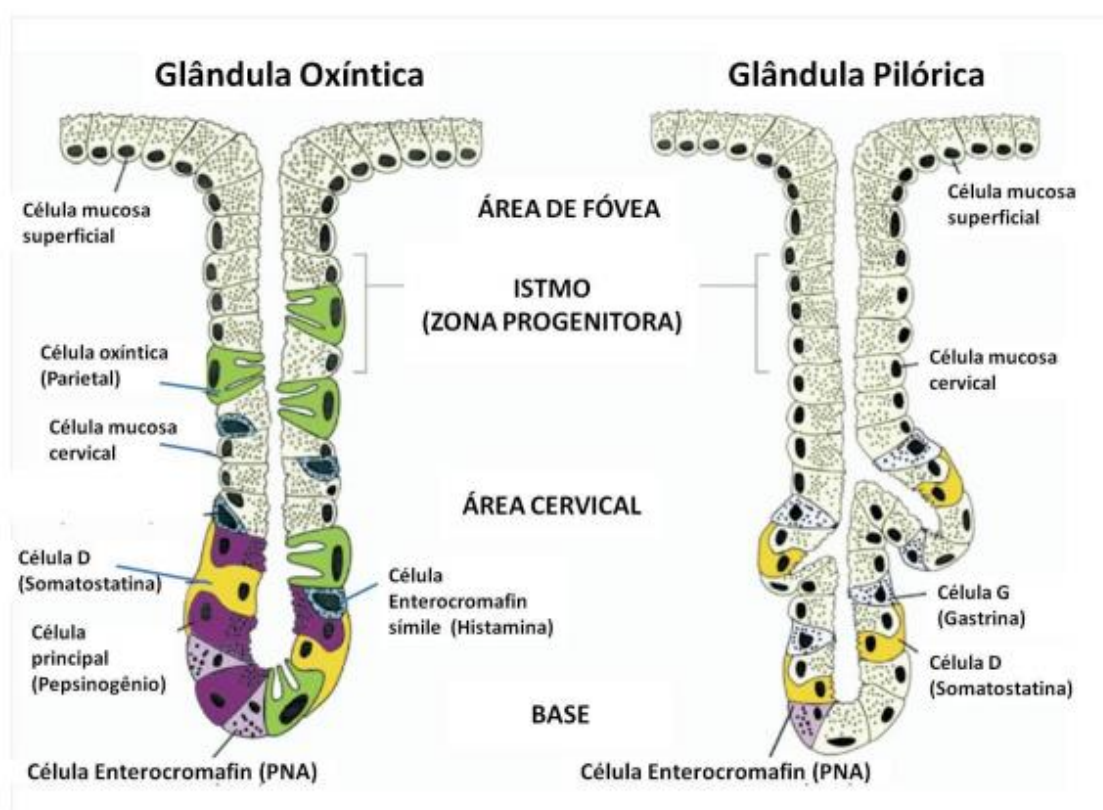


Figura 3. Anatomia funcional da mucosa gástrica humana. Fonte: Adaptado de Schubert e Peura 2008.

3.2 ÚLCERAS PÉPTICAS

A úlcera péptica, termo referido tanto para úlcera duodenal quanto para a úlcera gástrica, é uma lesão profunda na parede intestinal ou gástrica, que penetra através de toda a espessura da túnica mucosa, destruindo componentes do tecido epitelial, conjuntivo e muscular subjacente (**Figura 4**) (TARNAWSKI et al., 2013). Caracteriza-se por uma doença de evolução crônica e recorrente, que acomete geralmente indivíduos de ambos os sexos ou qualquer idade, porém a incidência de úlceras

gástricas parece ser ligeiramente maior em homens em relação às mulheres (1,3: 1), com faixa etária entre 50-70 anos, localizando-se mais comumente no antro (60%) e na junção do antro com o corpo, na pequena curvatura (25%). Além disso, as úlceras gástricas interferem diretamente na qualidade de vida dos indivíduos, seja em decorrência de seus sintomas, como a dor epigástrica, náusea, enjoo e sensação de saciedade precoce, ou em decorrência de suas complicações, como hemorragia digestiva alta, perfuração e obstrução piloro-duodenal (ABITBOL, 2012; ARAKAWA et al., 2012).

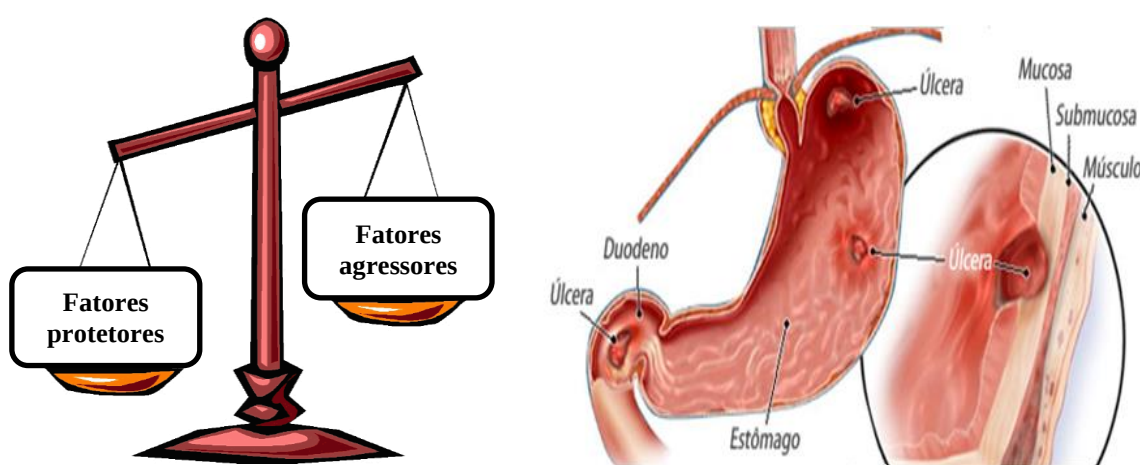


Figura 4. Fisiopatologia das úlceras pépticas. Fonte: Adaptado de www.drfernandovalerio.com.br/blog.

Sua fisiopatologia é considerada um processo multifatorial, que pode ser atribuída ao desequilíbrio entre fatores agressivos e as defesas locais da mucosa. Constantemente, a superfície da mucosa gástrica é exposta a estímulos lesivos como, suco gástrico, fármacos, toxinas bacterianas e álcool. Estes estímulos agressivos determinam o surgimento de lesões na mucosa e o aparecimento de doenças como, por exemplo, a úlcera gástrica. Inicialmente, acreditava-se que as lesões gástricas resultavam da ação da pepsina e do ácido clorídrico fisiologicamente presentes no estômago (WALLACE., 2001). Com a evolução dos estudos foi observado que, além dos fatores endógenos promoverem a agressão, essa patologia estava também associada a fatores exógenos como, ingestão contínua de etanol e AINEs, estresse, fumo, presença do agente infeccioso *Helicobacter pylori* e predisposição genética, os quais atuavam em conjunto reduzindo a defesa da mucosa gástrica (OKABE et al., 2012). Embora o tratamento das úlceras gástricas seja frequentemente conduzido

para a redução desses fatores agressivos, pode também ser dirigido para o fortalecimento das defesas da mucosa do estômago (JAIN et al., 2007)

3.3 FATORES PROTETORES DA MUCOSA GÁSTRICA

3.3.1 Muco e Bicarbonato

A barreira muco-bicarbonato é a primeira linha de defesa da mucosa gástrica, constituída por muco, bicarbonato e fosfolipídios surfactantes. Esses componentes do muco formam um gel viscoso que reveste toda a superfície da mucosa do estômago, retardando a difusão de íons e impedindo a lesão da mucosa por macromoléculas. O bicarbonato representa um dos mecanismos de defesa da mucosa contra os efeitos nocivos do ácido clorídrico, sendo responsável por manter um microambiente de pH neutro no epitélio gástrico, prevenindo a ação proteolítica da pepsina e impedindo a difusão do ácido gástrico. Já os fosfolipídios surfactantes possuem propriedades hidrofóbicas, as quais formam uma barreira contra a entrada de substâncias hidrofílicas. A participação da barreira muco-bicarbonato na defesa da mucosa gástrica já está bem caracterizada, e por isso agentes farmacológicos que estimulam a secreção de muco podem resultar em efeitos benéficos na profilaxia de úlceras pépticas (LAINE et al., 2008; TARNAWSKI et al., 2013).

3.3.2 Epitélio gástrico

O epitélio gástrico é uma das formas de proteção quando o estômago é exposto a altas concentrações de ácido. Este é frequentemente renovado, sendo as células “velhas” substituídas por células mais jovens, garantindo assim a manutenção da integridade da mucosa, bem como a secreção de fatores importantes para a estimulação e produção de muco. Essa renovação se deve pela migração rápida de células cicatrizantes aos locais lesionados na base da membrana desprotegida (JONES et al., 2010; SATO et al., 2014). Dessa maneira, os fatores de crescimento constituem o maior estímulo para a divisão, migração, proliferação celular e reepitelização das lesões gástricas, sendo responsáveis pela ativação da proliferação e migração celular epitelial. Sendo assim, a reepitelização é um processo essencial para mucosa, pois a barreira epitelial a protege continuamente contra danos mecânicos e químicos (LAINE et al., 2008).

3.3.3 Microcirculação

A microcirculação é essencial para o transporte de oxigênio e nutrientes para a mucosa gástrica e remoção de substâncias tóxicas (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI., 2008). Além de suprir a mucosa gástrica de oxigênio e nutrientes, a microcirculação também participa na regulação da saída do ácido, produção de muco e secreção de bicarbonato. Dessa forma, o fluxo sanguíneo contribui substancialmente para a manutenção fisiológica da integridade da mucosa, pois sua redução está envolvida na fisiopatologia das lesões da mucosa gástrica causadas por estresse e pela ingestão de etanol e AINEs (KAWANO et al., 2000).

3.3.4 Prostaglandinas

Quando a barreira muco-bicarbonato é danificada, outros mecanismos protetores devem ser ativados para efetuar a gastroproteção. As prostaglandinas (PGs) são sintetizadas a partir do ácido araquidônico por ação das enzimas ciclooxigenases (COXs) (GIERSE et al., 2008). As COXs possuem 3 isoformas, sendo duas delas presentes no estômago: COX-1, constitutiva, responsável pela liberação de prostaglandinas em condições fisiológicas, COX-2, induzível, que sintetiza prostaglandinas em processos de inflamação e cicatrização e a COX-3 encontra-se presente no córtex cerebral (WALLACE, 2008).

A prostaglandina E2 (PGE₂) e prostaciclina I2 (PGI₂) constituem as principais PGs sintetizadas pela mucosa gástrica. A contínua geração de PGE₂ e PGI₂ pela mucosa gástrica é crucial para a manutenção da integridade da mucosa e proteção contra agentes ulcerogênicos e necrotizantes (SZABO., 1991) Elas inibem a secreção de ácido clorídrico, estimulam a produção de muco e bicarbonato, fosfolípidios, aumentam o fluxo sanguíneo e aceleram a restituição epitelial e cicatrização da mucosa. Além disso, inibem a ativação de mastócitos e leucócitos, e a liberação de mediadores pró-inflamatórios (LAINE et al., 2008; TARNAWSKI et al., 2013).

3.3.5 Sistema antioxidante

A geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) ocorre durante o metabolismo celular normal e está relacionada com a patogênese de diversas doenças, incluindo as úlceras e a inflamação gastrointestinal (YOSHIDA et al., 1995; AGNIHOTRI et al.,

2007). O papel das ERO na patogênese das lesões gástricas experimentais agudas induzidas por estresse, ingestão de etanol e AINEs é bem conhecido, pois elas causam peroxidação lipídica nas membranas celulares ao atacar ácidos graxos insaturados. As ERO incluem radicais livres como as radicais hidroxilas (OH^-), superóxidos (O_2^-) e espécies de radicais não livres, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

A glutathiona reduzida (GSH) é um importante antioxidante do trato gastrointestinal, existente em praticamente todas as células de mamíferos, e desempenha um grande número de funções essenciais para a célula, tais como, a proteção contra os efeitos deletérios de radicais livres endógenos e metabólitos tóxicos (MEISTER., 1991; ROSS., 1988). Outras enzimas antioxidantes agem defendendo a célula contra ação dos EROS como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), mieloperoxidase (MPO) e malondialdeído (MDA) (HELLOU et al., 2012)

3.3.6 Óxido nítrico

Assim como as PGs, o óxido nítrico (NO) é um importante agente protetor relacionado na prevenção e reparo de injúrias ao trato gastrointestinal. O NO atua na manutenção da homeostase, na integridade da mucosa gástrica e barreira mucobicarbonato, além de exercer papel citoprotetor, antiinflamatório e como complemento aos efeitos protetores das prostaglandinas (MUSCARA & WALLACE, 1999). Whittle e colaboradores, também verificaram que o NO reduz efetivamente a injúria na mucosa gástrica provocada por agentes químicos, como o etanol, além de facilitar a cicatrização do tecido lesado (WHITTLE et al., 1995). Em 2001, Wallace propôs que o NO seria um importante mediador na defesa da mucosa gástrica, mas paradoxalmente, em várias situações, poderia contribuir para a lesão da mucosa. A presença de NO em baixas concentrações está associada aos efeitos benéficos no TGI, enquanto o NO em altas concentrações pode induzir a formação de radicais derivados do nitrogênio, que são tóxicos para várias linhagens celulares (WALLACE., 2001).

3.4 MODELOS DE LESÃO GÁSTRICA

Os modelos experimentais de indução de lesões gástricas agudas têm desempenhado um importante papel nas pesquisas que visam compreender a úlcera

péptica. Eles atuam por diferentes mecanismos ulcerogênicos e representam o primeiro passo para determinar os possíveis mecanismos de ação envolvidos na atividade gastroprotetora de determinadas substâncias (PEREIRA et al., 2017). A atividade gastroprotetora de uma substância desconhecida pode ser determinada em animais experimentais utilizando-se três modelos agudos: Indução de lesão gástrica por etanol, indução de lesão gástrica por etanol acidificado e indução de lesão gástrica por medicamentos antiinflamatórios não esteroidais (indometacina, naproxeno ou ácido acetil salicílico). Esses modelos são os mais utilizados como ferramentas de pesquisa porque representam os agentes etiológicos mais comuns envolvidos na patologia das lesões gástricas (EMIM et al., 1994).

3.4.1 Etanol e lesão gástrica

O etanol é um potente agente lesivo da mucosa gástrica por produzir lesões hemorrágicas erosivas. O aumento do consumo de álcool pela população mundial é relevante no quadro atual da etiologia de úlceras gástricas. Apesar da associação entre a ingestão excessiva de etanol e o risco de sangramento gástrico datar de 170 anos, os efeitos nocivos do etanol sobre o TGI superior têm sido sistematicamente estudados apenas nos últimos 15 anos (Rocco et al., 2014). Tanto o consumo agudo quanto o consumo crônico da substância podem interferir na funcionalidade do estômago através de múltiplos e complexos mecanismos, dependendo tanto do contato direto do etanol e de seu metabólito acetaldeído com a mucosa, quanto dos componentes não alcoólicos das bebidas, como produtos da fermentação (BODE & BODE, 1997; ROCCO et al., 2014).

Modelos experimentais com o etanol têm demonstrado o efeito ulcerogênico e necrosante quando o álcool entra em contato direto com a mucosa gástrica. Este agente lesivo é relatado por retardar a restituição epitelial e ocasionar danos ao citoesqueleto das células, fazendo com que as mesmas percam a sua função (MATSUHASHI et al., 2007). Sua atuação ocorre de maneira multifatorial e ao ser metabolizado pelo corpo, liberam radicais livres que danificam extensivamente a mucosa gástrica, promovendo erosão, esfoliação de células, aparecimento de petéquias hemorrágicas e ruptura da barreira de muco bicarbonato (OYAGI et al., 2010). Além disso, esses efeitos podem ser potencializados quando em modelos experimentais o etanol é associado ao ácido clorídrico, aumentando os danos lesivos devido à redução dos fatores protetores da mucosa (ALRASHDI et al., 2012).

A barreira da mucosa é a principal proteção do estômago contra o ácido gástrico e o etanol em altas concentrações aumenta a permeabilidade epitelial como consequência de mudanças no potencial celular, causando redifusão de íons H^+ (DAVENPORT., 1967; DAVENPORT., 1969). Além disso, também causam depleção dos grupos sulfídricos, os quais são necessários para a estabilização das membranas celulares, bem como na eliminação de radicais livres (ROCCO et al., 2014)

3.4.2 AINES e lesão gástrica

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), como a indometacina, correspondem aos medicamentos farmacológicos mais utilizados na prática clínica, devido ao seu amplo espectro de indicações terapêuticas, (KUMMER; COELHO, 2002). No entanto, o uso não controlado destas drogas tem propiciado o surgimento de diversos efeitos colaterais, como desenvolvimento de lesões ulcerogênicas (YILDIRIM et al., 2015).

Os AINEs causam dissipação do gel mucoso e da camada de fosfolípidios, causando a lesão na mucosa, além de diminuir os níveis de prostaglandinas (PG) devido à inibição da ciclooxigenase (COXs) (LAINE et al., 2008). Grande parte dos AINEs bloqueia a via COX, mas mantém a via das lipoxigenases (LOX) ativa, causando o aumento nos níveis de leucotrienos B₄ e E₄ que estão envolvidos na formação de lesões gástricas (BIAS et al., 2004). Em humanos, os AINEs estão diretamente relacionados com o surgimento de úlceras hemorrágicas, devido à inibição dos efeitos vasoconstritores e de agregação plaquetária dos tromboxanos A₂ (TOMLINSON & BLIKSLAGER, 2003). O mecanismo de formação de lesões ulcerativas pelas AINEs envolve inibição da fosforilação oxidativa mitocondrial nas células produtoras de muco, alterando suas características hidrofóbicas. Para reduzir os efeitos colaterais dessas drogas, pesquisadores desenvolveram moléculas sintéticas que inibem especificamente COX-2, conhecidos como COXIBs (celecoxib, deracoxib, etoricoxib, lumiracoxib, parecoxib, rofecoxib e valdecoxib). Entretanto, o uso destas drogas pode aumentar o risco de doença cardiovascular trombótica pela redução de PGI₂, que é sintetizada pela COX-2 (MUKHERJEE, 2002). Diante disso, ainda é necessário à busca por novas substâncias que apresentem efeitos adversos reduzidos.

3.5 TRATAMENTOS DAS ÚLCERAS PÉPTIDICAS

Inicialmente as medidas terapêuticas para solucionar os sintomas das úlceras gástricas foram durante muito tempo a utilização de antiácidos e dieta alimentar para neutralização do suco gástrico. A partir do início dos anos 70 esse cenário foi modificado através da utilização de antagonistas seletivos dos receptores de histamina como cimetidina e a ranitidina (BLACK et al., 1971; BHATNAGAR & SISODIA, 2006). Algum tempo depois, foram desenvolvidas drogas citoprotetoras, como o misoprasol, análogas da prostaglantinas responsáveis pela inibição da secreção ácida e estimulação da secreção de muco e bicarbonato. (HAWKEY, 2001).

Mais recentemente, outra classe de fármacos gastroprotetores foi introduzida, os chamados inibidores da bomba protônica ou H^+ , K^+ ATPase, responsável pela secreção ácida gástrica. A substância padrão dessa classe de fármacos é o omeprazol, sendo este capaz de inibir a secreção ácida por inativação da bomba H^+ , K^+ ATPase através da formação de ligações dissulfeto entre as moléculas reagentes do omeprazol com a H^+ , K^+ ATPase (OLBE et al., 2003). Estes agentes anti-secretórios representam uma das melhores opções na terapia contra os sintomas dispépticos, entretanto seu uso prolongado tem sido associado à incidência de fraturas e câncer. Assim, o tratamento atual se limitou ao uso inibidores da bomba protônica e o combate da bactéria *Helicobacter pylori*, sendo necessário um período de 2 a 4 semanas para se observar a melhora das lesões. Ainda não existe uma droga 100% efetiva para o tratamento das lesões gastroduodenais (GISBERT, 2005; LEEDHAM et al., 2007)

Embora com todo avanço na terapia farmacológica gástrica, a úlcera péptica, em muitos casos, tende para recidiva (ARAKAWA et al., 2012; KANGWAN et al. 2014), o que pode indicar certa limitação na eficácia dos medicamentos anti-úlceras atualmente disponíveis. Além disso, é crescente a preocupação com os efeitos adversos decorrentes do uso em longo prazo dos tratamentos clássicos (GARCIA-RODRIGUEZ e RUIGOMEZ, 2007), que incluem o desenvolvimento de pólipos gástricos, infecções entéricas e osteoporose (CHUBINEH & BIRK, 2012). Sendo assim, o desenvolvimento de novos fármacos a partir de compostos naturais com atividade antiulcerogênica pode propiciar uma alternativa não tóxica ao combate das úlceras gástricas e o seu processo de reparação (KANGWAN et al., 2014).

3.6 LECTINAS

O primeiro relato sobre as lectinas ocorreu em 1888, quando Stillmark observou a capacidade de extrato protéico obtido de sementes de mamona (*Ricinus communis*) de aglutinar eritrócitos humanos e a denominou de ricina. (KENNEDY et al., 1995). Essas proteínas purificadas de plantas com atividade hemaglutinante foram inicialmente denominadas de aglutininas de plantas, fitohemaglutininas, hemaglutininas ou fitoaglutininas (SHARON; LIS 2004). Entretanto, o estudo sobre essas proteínas só começou a ganhar evidência 1960 quando as lectinas de plantas começaram a ser estudadas de forma mais detalhada, tornando-se potentes ferramentas para biologia e medicina (SHARON, 2008).

Essas proteínas possuem ampla distribuição na natureza nos animais, plantas e microorganismos, e são constituintes principalmente das sementes de leguminosas (SOL; CAVADA; CALVETE, 2007; NUNES et al., 2012), chegando a representar até 10 % da proteína total (SHARON; LIS, 1990). O termo lectina (originado no latim *lectus*, que significa escolhido, selecionado) foi primeiro empregado por Boyd & Shapleigh em 1954, para designar um grupo de proteínas que apresentava a característica comum de seletividade na interação com carboidratos (PEUMANS; VAN DAMME, 1998; PEUMANS et al., 2001). As lectinas são proteínas de origem não imunológica que se ligam reversivelmente e especificamente a carboidratos presentes em superfícies celulares, sem causar modificação bioquímica dos carboidratos aos quais se ligam (SIMONE et al., 2006; SUN et al., 2007; DA SILVA & CORREIA, 2014).

Os sítios de ligação a carboidratos, presentes na molécula de lectina, interagem com o carboidrato específico através do mecanismo do tipo chave-fechadura, envolvendo pontes de hidrogênio, ligação metálica, interações de Van der Waals e interações hidrofóbicas (KENNEDY et al., 1995). Essa interação ocorre através de sítios de ligação presentes na estrutura dos carboidratos, denominados de Domínio de Reconhecimento a Carboidrato (CDR). (SHARON & LIS, 1990; KENNEDY et al., 1995; NISHIMURA et al., 2006). Esse reconhecimento resulta na capacidade das lectinas de aglutinar seletivamente eritrócitos (**Figura 5**), o que as distingue de outras macromoléculas ligantes de açúcares como as glicosidades e glicotransferases. (GOLDSTEIN et al., 1980; ELIFIO et al., 2000).

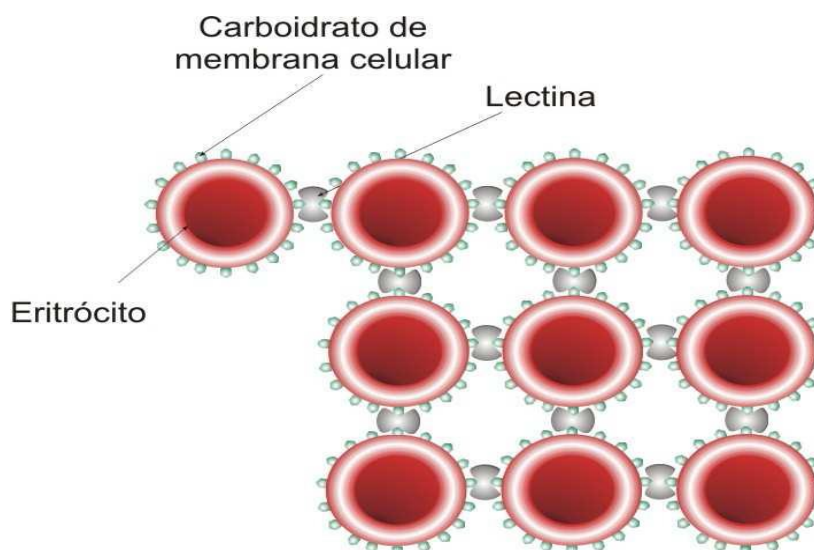


Figura 5. Rede de hemaglutinação mediada por lectinas. **Fonte:** Pimentel, J. C.

Além disso, também possibilita essas proteínas a desempenharem outros eventos celulares importantes como reconhecimento célula-célula, interações com a matrix extracelular, desenvolvimento embrionário, crescimento celular, diferenciação celular, sinalização celular, adesão e migração celular, apoptose, imunomodulação, inflamação, interação parasita-hospedeiro, enovelamento e direcionamento de glicoproteína, indução mitogênica e homeostase (MODY et al., 1995; GORELIK et al., 2001; MINKO, 2004; NIMRICHTER et al., 2004; SHARON & LIS, 2004; GHAZARIAN et al., 2011).

3.6.1 Lectinas e o trato gastrointestinal

O poder das lectinas vegetais sobre o trato gastrointestinal já é comprovado na utilização como suplementação em dietas elementares. Algumas variedades, como PHA (*Phaseolus vulgaris*) e ConA (Concanavalina A), aumentam a proliferação celular intestinal e previnem a atrofia intestinal em animais alimentados com nutrição parenteral total ou por dieta elementar (BANWELL et al., 1993, JORDINSON et al., 1993). Demonstrou-se também que a suplementação de lectinas em baixas doses confere proteção ao trato gastrointestinal devido sua capacidade de ligação específica a carboidratos, podendo assim ser utilizada no tratamento de lesões intestinais induzidas por indometacina e na terapia da doença inflamatória intestinal (Yasuoka et al., 2003). Além disso, a interação específica das lectinas com os glicopeptídeos de mucina promoveram a gastroproteção através de alterações nas propriedades e

estruturas do muco, conferindo maior proteção ao epitélio gástrico e a defesa contra *H pylori* (HANISCH et al., 2014).

Alguns trabalhos relatam especificamente o poder gastroprotetor de algumas lectinas diante de modelos agudos de úlceras gástricas. A lectina frutalina de *Artocarpus incisa*, populamente conhecida como fruta pão, proporcionou uma redução significativa nas lesões gástricas produzidas por etanol e indometacina, mediada pela estimulação das prostaglandinas endógenas e óxido nítrico (ABDON et al., 2012). Outra lectina extraída de *Abelmoschus esculentus*, populamente conhecida como quiabo, exerceu atividade gastroprotetora em lesões gástricas por etanol absoluto, mediada pela ativação de receptores alfa-2 adrenérgicos e opióides (RIBEIRO et al., 2016). Demais estudos também relacionam *A. esculentus* com a inibição de úlceras gástricas induzidas por etanol e indometacina, no qual a mucilagem de sementes do quiabo exerceu efeito gastroprotetor e proporcionou o aumento da secreção de muco (SILVA et al., 2012). A descoberta mais recente de uma lectina gastroprotetora, foi da lectina de leguminosa *Phaseolus lunatus* mais conhecida como feijão-de-lima (LACERDA et al. 2017).

3.6.2 Lectina de *Cratylia mollis* (pCramoll)

Cratylia mollis é uma planta arbustiva, tolerante à seca e a solos ácidos, endêmica da Região Semi-Árida do sertão do Estado de Pernambuco e popularmente conhecida como feijão camaratuba ou camaratú (**Figura 6**) (ARAÚJO et al., 201; LIMA-RIBEIRO et al., 2012). Esta planta pertence à pertencente à família Phaseoleae, subfamília Dioclineae, que compreende 13 gêneros, dos quais se destacam os gêneros: *Canavalia*, *Cratylia*, *Calopogonium*, *Dioclea*, *Galactia* e *Herpyza* (POLHILL et al., 1981).

Das sementes de *C. mollis* são purificadas quatro isoformas de lectinas com múltiplas formas moleculares e especificidades diferentes para carboidratos: Cramoll 1, Cramoll 2, Cramoll 3, Cramoll 4. O termo isoforma é utilizado para designar múltiplas formas de lectinas presentes na mesma espécie (PAIVA; COELHO, 1992). A pCramoll (Cramoll 1,4) é uma preparação contendo as isoformas Cramoll 1 e Cramoll 4 e apresenta especificidade glicose/manose (CORREIA; COELHO, 1995), a mesma especificidade observada para Cramoll 1, Cramoll 2 e Cramoll 4, enquanto Cramoll 3 é uma glicoproteína galactose específica (PAIVA; COELHO, 1992)



Figura 6. Sementes (A), árvore (B) e flores (C) de *Cratylia mollis*. **Fonte:** FIGUEIRÔA, E. O. (2015)

O potencial terapêutico das lectinas de *C. mollis*, em especial para pCramoll, tem sido amplamente estudado (NASCIMENTO DA SILVA et al., 2014). Estudos descrevem sua proximidade taxonômica com a lectina comercial ConA, isolada de *Canavalia ensiformis*, apresentando 82% de homologia em sequência de aminoácidos e mesma especificidade monossacarídica (**Figura 7**) (SOUZA et al., 2003). Lima et al., 2010, descreveram a pCramoll como um potencial biomarcador diferencial de câncer de próstata, mostrando-se com um padrão de coloração mais intenso quando comparado com o grupo utilizando ConA. Ambas lectinas exibiram uma diminuição da intensidade de marcação com o aumento da malignidade, entretanto pCramoll apresentou um valor diagnóstico melhor quando comparada a lectina comercial (LIMA et al., 2010).

pCramoll apresenta diversas atividades biológicas, destacando-se sua utilização na caracterização de tecidos humanos, apresentando uma maior marcação dos tecidos neoplásicos em relação aos saudáveis, e mais eficiente do que a ConA, lectina comercial reconhecida com ação antitumoral (BELTRÃO et al., 1998). Também foi visto seu perfil de glicosilação diferencial em tecidos normais, hiperplásicos e de

carcinoma de prostático, apresentando um padrão de coloração mais intenso no tecido hiperplásico quando comparado ao tecido normal (LIMA et al., 2010). A ação anticâncer das lectinas também foi comprovada quando encapsuladas, onde pCramoll apresentou aumento na atividade antitumoral e diminuição dos efeitos hepatotóxicos (ANDRADE et al., 2004). Esses resultados também foram confirmados quando utilizado a lectina recombinante de pCramoll, a rCramoll (CUNHA et al., 2017).

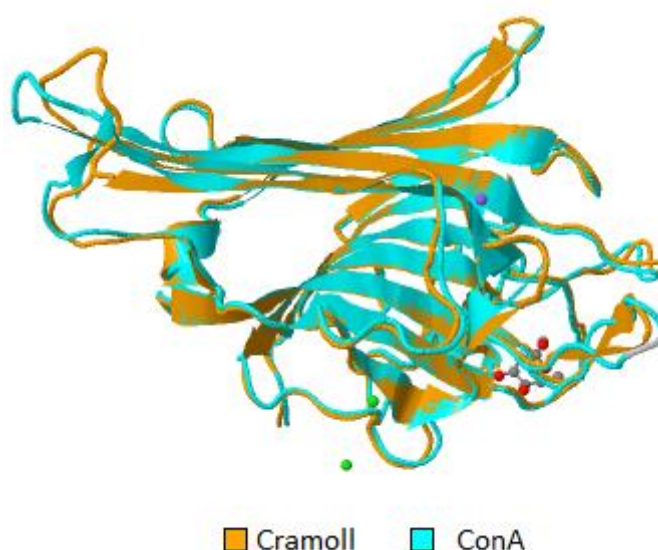


Figura 7: Alinhamento estrutural de Cramoll isoforma 1 e Concanavalina A.

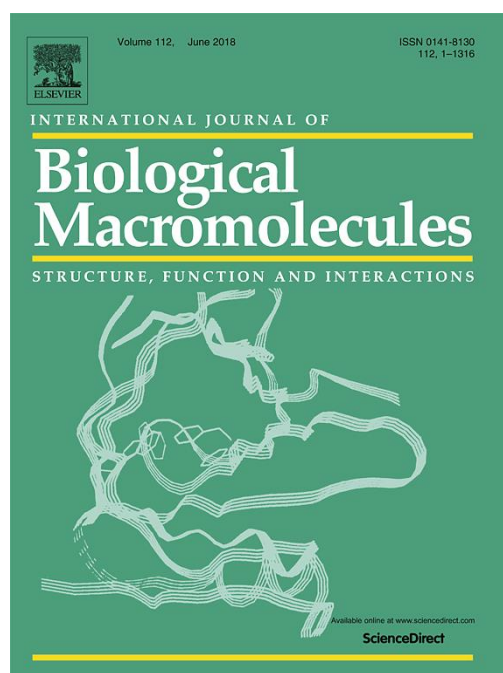
Estudos também comprovam o efeito cicatrizante de pCramoll no tratamento de lesões cutâneas experimentais em camundongos normais e imunocomprometidos, promovendo o fechamento e reparo das feridas quando comparado com o grupo controle (MELO et al., 2011c). Além disso, quando associada a um hidrogel para tratamento regular de queimaduras de segundo grau, pCramoll acelerou a granulação, o processo de reepitelização e retração da ferida (LIMA-RIBEIRO et al., 2012), mostrando que o potencial terapêutico da lectina, que pode ser utilizado associado a outros bioprodutos (PEREIRA, 2012).

Dentre outras atividades relacionadas à pCramoll, estudos anteriores indicaram o seu perfil imunomodulador através da indução mitogênica de linfócitos T e da ativação de macrófagos peritoneais (DE MELO et al., 2011a ; DA SILVIA et al., 2015). pCramoll apresentou-se mais eficiente que outras lectinas, como a ConA, induzindo respostas Th1, Th2 e Th 17, produção de citocinas e de óxido nítrico (DA SILVIA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2013). Pode-se destacar também sua ação antiparasitária

contra *Trypanosoma cruzi* e *Schistosoma mansoni* (FERNANDES et al., 2010), sua utilização como biosensores de identificação de diferentes sorotipos da dengue, com alta sensibilidade e seletividade, (OLIVEIRA et al., 2011) e a sua atuação como matriz de afinidade para isolamento de proteínas (DA SILVA, et al., 2014).

Dessa forma, as lectinas de *C. mollis* apresentam diversas atividades biológicas podendo ser utilizadas como fonte para diversas aplicações biomédicas. Este estudo buscou avaliar a atividade gastroprotetora de pCramoll frente a modelos de úlceras agudas em camundongos, para sua utilização como nova conduta terapêutica.

4 ARTIGO I

**EVALUATION OF THE GASTROPROTECTIVE ACTIVITY OF PCRAMOLL IN ACUTE
ULCER MODELS OF MICE**

O artigo será submetido a revista: International Journal of Biological Macromolecules

EVALUATION OF THE GASTROPROTECTIVE ACTIVITY OF PCRAMOLL IN ACUTE ULCER MODELS OF MICE

Fernanda P. A. Neves^a; Fernanda M. de Andrade^a; Samara A. Brito^b; Jannyson J. B. Jandu^a; Luana C. B. B. Coelho^a; Álvaro A. C. Teixeira^c; Maria G. Carneiro-da-Cunha^d; Almir G. Wanderley^{b, e}; Maria T. S. Correia^a.

^aDepartment of Biochemistry, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil.

^bDepartment of Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal do Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil

^c Department of Morphology and Animal Physiology, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900 Recife, PE, Brazil.

^dImmunopathology Laboratory Keizo Asami, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901 Recife, PE, Brazil

^eDepartment of Physiology and Pharmacology, Universidade Federal do Pernambuco, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

* e-mail: fernanda.pacifico05@gmail.com

Abstract

Lectins are proteins of non-immunological origin, present in all living beings, particularly in legumes seeds, that bind specifically and reversibly to carbohydrates. pCramoll (pCra) is a lectin isolated from the seeds of *Cratylia mollis*, an endemic species of the semi-arid region of the northeast of Brazil that has several pharmacological activities being described, such as: immunomodulatory, antiparasitic, healing and biotechnological. In this study, we investigated the antiulcer activity of pCra on acute models of gastric ulcers: acidified ethanol, absolute ethanol and indomethacin. Albino swiss mice were pretreated with either pCra (50, 100 and 200 µg / kg), negative control (NaCl solution, 0.9%) or positive control (lansoprazole, 30 mg / kg or ranitidine 6 mg / kg) before ulcerogenesis. The gastroprotection mediated by pCra was assessed through its ability to prevent or reduce the gastric lesion area produced. pCra presented gastroprotective activity at all concentrations tested, for all experimental models of acute gastric ulcers. While pCra (50, 100, and 200 mg / kg) reduced the area of ulcerative lesions induced by absolute ethanol in 90.36, 88.22 and 90.64% respectively, the acidified ethanol-induced gastric ulcer lesions were reduced in 94.90, 83.49, 91.41 e 84.33 % respectively. Additionally, in the NSAID ulcerative model, pCra prevented gastric lesions in 35.26, 32.10 e 47.89%, respectively. The gastroprotective power of pCra was confirmed by histopathological analysis, in which the animals showed a well defined mucosa and absence of inflammatory signs. Our data suggests that pCra is a promising therapeutic agent for the development of new drugs and treatment of acute gastric ulcers.

Keywords: *Cratylia mollis*; Lectins; pCramoll; Gastroprotection; Acute ulcers

1 Introduction

Peptic ulcer disease is a disorder of the gastrointestinal tract produced by the imbalance between the protective and damaging factors of the gastric mucosa. It is characterized by a deep lesion of the mucosa that extends beyond the limits of the muscular layer extending to the submucosa. Gastrointestinal ulcers represent a public health problem due to its clinical complications, the high risk of relapses and the marked prevalence in the population, becoming the focus of experimental investigations^{1, 2, 3}.

Among the factors that induce the appearance of gastric ulcers, we can mention the prolonged consumption of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), infection with *Helicobacter pylori* bacterium and increased consumption of alcoholic beverages, which cause lesions in a gradual manner in the mucosa until ulcer formation^{4,5}. NSAIDs are among the most widely prescribed medications in the world and are responsible for side effects that particularly affect the gastrointestinal tract, such as development of hypergastrinemia, increased risk of bacterial H. pylori infection, and in more severe cases may even lead to gastric cancer formation^{6, 7, 8}.

Currently, when considering the existing therapeutic options, conventional drugs, despite promoting the neutralization of gastric acid and the reduction of stomach acid secretion, do not allow the increase of endogenous gastroprotection factors, thus making it difficult to heal existing lesions in the gastric mucosa. The realization of experiments that investigate more deeply the possible forms of treatment of this disease, may thus allow a better knowledge of the alternatives of repair of the lesions¹. In this way, it is sought in the natural non-toxic compounds to find new therapeutic substances that aim at the tissue neoformation with stimulating properties of repair, for the production of natural products without side effects and of low cost ⁹.

Lectins are proteins of non-immune origin distributed in plants, animals, and microorganisms that have the ability to bind reversibly and specifically to carbohydrates, and in large part, agglutinate cells^{10, 11, 12}. *Cratylia mollis*, popularly known as Camaratu or Camaratuba beans, is a semi-arid species from northeastern Brazil (LIMA-RIBEIRO et al., 2012) and their seeds have been purified and characterized multiple forms of lectins: Cramoll 1, Cramoll 2, Cramoll 3 and Cramoll 4. A preparation containing the associated forms 1 and 4 is termed pCramoll (Cramoll 1,4) exhibits glucose / mannose binding specificity ¹³, the same observed for Cramoll 1, Cramoll 2 and Cramoll 4, while Cramoll 3 is a glycoprotein, specific for galactose ¹⁴.

The biotechnological potential of pCramoll has been demonstrated in several studies, both in the therapeutic and in the diagnostic ¹⁵. Among its biological activities we can highlight its antitumoral action ¹⁶, its role as an immunomodulator and producer of nitric oxide¹⁷, antiparasitic¹⁸ and cicatrizant agent^{19,20,21}. Biotechnological applications also involve its use in the characterization of human cancerous tissues ²², in affinity matrix for protein purification ²³ and the development of a sensor for the detection of serotypes of dengue virus ²⁴.

In view of the numerous biological activities reported for pCramoll, this study aimed to evaluate the gastroprotective potential of this lectin in acute ulcer models in Swiss albino mice, in order to constitute a new therapeutic approach.

2 Materials and methods

2.1 Extraction of the lectin from *Cratylia mollis* seeds

pCramoll was purified according to a previously established protocol ¹³. The seeds were dried at 25 ° C and crushed to obtain a flour, which was dissolved in 0.15 M NaCl 10% (w/v), under magnetic stirring (500 rpm) for 18h, at 4 °C. The obtained saline extract was fractionated with ammonium sulfate (0-40% and 40-60%). The precipitate obtained from the 40-60% fraction was dialysed and purified by affinity chromatography on Sephadex G-75 column. pCramoll was bioselectively diluted with 0.3 M D-glucose solution in 0.15 M NaCl, dialysed and lyophilized.

2.2 Animals

Albino swiss mice (20-35g) two months old, obtained from the Immunopathology Laboratory Keizo Asami of the Federal University of Pernambuco of Pernambuco were used in the experiments. The animals were maintained under standard environmental conditions (12-h dark/light cycle) and temperature (22 ± 2°C). Water and industrialized dry food (Presence, Purina, Brazil) were provided *ad libitum*. The animals were maintained in cages with raised wide mesh floors to prevent coprophagy. In all protocols, the animals were euthanized in a CO₂ chamber (by inhalation). The experimental protocols were approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the Federal University of Pernambuco (number 23076.040488/2015-14).

2.3 Evaluation of acute toxicity of pCramoll in mice

The acute toxicity of pCra was performed with swiss female mice as described by OECD n. 423, defined by the number of occurrences of deaths, with slight modifications ²⁵. Briefly, the animals were randomly divided into two groups (n = 3). The control group received 0.9% NaCl solution (10 mL/kg) and the treated group received a single dose of 2 mg/kg of pCra by oral route. The occurrence of death and behavior parameters, signs and symptoms were observed for 30, 60, 120, 180 and 240 minutes after oral administration as well as daily for 14 days. Food, water consumption and body weight were registered for 14 days. At the end of this period the number of survivors was recorded to determine the the average lethal dose LD50.

2.4 Antiulcerogenic Activity of pCra: HCl/Etanol-Induced Ulcer

After 16 hours of fasting, the mice (n = 7/group) were divided into five groups according to the treatment they received before ulcer induction: pCra (50, 100 and 200 µg / kg), negative control (NaCl 0,9 %) and positive control (lansoprazole, 30 mg / kg). All pretreatments were given orally (by gavage). Following 50 min of the pretreatments, all the animals received 0.3 M HCl/ethanol 60% solution (0,2 mL) orally to induce acute gastric lesions. The animals were killed with CO₂ gas 1 h after the induction of gastric lesions. The stomachs were removed and opened along the greater curvature line and fixed between two glass plates. The stomachs were photographed and the lesions were measured by Image J software (Bethesda, MD, USA) and ulcerative lesion index (ULI) was calculated ²⁶.

2.5 Antiulcerogenic Activity of pCra: Etanol-Induced Ulcer

After 16 h of fasting, the mice (n = 10 / group) were pretreated orally with 0.9% NaCl solution (negative control group), lansoprazole (30 mg / kg) or pCra (50, 100 and 200 µg / kg, v.o). After 60 mins, all groups were administered 2 mL mL / kg of absolute ethanol (99.8%) by oral route to induce gastric ulcer. After 1h, the animals were euthanized, the stomachs were photographed and the lesions were measured, the ulcerative lesion index (ULI) was calculated by Image J software. Further, the stomachs were stored for histological preparation. The rest of the animals were sacrificed after 6 h of ulcer induction to determine the cytokines ²⁷.

2.5.1 Histopathological Examination of Gastric Mucosa

Samples of the gastric mucosa were preserved in 10% buffered formaldehyde for a maximum period of 48 h and replaced with a 70% (v / v) ethanol solution. Each histological piece was dehydrated in an increasing alcohol concentrations series, diaphanized in Xylol, paraffin embedded and cut in microtome. The 4 μ m sections were obtained in a microtome and subject to staining techniques by hematoxylin eosin (HE) ²⁸.

2.5.2 Dosing of cytokines

The animal gastric tissue, 100 mg or 50 mg, was homogenized with 1 ml or 0.5 ml vessel containing cell lysing solution and anti-proteases (0.1 mM PMSF, 0.1 mM benzethonium chloride, EDTA 10 mM, 20 kallikrein inhibitors of aprotinin A, all purchased from Sigma-Aldrich and 0.05% Tween 20). The samples were centrifuged for 10 min at 3000 x g at 4°C and the supernatant was frozen at -20°C for cytokine analysis. Levels of IL-1 β and IL-6 were determined by commercial antibody kits according to the manufacturer's instructions (BSystems R &, Minneapolis, MN, USA).

2.6 Antiulcerogenic Activity: NSAID -Induced Ulcer

After 18 h of fasting, the animals (n = 7 / group), were orally pretreated with 0.9% NaCl solution (injured control), ranitidine 60 mg / kg (an H₂- antihistamine), or pCra (50, 100, and 200 μ g / kg). After 50 minutes after the pretreatment, indomethacin (30 mg / kg) was administered subcutaneously to induces gastric lesions. Six hours after the administration of indomethacin, the animals were euthanized, and the stomachs were removed for the determination of gastric lesions, the mucosa carefully washed with 0.9% NaCl solution and fixed in glass plate for better visualization. The stomachs were photographed to determine the ulcerative lesion index in the magnifying glass ²⁹.

2.7 Statistical analysis

Values are expressed as mean $\pm$ standard deviation (SD). Statistical significance between groups was determined using a one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's tests, with indicating significance. All statistical analyzes were performed using GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, USA). The level of significance for rejection of the null hypothesis was set at 5% (p < 0.05).

3 Results and discussion

3.1 Extraction of pCramoll

The purification process of the lectin pCramoll was efficient, since it presented the same profile reported by Correia and Coelho (1995).

3.2 Acute toxicity

The administration of pCra (2 mg/kg) showed no evidence of toxicity or death in the female mice. The LD₅₀ for pCra was greater than 2 mg/kg. With respect to food, water consumption, and weight gain, it was found that the extract did not cause significant changes during the 14 days after administration, as shown in **Figure 1**. Macroscopic analysis of the stomachs of the animals treated with pCra did not show significant differences in weight, color, or texture compared to the control group (data not shown). These parameters are important pathophysiological indicators that could be affected by metabolic reactions caused by toxic substances ³⁰. These data show that pCra does not exert any acute toxic effect.

Regarding safety of the use of lectins in acute toxicity tests, Lacerda et al 2017, conducted an gastroprotect study with lectin of bean in mices and did not find deleterious signs or mortality of mices even at high doses administration of lectins (2000 mg/kg).

3.3 Gastroprotective activity of pCramoll in acute gastric ulcer models in mice

3.3.1 Antiulcerogenic Activity: HCl/ Etanol-Induced Ulcer

The the HCl/ethanol model is considered a pharmacological screening test to evaluate the gastroprotective effect of a substance. Hydrochloric acid is responsible for causing serious damage to the gastric mucosa, aggravating the lesions produced by ethanol, due to the reduction of mucus protective factors and bicarbonate secretion

^{31, 32}

The results for this model demonstrated that oral administration of the pCra (50, 100, and 200 µg / kg) and lansoprazole (30 mg / kg) significantly inhibited acidified ethanol-induced gastric lesions by 94.90; 83.49; 91.41 and 84.33%, respectively in comparison to the control group (**Figure 2 and 3**). pCra at 50 µg / kg was the most effective dose for protection of the gastric mucosa. This is the first report of the

antiulcerogenic potential of the lectins for the acidified ethanol model and the first pCra study for acute gastric models.

3.3.2 Antiulcerogenic Activity: Etanol-Induced Ulcer

Absolute ethanol produces necrotic lesions in the gastric mucosa, capable of retarding epithelial restitution and causing damage to the cytoskeleton⁵. In the ethanol-induced gastric ulcer model, that oral pretreatment with pCra (50, 100, and 200 µg / kg) and lansoprazole (30 mg / kg) induced significantly inhibition significantly inhibition gastric lesions by 93.12; 90.36; 88.22 and 90.64 %, respectively, in compared to the injured control (**Figure 4 and 5**). pCra at 50 µg / kg was the most effective dose for protection of the gastric mucosa.

The gastroprotective effect of other lectins has previously reported for the absolute ethanol model, but this effect was only observed in contractions higher than those used in the present study^{33, 34}. For instance, Lacerda et al, 2017 reported the gastroprotective effect of the *Phaseolus lunatu* (green bean) lectin, which belongs to the same pCra family, against absolute ethanol injury when it was given at of 1mg / kg. Concentrations below 0.1 mg / kg did not promoted gastroprotection, contrasting with our results found for pCra which provided such gastro such gastroprotection (90.36%), even at lower concentrations³⁵.

3.3.2.1 Histopathology

The histological analysis of the animals submitted to absolute ethanol ulcerogenesis revealed that the negative control group presents a gastric mucosa with invaginations towards own sheet, giving origin to the gastric pits and containing the muscular glands supported in the mucosa. In the submucosa, a large amount of leucocytes, suggesting persistence of inflammatory process. Externally we find the muscular layer (**Figure 6A and 6B**). In animals that received only lansoprazole, the mucosal layer was poorly developed, submucosal without leukocytes beyond the muscular layer (Figure 6C). In animals receiving treatment with Cramoll concentrations, the mucosa presented well developed, with the well defined gastric pits, containing the glands, which are supported on the muscle of the mucosa. In the submucosa also no leukocytes were observed and externally we found the muscular layer (**Figure 6D, 6E and 6F**).

Gastric mucosa exposed to ulcerogenic necrotizing agents such as alcohol or

to ischemia develops histopathological characteristics and ultrastructural and functional alterations, which result in injuries ³⁶. These data are relevant histologically, since they confirmed the gastroprotective effect of pCra, presenting cytoprotective action of all doses (50, 100, and 200 µg / kg), against the corrosive effects of absolute ethanol, preventing damage to the mucosa and preserving the epithelium when compared to the negative control. Abdon et al 2014, conducted an histological study and proved the gastroprotective action of lectins. However, the study lectin (frutalin) only provided such an effect in a dose twenty times greater (0,5 mg / kg) used by pCra ³⁷.

3.3.2.2 Dosing of cytokines

Higher levels of IL-6 were observed in the pCra 50 and 100 groups, and lansoprasole (70.25 ± 28,48 pg / mL; 84.51 ± 36.25 pg / mL and 142.441 ± 17.44 pg / mL, respectively), when compared to the negative control group (25.93 ± 14.08 pg / mL) (**Figure 7A**). However, for interleukin IL-1β levels, only the pCramoll 50 µg / kg group had higher levels (761.778 ± 262.2 pg / mL) when compared to the negative control group (374.833 ± 19.51 pg / mL) (**Figure 7B**) (p < 0.05).

3.3.3 Antiulcerogenic Activity: NSAID-Induced Ulcer

Gastric ulcer induction by NSAIDs (indomethacin) occurs through the inhibition of cyclooxygenases, causing the inhibition of the synthesis of prostaglandins, whose physiological function is to stimulate mucus secretion and inhibit acid secretion³⁸. Thus, the decrease in prostaglandin synthesis by NSAIDs leads to lesions of the gastric mucosa.

According to the results obtained in this model, it was observed that pCra (50, 100 and 200 µg / kg) and ranitidine (60 mg / kg) significantly reduced the lesion área by 44.37; 35.26; 32.10 e 47.89 %, respectively, when compared to the injured control. In this model, the most effective dose for protection of the gastric mucosa was 200 µg / kg (**Figure 8**).

Some lectins, such as ConA, confer protection to the gastrointestinal tract because of their specific binding capacity to carbohydrates, and are used in the treatment of indomethacin-induced intestinal lesions ³⁸ in addition, the specific interaction with mucin glycopeptides leads to changes in mucus structures, giving greater protection to the gastric epithelium ³⁹. pCra pCRA is taxonomically close to

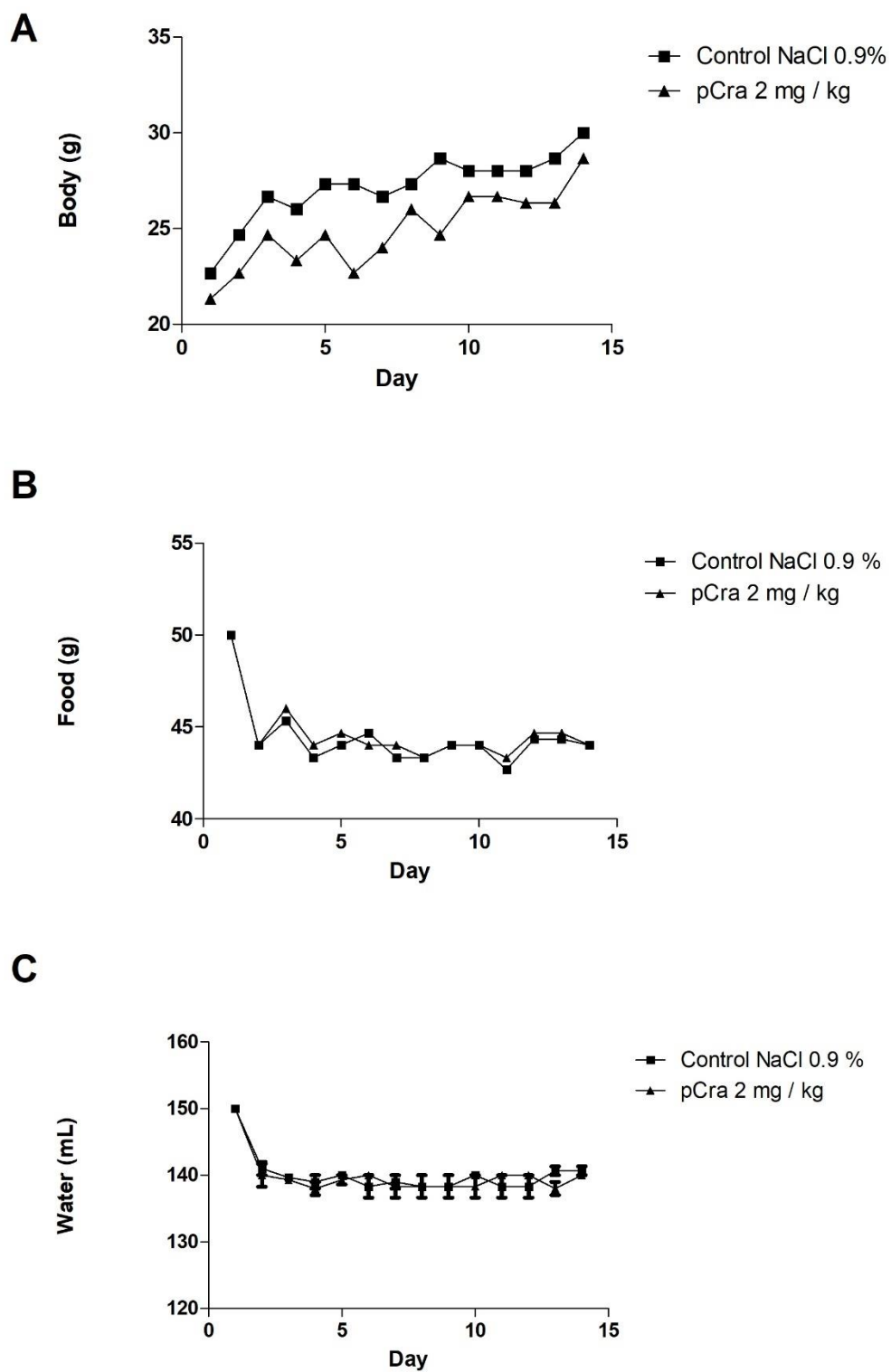
ConA, presenting 82% homology in amino acid sequence and monosaccharide specific⁴⁰.

4 Conclusion

Our study showed that pCramoll, at all concentrations, a gastroprotective effect against the models of acute gastric ulcers: acidified ethanol, absolute ethanol and NSAIDs. The histopathological evaluation also confirmed the gastroprotective effect of pCra, in which the stomachs submitted to the ulcerative agent showed no inflammatory signs. Our data suggests that pCra is a promising therapeutic agent for the development of new drugs and treatment of acute gastric ulcers.

Figura 1. Effect of pCramoll (pCra) on body (A), food (B) and water (C) weight in female mice in the acute toxicity model (14 days).

FIGURE 1



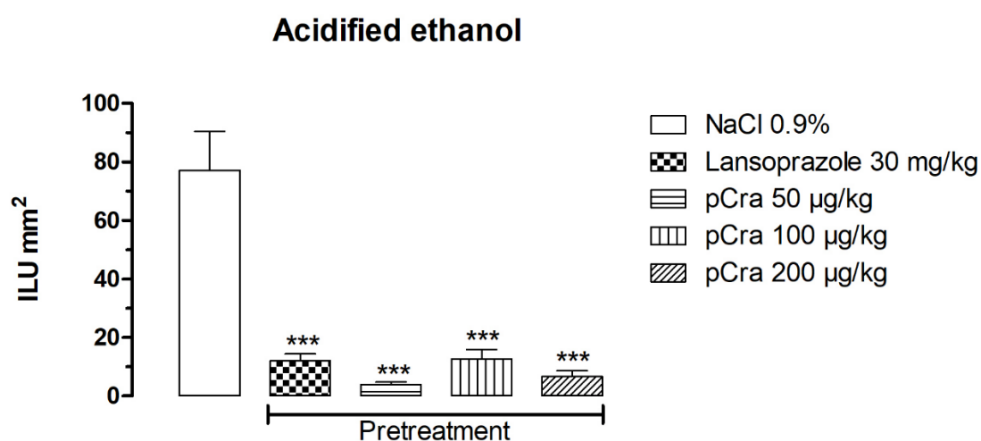


Figure 2. Effect of the orally pretreatment with pCramoll (pCra) on gastric lesions induced by acidified ethanol in mice (n=5). Ulcerative lesion index (ULI).

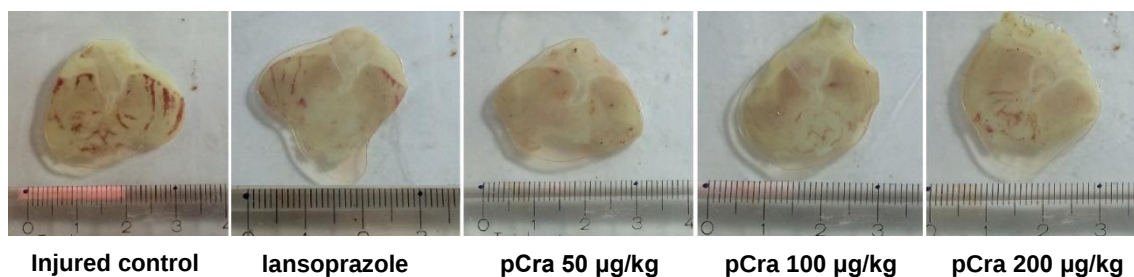


Figure 3. Effect of different doses of pCramoll (pCra) on the severity of gastric lesion (gross analysis) examined in acidified ethanol-induced gastric ulceration model. Stomach treated with NaCl 0.9%, lansoprazole 30 mg / kg, pCra (50 µg / kg), pCra (100 µg / kg) and pCra (200 µg / kg).

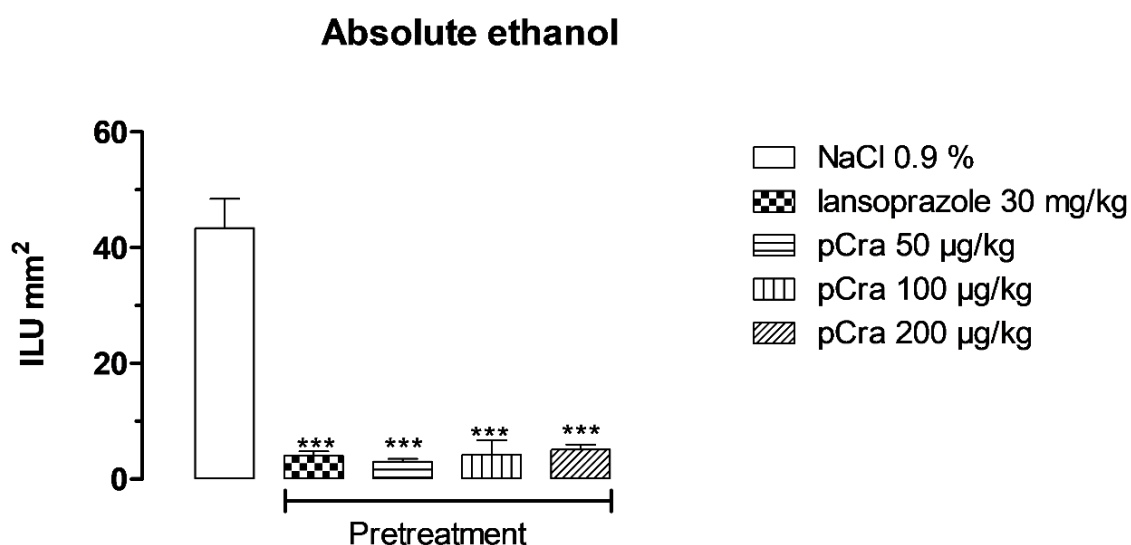


Figure 4. Effect of the orally pretreatment with pCramoll (pCra) on gastric lesions induced by absolute ethanol in mice (n=5).

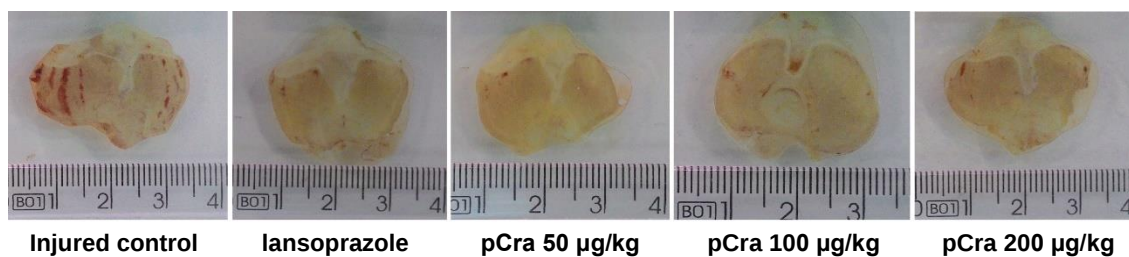


Figure 5. Effect of different doses of pCramoll (pCra) on the severity of gastric lesion (gross analysis) examined in absolute ethanol-induced gastric ulceration model. Stomach treated with NaCl 0.9%, lansoprazole 30 mg / kg, pCra (50 µg / kg) (C), pCra (100 µg / kg) and pCra (200 µg / kg).

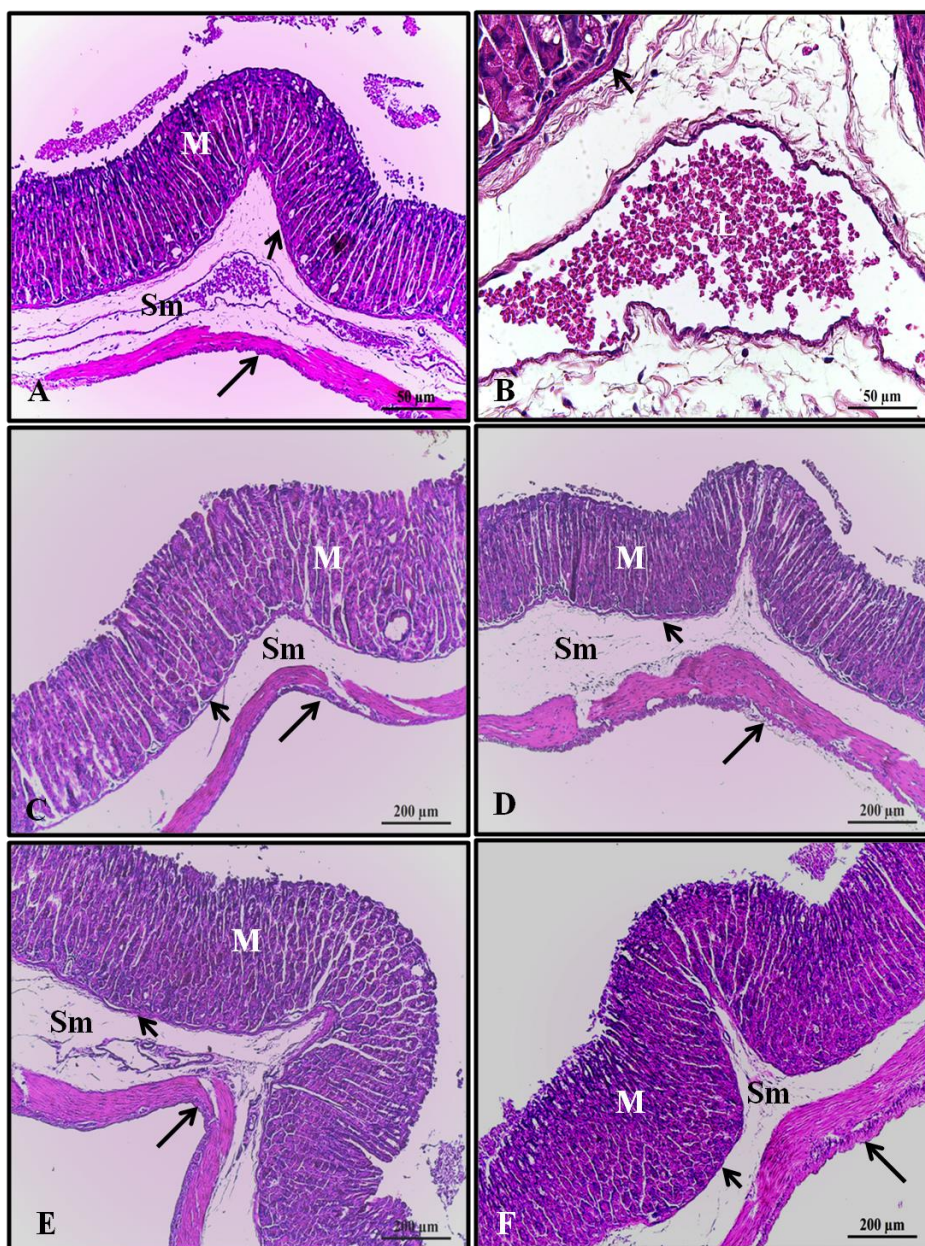
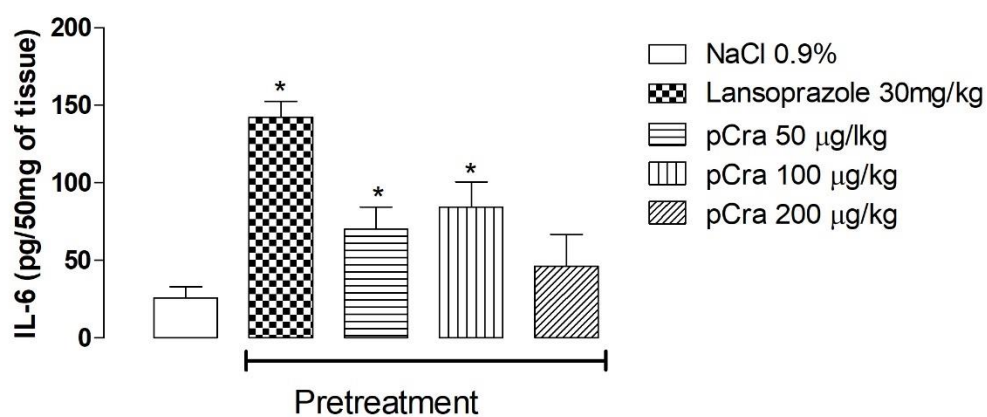


Figure 6. Histopathology of the gastric mucosa of experimental groups pretreated with: 0.9% NaCl (Injured control A and B), lansoprazole 30 mg / kg (C), pCra 50µg / kg (D), pCra 100µg / kg (E) and pCra 200µg / kg (F) in ethanol-induced ulcer. M-mucosa; Sm - submucosa; Large arrow - muscular layer; Small arrow - muscular mucosa.

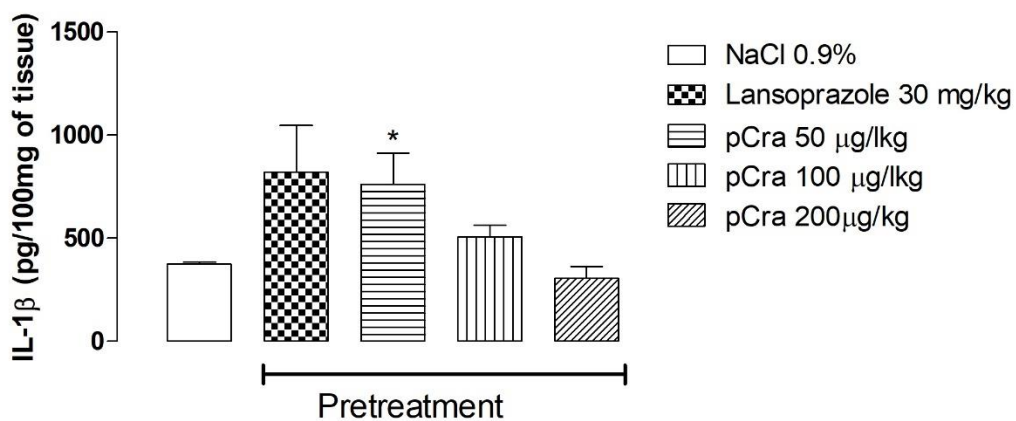
Figure 7. Levels of IL-6 (A) and IL-1 β (B) cytokines in the stomachs of mice with gastric ulcers by absolute ethanol.

FIGURE 7

A



B



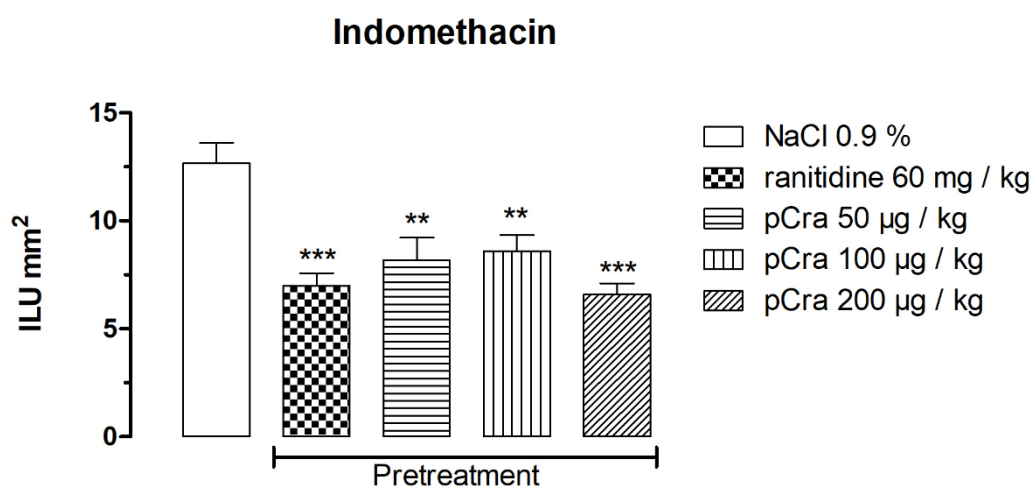


Figure 8. Effect of the orally pretreatment with pCramoll (pCra) on gastric lesions indomethacin-induced in mice (n=7).

5 Referências

- [1] Andreo, M.A., Ballesteros K.V., Hiruma-Lima C.A., Machado da Rocha, L.R., Souza Brito A.R., Vilegas W. Effect of Mouriripusa extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection, *Journal of Ethnopharmacology*. 107(2006) 431-441.
- [2] Tytgat, G.N.J. Etiopathogenetic Principles and Peptic Ulcer Disease Classification, *Digestive Diseases*. 29 (2011) 454–458.
- [3] Tarnawski A.S, Ahluwalia A, Jones M.K. The mechanisms of gastric mucosal injury: focus on microvascular endothelium as a key target, *Current Medicinal Chemistry*. 19 (2012) 4–15.
- [4] Jahovic, N.; Erkanli, G.; Iseri, S.; Arbak, S.; Alican, I. Gastric protection by α -melanocyte-stimulating hormone against ethanol in rats: Involvement of somatostatina, *Life Sciences*. 80 (2007) 1040-1045.
- [5] Matsushashi, T.; Otaka, M.; Odashima, M.; et al. Protective effect of a novel rice extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rat. *Dig Dis Sci*, 52 (2007) 434-441.
- [6] Brunton, L. L.; Lazo, J. S.; Parker, K. L. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 11ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, p.1821, 2006.
- [7] Sostres, C.; Gargallo, C. J.; Arroyo, M. T.; Lanas, A. Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract, *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 24 (2010) 121-32.
- [8] Viana A.F.S.C, Fernandes H.B., Silva F.V., Oliveira I.S., Freitas FFBP, Machado F.D.F. Gastroprotective activity of *Cenosigma macrophyllum* Tul. Var. *acuminata* Teles Freire leaves on experimental ulcer models, *J Ethnopharmacol*. 150 (2013) 316-323.
- [9] Sehn, E. et al. Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing, *Analytica Chimica Acta*. 635 (2010) 115-120.
- [10] Sharon, N. Lectins: past, present and future, *Biochemical Society Transactions*. 36 (2008) 1457–1460.
- [11] Sun, J. et al. Purification and characterization of a natural lectin from the serum of the shrimp *Litopenaeus vannamei*, *Fish & Shellfish Immunology*. 23 (2007) 292-299.
- [12] L.C.N. da Silva and M.T.S. Correia. Plant lectins and Toll-like receptors: implications for therapy of microbial infections, *Frontiers in Microbiology*. 5 (2014) 20.
- [13] Correia, M.T.S.; Coelho, L. C. B. Purification of a glucose/mannose specific lectin isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart (Camaratu bean), *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 55 (1995) 261-273.

- [14] Paiva, P.M.G., Coelho, L.C.B.B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu bean), *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 36 (1992) 113-118.
- [15] L.C. Nascimento da Silva, C. M. Bezerra Filho, R. A. Paula, L. C. B. B. Coelho, M. V. Silva, and M. T. S. Correia. *Cratylia mollis* lectin: a versatile tool for biomedical studies, *Current Bioactive Compounds*. 10 (2014) 44–54.
- [16] Da Cunha C. R., Da Silva L. C. N. and Correia M. T. S. Encapsulation into Stealth Liposomes Enhances the Antitumor Action of Recombinant *Cratylia mollis* Lectin Expressed in *Escherichia coli*, *Journal Frontiers in Microbiology*. (2016).
- [17] Da Silva L. C. N., Alves N. M. P., Castro M. C. A. B., Pereira V. R. A., Paz N. V. N., Coelho L. C. B. B., et al. Immunomodulatory effects of pCramoll and rCramoll on peritoneal exudate cells (PECs) infected and noninfected with *Staphylococcus aureus*, *Int. J. Biol. Macromol.* 72 (2015) 848–854.
- [18] Fernandes, M.P.; Inada, N.M.; Chiaratti, M.R.; Araújo, F.F.; Meirelles, F.V.; Correia, M.T. et al. Mechanism of *Trypanosoma cruzi* death induced by *Cratylia mollis* seed lectin, *J Bioenerg Biomembr.* 42 (2010) 69-78.
- [19] Melo, C. M. et al. Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice, *International Journal of Pharmaceutics*. 408 (2011a) 113–119.
- [20] Melo, C.M.L.; Porto, C.S.; Melo-Junior, M.R.; Mendes, C.M; Cavalcanti; C.B.B.; Coelho, L.C.B.B. et al. Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice, *International Journal of Pharmaceutics*. 408 (2011b) 113-119.
- [21] Pereira, D. S. T. et al. Topical Application Effect of the Isolectin Hydrogel (Cramoll 1,4) on Second-Degree Burns: Experimental Model. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. (2012) <http://dx.doi.org/10.1155/2012/184538>.
- [22] Lima, A.L.; Cavalcanti, C.C.; Silva, M.C.; Paiva, P.M.; Coelho, L.C.; Beltrão, E.I. et al. Histochemical evaluation of human prostatic tissues with *Cratylia mollis* seed lectin, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2010 (2010) 1-7.
- [23] Silva, M.C.C.; Santana, L.A.; Silva-Lucca, R.A.; Lima, A.L.R.; Ferreira, J.G.; Paiva, P.M.G. et al. Immobilized *Cratylia mollis* lectin: An affinity matrix to purify a soybean (*Glycine max*) seed protein with in vitro platelet antiaggregation and anticoagulant activities, *Process Biochemistry*. 46 (2011) 74-80.
- [24] Oliveira, M. D. L. et al. Detection of dengue virus serotypes on the surface of gold electrode based on *Cratylia mollis* lectin affinity, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 155(2011) 789-795.
- [25] OECD (Organization for economic co-operation and development) Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Guideline: 423. (2001). <http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECDGL423.pdf>.

- [26] Mizui, T.; Doteuchi, M. Effect of polyamines on acidified ethanol induced gastric lesions in rats, *The Japanese Journal of Pharmacology*. 33 (1983) 939–945.
- [27] Morimoto, Y., Shimohara, K., Oshima, S., & Sukamoto, T. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine, *The Japanese Journal of Pharmacology*. 57 (1991) 495-505.
- [28] Lemos, A. J. J. M., Peixoto, C. A, Teixeira, A. A. C., “Effect of the combination of metformin hydrochloride and melatonin on oxidative stress before and during pregnancy, and biochemical and histopathological analysis of the livers of rats after treatment for polycystic ovary syndrome”, *Toxicology and Applied Pharmacology*. 280 (2014) 159-168.
- [29] Guidobono, F.; Pagani, F.; Ticozzi, C.; et al. Protection by amylin of gastric erosions induced by indomethacin or ethanol in rats, *Br J Pharmacol*. 120(1997) 581-586.
- [30] A. Singh, T. Bhat, O. Sharma, “Clinical Biochemistry of Hepatotoxicity”, *Journal of Clinical Toxicology*. (2011) 19.
- [31] A. S. Alrashdi, S. M. Salama, S.S. Alkiyumi, M.A. Abdulla, A. H. A. Hadi, S.I. Abdelwahab, M.M. Taha, Jamal Hussiani, N. Asykin. Mechanisms of Gastroprotective Effects of Ethanolic Leaf Extract of *Jasminum sambac* against HCl/Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012 (2012) 1-15.
- [32] G. Ateufack, E. C. D. Mokam, M. Mbiantcha, R. B. Feudjio, N. David, and A. Kamanyi, “Gastroprotective and ulcer healing effects of *Piptadeniastrum africanum* on experimentally induced gastric ulcers in rats,” *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 15 (2015) 1–10.
- [33] Abdon, A.P.V; Coelho de Souza, G; Coelho de Souza, I. N; et al. Gastroprotective potential of frutalin, a D-galactose binding lectin, against ethanolinduced gastric lesions. *Fitoterapia*. 83 (2012) 604–608.
- [34] Ribeiro, K. A., Chaves, H. V., Filho, S. M. P., Pinto, I. R., Monteiro, D. A. M., Matos, S. O., Santi-Gadelha, T., Gadelha, C. A. de A., de Lacerda, J. T. J. G., Aguiara, L. M. V., Pereira, K. M. A., Benevides, N. M. B., Pinto, V. de P. T., Filho, G. C., Bezerra, M. M. and Silva, A. A. R.. Alpha-2 Adrenergic and Opioids Receptors Participation in Mice Gastroprotection of *Abelmoschus esculentus* Lectin, *Current Pharmaceutical Design*. 22 (2016) 1-7.
- [35] Lacerda, R. R., do Nascimento, E. S., de Lacerda, J. T. J. G., Pinto, L. da S., Rizzi, C., Bezerra, M. M., Pinto, I. R., Filho, S. M. P., Pinto, V. de P. T., Filho, G. C., Gadelha, C. A. de A., Gadelha, T. S. ,Lectin from seeds of a Brazilian lima bean variety (*Phaseolus lunatus* L. var. cascavel) presents antioxidant, antitumour and

gastroprotective activities, *International Journal of Biological Macromolecules*. 95 (2017) 1072–1081.

[36] C. A. D. Carvalho, K. M. Fernandes, S. L. P. Matta, “Evaluation of antiulcerogenic activity of aqueous extract of *Brassica oleracea* var. capitata (cabbage) on Wistar rat gastric ulceration”, *Archives of Gastroenterology*. 48 (2011) 276-282.

[37] A. P. V., Abdon, R. P., Vasconcelos, C. A., Castro, M. M., Guedes, A. R., Tome, A. L. H., Cardoso, T. M., Santiago, L. M., Rebelo, R. A., Moreira, A. C. O., Monteiro-Moreira, A. R., Campos. Ethanol-Induced Gastric Injury: Microscopic Analysis of the Protective Effect of Frutalin, *Int J Pept Res Ther*. (2014) 325-332.

[38] Yildirim FI, Uyanik O, Ozyogurtcu H, Gurel A, Atukeren P, Gumustas K, Ozdemir O, Uydeş-Dogan S. Aggravating effect of atorvastatin on indomethacin-induced gastric injury: Focus on PGE2, TNF- α , neutrophils and iNOS, *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 121 (2015) 53-62.

[39] T. Yasuoka, M. Sasaki, T. Fukunaga, T. Tsujikawa, Y. Fujiyama, R. Kushima. The effects of lectins on indomethacin-induced small intestinal ulceration, *Int J Exp Pathol*. 84 (2003) 231–237.

[40] SOUZA, G.A; OLIVEIRA, P.S.L; TRAPANI, S; SANTOS, A.C.O; ROSA, J.C; LAURE, H.J; et al. Amino acid sequence and tertiary structure of *Cratylia mollis* seed lectin. *Glycobiology*, v.13, p.961-72, 2003

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

pCramoll demonstrou efeito gastroprotetor diante dos modelos de úlceras gástricas agudas, em todas as concentrações utilizadas. A avaliação hispopatológica também confirmou o efeito gastroprotetor de pCramoll, no qual os estômagos submetidos ao agente ulcerativo apresentaram ausência de sinais inflamatórios. Sugere-se que o pCramoll seja um promissor agente terapêutico para o desenvolvimento de novos fármacos e tratamento de úlceras gástricas agudas.

REFERÊNCIAS

- ABDON, A.P.V; COELHO DE SOUZA, G; COELHO DE SOUZA, L.N; *et al.* Gastroprotective potential of frutalin, a D-galactose binding lectin, against ethanol-induced gastric lesions. **Fitoterapia**, v. 83, p.604–608, 2012.
- AGNIHOTRI, N; KAUR, H; KAUR, N; SAROTRA, P. Role of oxidative stress in lansoprazole-mediated gastric and hepatic protection in wistar rats. **Indian Journal of Gastroenterology**, v. 26, p.118-121, 2007.
- ALLEN, A; FLEMSTRÖM, G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. **American Journal of physiology-cell Physiology**, v. 288, p.1-19, 2005.
- ALRASHDI, A.S; SALAMA, S.M; ALKIYUMI, S *et al.* Mechanisms of Gastroprotective Effects of Ethanolic Leaf Extract of *Jasminum sambac* against HCl/Ethanol-Induced Gastric Mucosal Injury in Rats. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2, p.786-426, 2012.
- ANDRADE, C. A. S; *et al.* Antitumor activity of *Cratylia mollis* lectin encapsulated into liposomes. **International Journal of Pharmaceutics**, v.278, p.435-445, 2004.
- ANDREO, M. A; *et al.* Effect of Mouriripusa extracts on experimentally induced gastric lesions in rodents: role of endogenous sulfhydryls compounds and nitric oxide in gastroprotection. **Journal of Ethnopharmacology**, v.107, p.431-441, 2006.
- ANSEL, KM; LEE, DU; RAO, A. An epigenetic view of helper T cell differentiation. **Nature Immunology**, v.4, p. 616-623, 2003.
- ARAKAWA, T; WATANABE, T; TANIGAWA, T; TOMINAGA, K; FUJIWARA, Y; MORIMOTO, K. Quality of ulcer healing in gastrointestinal tract: its pathophysiology and clinical relevance. **World journal of gastroenterology**, v.18, n.35, p.4811-4822, 2012.
- ARAÚJO, R. M; VAZ, A. F; AGUIAR, J. S; COELHO, L. C; PAIVA, P. M; MELO, A. M; *et al.* Lectin from *Crataeva tapia* bark exerts antitumor, anti-inflammatory and analgesic activities. **Natural Products and Bioprospecting**, v.1(2), p.97-100, 2011.
- AWAAD, A.S; EL-MELIGY, R.M; SOLIMAN, G.A. Natural products in treatment of ulcerative colitis and peptic ulcer. **Journal of Saudi Chemical Society**, v.17, p.101-124, 2013.
- BANSAL, V. K; GOYAL, S. K; GOSWAMI, D. S; SINGLA, S; RAHAR, S; KUMAR, S. Herbal approach to peptic ulcer disease-REVIEW. **Journal of Bioscience and Technology**, v.1, n.1, p.52-58, 2009.
- BANWELL, J.G; HOWARD, R; KABIR, I; ADRIAN, T.E; DIAMOND, R.H; ABRAMOWSKY, C. Small intestinal growth caused by feeding red kidney bean phytohaemagglutinin lectin to rats. **Gastroenterology**, v.104, p.1669–1677, 1993.

BELTRÃO, E.I.C; *et al.* Binding evaluation of Isoform 1 from *Cratylia mollis* lectin to human mammary tissues. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.74, p.125-134, 1998.

BHATNAGAR, M; SISODIA, S.S. Antisecretory and antiulcer activity of *Asparagus racemosus* Willd against indomethacin plus pyloric ligation-induced gastric ulcer in rats. **Journal of Herbal Pharmacotherapy**, v.6(1), p.13-20, 2006.

BIAS, P; BUCHNER, A; KLESSER, B; **et al.** The gastrointestinal tolerability of the LOX/COX inhibitor, licofelone, is similar to placebo and superior to naproxeno therapy in healthy volunteers: results from a randomized, controlled trial. **The American Journal of Gastroenterology**, v.99, p.611-618, 2004.

BIRDANE, F.M ; CEMEK, M ; BIRDANE, Y.O ; GÜLÇİN, I ; BÜYÜKOKUROĞLU. Beneficial effects of *Foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. **World Journal of Gastroenterology**, v.13, p.607-611, 2007.

BLACK, R.B; RHODES, J; DAVIES, G.T; GRAVELLE, H; SWEETNAM, P. A controlled clinical trial of cholestyramine in the treatment of gastric ulcer. **Gastroenterology**, v.61(6), p.821-5, 1971.

BODE, C. Alcohol's role in gastrointestinal tract disorders. **Alcohol Health & Research World**, v.21, p.76-83, 1997.

BRUNTON, L.L; LAZO, J.S; PARKER, K.L. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. **McGraw-Hill Interamericana do Brasil**. Rio de Janeiro, 11 Edição, p.1821, 2006.

BUCCIARELLI, A; MINETTI, A; MILCZAKOWSKYG, C; SKLIAR, M. Evaluation of gastroprotective activity and acute toxicity of *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae). **Pharmaceutical Biology**, v.48, p.1025–1030, 2010.

CAVADA, B. S; *et al.* Revisiting proteus: Do minor changes in lectin structure matter in biological activity? Lessons from and potential biotechnological uses of Diocleinae Subtribe lectins. **Current Protein and Peptide Science**, v.2, p.123-135, 2001.

CHUBINEH, S; BIRK, J. Proton pump inhibitors: the good, the bad, and the unwanted. **Southern Medical Journal**, v.105, n.11, p.613-618, 2012.

CORREIA, M.T.S; COELHO, L.C.B. Purification of a glucose/mannose specific lectin isoform 1, from seeds of *Cratylia mollis* Mart (Camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.55, p.261-273, 1995.

DA CUNHA C. R; DA SILVA L.C.N; CORREIA, M.T.S. Encapsulation into Stealth Liposomes Enhances the Antitumor Action of Recombinant *Cratylia mollis* Lectin Expressed in *Escherichia coli*. **Journal Frontiers in Microbiology**, 2016.

DA ROCHA LAPA, F; FREITAS, C.S; BAGGIO, C.H; MISSAU, F.C; PIZZOLATTI, M.G; SANTOS, A.R; MARQUES, M.C. Gastroprotective activity of the hydroalcoholic extract obtained from *Polygala paniculata* L. in rats. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v 59, p.1413-1419, 2007.

DA SILVA, L.C.N; CORREIA, M.T.S. Plant Lectins and Tolllike receptor: implications in therapy for microbial infections. **Frontiers Microbiol**, v.5, p.2, 2014.

DA SILVA, L.C.N; ALVES, N. M. P; CASTRO, M.C.A.B; PEREIRA, V.R.A; PAZ, N.V.N; COELHO, L.C.B.B; *et al.* Immunomodulatory effects of pCramoll and rCramoll on peritoneal exudate cells (PECs) infected and noninfected with *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.72, p.848–854, 2015.

DAVENPORT, H.W. Ethanol damage to canine oxyntic glandular mucosa. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med**, v.126, p.657–662, 1967.

DAVENPORT, H.W. Ethanol damage to canine oxyntic glandular mucosa. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med**, v.126, p.657–662, 1967.

DAVENPORT, H.W. Gastric mucosal hemorrhage in dogs. Effects of acid, aspirin, and alcohol. **Gastroenterology**, v. 56, p. 439–449, 1969.

DE OLINDA, T.M; LEMOS, T.L; MACHADO, L.L; RAO, V.S; SANTOS, F.A. Quebrachitol induced gastroprotection against acute gastric lesions: role of prostaglandins, nitric oxide and K⁺ ATP channels. **Phytomedicine**, v.15 p.327-33, 2007.

DE OLIVEIRA, P.S; RÊGO, M.J; DA SILVA, R.R; CAVALCANTI, M.B; GALDINO, S. L; CORREIA, M.T.S *et al.* *Cratylia mollis* 1, 4 Lectin: A New Biotechnological Tool in IL-6, IL- 92 17A, IL-22, and IL-23 Induction and Generation of Immunological Memory. **BioMed Research International**, p.263968-263968, 2013.

E LACERDA, R.R; DO NASCIMENTO, E.S; DE LACERDA, J.T.J.G; PINTO, L. da S; RIZZI, C; BEZERRA, M.M; PINTO, I.R; FILHO, S.M.P; PINTO, V. de P.T; FILHO, G. C; GADELHA, C.A. de A; GADELHA, T.S. Lectin from seeds of a Brazilian lima bean variety (*Phaseolus lunatus* L. var. cascavel) presents antioxidant, antitumour and gastroprotective activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p.1072–1081, 2017.

ELIFIO, S. L; *et al.* A lectin from the lichenized basidiomycete *Dictynema glabratum* **New Phytologist**, v.148, p.327-334, 2000.

EMIM, J.A; OLIVEIRA, A.B; LAPA, A.J. Pharmacological evaluation of the antiinflammatory activity of a citrus bioflavonoid, hesperidin, and the isoflavonoids, dauricin and claussequinone, in rats and mice. **J Pharm Pharmacol**, v.46 (2), p.118-22, 1994.

FEHER, J. Quantitative Human Physiology: An introduction - The stomach. **Editora Elsevier**, v.1, p.701-710, 2012.

FERNANDES, M.P; *et al.* Mechanism of *Trypanosoma cruzi* death induced by *Cratylia mollis* seed lectin. **Journal of Bioenergetics and Biomembranes**, v.42, n.1, p.69-78, 2010.

FILARETOVA, L. P.; TAKEUCHI, K. editors. Cell/Tissue injury and cytoprotection/organoprotection in the gastrointestinal tract: mechanisms, prevention and treatment. **Digest**, v. 30, p.32-40, 2012.

GARCIA-RODRIGUEZ, L. A; RUIGOMEZ, A. Use of acid suppressing drugs and the risk of bacterial gastroenteritis. **Clinical Gastroenterol Hepatol**, v.5, n.12, p.1418-1423, 2007.

GHAZARIAN, H; IDONI, B; OPPENHEIMER, S.B. A glycobiology review: Carbohydrates, lectins and implications in cancer therapeutics. **Acta histochemical**, v.113, p.236–247, 2011.

GHOSH, S; *et al.* Saracin: A lectin from *Saraca indica* Seed Integument Induces Apoptosis in Human T-Lymphocytes. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 371, p.163-168, 1999.

GISBERT, J.P. Potent gastric acid inhibition in *Helicobacter pylori* eradication. **Drugs**, v. 65, p. 83-96, 2005.

GOLDSTEIN, I.J; *et al.* What should be called a lectin. **Nature**, v.285, p.66, 1980.

GORELIK, E; GALILI, U; RAZ, A. On the role of cell surface carbohydrates and their binding proteins (lectins) in tumor metastasis. **Cancer Metastasis Rev**, v.20, p.245-77, 2001.

HANISCH, F.G; BONAR, D; SCHLOERER, N; SCHROTEN, H. Human trefoil factor 2 is a lectin that binds α -GlcNAc-capped mucin glycans with antibiotic activity against *Helicobacter pylori*. **Journal of Biological Chemistry**, v.289(40), p. 27363-75, 2014.

HAMSHOU, M; VAN DAMME, E.J; VANDENBORRE, G; GHESQUIÈRE, B; TROOSKENS, G; GEVAERT, K; *et al.* GalNAc/Gal-binding *Rhizoctonia solani* agglutinin has antiproliferative activity in *Drosophila melanogaster* S2 cells via MAPK and JAK/STAT signaling. **Plos One**, v.7, p.1-10, 2012.

HAWKEY, C; LAINE, L; SIMON, T; BEAULIEU, A; MALDONADO-COCCO, J; ACEVEDO, E; SHAHANE, A; QUAN, H; BOLOGNESE, J; MORTENSEN, E. Comparison of the effect of rofecoxib (a cyclooxygenase 2 inhibitor), ibuprofen, and placebo on the gastroduodenal mucosa of patients with osteoarthritis: a randomized, doubleblind, placebo-controlled trial. The Rofecoxib Osteoarthritis Endoscopy Multinational Study Group. **Arthritis Rheum**, v.43(2), p.370-377, 2000.

HELLOU, J; ROSS, N.W; MOON, T.W. Glutathione, glutathione S-transferase and glutathione conjugates, complementary markers of oxidative stress in aquatic biota. **Environmental Science and Pollution Research**, v.19, n.6, p.2007-2023, 2012.

HIRUMA-LIMA, C.A; GRACIOSO, J.S; RODRÍGUEZ, J.A; HAUN, M; NUNES, D.S; SOUZA BRITO, A.R. Gastroprotective effect of essential oil from *Croton Cajucara Benth* (*Euphorbiaceae*). **Journal of Ethnopharmacology**, v.69(3), p.229-34, 2000.

IERNA, M.X; SCALES, H.E; SAUNDERS, K.L; LAWRENCE, C.E. Mast cell production of IL-4 and TNF may be required for protective and pathological responses in gastrointestinal helminth infection mucosal immunology. **Nature**, v.1, p. 147-155, 2008.

JAHOVIC, N; ERKANLI, G; ISERI, S; ARBAK, S; ALICAN, I. Gastric protection by α -melanocyte-stimulating hormone against ethanol in rats: Involvement of somatostatina. **Life Sciences**, v.80, p.1040-1045, 2007.

JAIN, K. S; SHAH, A. K; BARIWAL, J; SHELKE, S.M; KALE, A.P; JAGTAP, J.R; BHOSALE, A.V. Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.15, p.1181–1205, 2007.

JONES, M. K; PADILLA, O.R; ZHU, E. Survivin is a key factor in the differential susceptibility of gastric endothelial and epithelial cells to alcohol-induced injury. **J. Physiol. Pharmacol**, v.61, n.3, p.253-264, 2010.

JORDINSON, M; GOODLAD, R.A; BRYNES, A; *et al.* Gastrointestinal responses to a panel of lectins in rats maintained on total parenteral nutrition. **American Journal of Physiology**, v.276, p.1235–1242, 1993.

KANGWAN, N; PARK, J.M; KIM, E.H; HAHM, K.B. Quality of healing of gastric ulcers: Natural products beyond acid suppression. **World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology**, v.5, n.1, p.40-47, 2014.

KAWANO, S; TSUJI, S. Role of mucosal blood flow: a conceptional review in gastric mucosal injury and protection. **Journal Gastroenterol Hepatol**, v.15, p.1-6; 2000.

KENNEDY, J.F; *et al.* Lectins, versatile proteins of recognition: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, p.219-30. 1995.

KOSSOULAS, V; VASSILIOU, S; GIAMARELLOS-BOURBOULIS, E.J; TASSIAS, C; KOTSAKI, A; BARBATZAS, C; TZIVRAS, M. Implications for a role of interleukin-23 in the pathogenesis of chronic gastritis and of peptic ulcer disease. **Clinical and Experimental Immunology**, v.156, p.97–101, 2009.

KOSONE T; TAKAGI, H; KAKIZAKI, S; SOHARA, N; HORIGUCHI, N; SATO, K; YONEDA, M; TAKEUCHI, T; MORI, M. Integrative roles of transforming growth factoralpha in the cytoprotection mechanisms of gastric mucosal injury. **BMC Gastroenterology**, v.6, n.22, 2006.

KUMAR, V; ABBAS, A.K; FAUSTO, N. **Robbins & Cotran - Bases patológicas das doenças**. 7 Edição. Rio de Janeiro: Elsevier, p.49-124. 2006.

KUMMER, C.L; COELHO, T.C. Cyclooxygenase-2 inhibitors nonsteroid anti-inflammatory drugs: current issues. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.4. p.498-512, 2002.

LACERDA, R.R; DO NASCIMENTO, E.S; DE LACERDA, J.T.J.G; PINTO, RIZZI, C; BEZERRA, M.M; PINTO, I.R; FILHO, S.M.P; PINTO, V. de P. T; FILHO, G.C; GADELHA, C.A. de A; GADELHA, T.S. Lectin from seeds of a Brazilian lima bean

variety (*Phaseolus lunatus* L. var. cascavel) presents antioxidant, antitumour and gastroprotective activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, V. p.1072–1081, 2017.

LAM, S.K; NG, T.B. Lectins: production and practical applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.89, p.45-55, 2011.

LAINE, L; TAKEUCHI, K; TARNAWSKI, A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterol**, v.135, p.41-60, 2008.

LEE, A. Animal models of gastroduodenal ulcer disease. **Baillie`re's Clinical Gastroenterology**, v.14 (1), p.75–96, 2000.

LEEDHAM, S; JANKOWSKY, J; The evidence base of proton pump inhibitor chemopreventive agents in Barrett's esophagus- the good, the bad, and the flawed. **American Journal of Gastroenterol**, v.102, p.21-23, 2007.

LICHTENBERGER, L.M. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opin Gastroenterology**, v.15, p.463- 472, 1999.

LIMA, A.L.R; *et al.* Histochemical Evaluation of Human Prostatic Tissues with *Cratylia mollis* Seed Lectin. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, p.6, 2010.

LIMA-RIBEIRO, M.H.M; SANTOS-OLIVEIRA, R; SANTANA, M.F.D; PINTO, T.D.J.A; KIKUCHI, I.S; MOTHE, C.G; CARNEIRO-LEÃO, A.M.D.A. In Vitro Evaluation of Gamma Irradiation on a Gel Formulation of *Cratylia Mollis*: Rheological Properties and Microbiological Control. **Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications**, v.2(2), p.45-50. 2012.

MACIEL, E.V.M; *et al.* Mitogenic activity of *Cratylia mollis* lectin on human lymphocytes. **Biologicals**, v.32, p.57-60, 2004.

MARTIN, G.R; WALLACE, J.L. Gastrointestinal inflammation: a central component of mucosal defense and repair. **Experimental Biology and Medicine**, v.231, p.130-137, 2006.

MASSEY, V.L; BEIER, J.I; RITZENTHALER, J.D. Potential Role of the Gut/Liver/Lung Axis in Alcohol-Induced Tissue Pathology. **Biomolecules**, v.5, p. 2477-2503, 2015.

MATSUHASHI, T; OTAKA, M; ODASHIMA, M; *et al.* Protective effect of a novel rice extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rat. **Digestive Diseases Sciences**, v.52, p.434-441, 2007.

MEISTER, A. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; Applications in research and therapy. **Pharmacology & Therapeutics**, v.51, p.155, 1991.

MELO, M.A. **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.1, p. 1232, 2008.
MELO, C.M; *et al.* Immunomodulatory response of Cramoll 1,4 lectin on experimental lymphocytes. **Phytotherapy Research**, v. 24, p.1631-1636, 2010a.

MELO, C.M; *et al.* Cramoll 1,4 lectin increases ROS production, calcium levels, and cytokine expression in treated spleen cells of rats. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 342, p.163-169, 2010b.

MELO, C.M; DE LIMA, A.L; BELTRÃO, E.I; CAVALCANTI, C.C; DE MELO-JÚNIOR M.R; MONTENEGRO, S.M; *et al.* Potential effects of Cramoll 1,4 lectin on murine *Schistosomiasis mansoni*. **Acta Tropica**, v.118, p.152-8, 2011a.

MELO, C. M; *et al.* Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v.408, p. 113–119, 2011b.

MELO, C.M.L; PORTO, C.S; MELO-JUNIOR, M.R; MENDES, C.M; CAVALCANTI; C.B.B; COELHO, L.C.B.B; *et al.* Healing activity induced by Cramoll 1,4 lectin in healthy and immunocompromised mice. **International Journal of Pharmaceutics**, v.408, p.113-9, 2011c.

MINKO T. Drug targeting to the colon with lectins and neoglycoconjugates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.56, p.491–509, 2004.

MOHAN, H. **Text Book of Pathology**. Jaypee Brothers Medical Publishers, 7 Edição. India: 2008.

MUKHERJEE, D. Selective cyclooxygenase–2 (COX-2) inhibitors and potential risk of cardiovascular events. **Biochemical Pharmacology**, v.63, p.817-821, 2002.

MUSCARA, M.N; WALLACE, J.L. Nitric oxide. V. Therapeutic potential of nitric oxide donors and inhibitors. **American Journal of Physiology**, v.276, p.1313–1316, 1999.

NASCIMENTO DA SILVA, L.C; BEZERRA FILHO, C. M; PAULA, R.A; COELHO, L.C.B.B; SILVA, M.V; CORREIA, M.T.S. *Cratylia mollis* lectin: a versatile tool for biomedical studies. **Current Bioactive Compounds**, vol.10, p.44–54, 2014.

NIMRICHTER, L; GARGIR, A; GORTLER, M; ALTSTOCK, R.T; SHTEVI, A; WEISSHAUS, O; FIRE, E; DOTAN, N; SCHNAAR, R.L. Intact cell adhesion to glycan microarrays. **Glycobiology**, v.14, p.197–203, 2004.

NISHIMURA, C; *et al.* Identification of native and non-native structure in kinetic folding intermediates of apomyoglobin. **Journal of Molecular Biology**, v.355, p.139-156, 2006.

NUNES, E.S; ARANDA-SOUZA, M.A; VAZ, A.F.M; SILVA, T.G; AGUIAR, J.S; BATISTA, A.M; GUERRA, M.M.P; *et al.* Cytotoxic effect and apoptosis induction by Bothrops leucurus venom lectin on tumor cell lines. **Toxicon**, v.4264, p.1-5, 2012.

OLBE, L; CARLSSON, E; LINDBERG, P. A proton-pump inhibitor expedition: the case histories of omeprazole and esomeprazole. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.2(2), p.132-139, 2003.

OLIVEIRA, M. D. L; *et al.* Detection of dengue virus serotypes on the surface of gold electrode based on *Cratylia mollis* lectin affinity. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.155, n.2, p.789-795, 2011.

OYAGI, A; OGAWA, K; KAKINO, M; HARA, H. Protective effects of a gastrointestinal agent containing Korean red ginseng on gastric ulcer models in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.10, p.2-9, 2010.

PAIVA, P.M.G; COELHO, L.C.B.B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (Camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 36, p.113-118, 1992.

PEREIRA, A.C; LENZ, D; NOGUEIRA, B.V; SCHERER, R; ANDRADE, T.U; COSTA, H.B; ROMÃO, W; PEREIRA, T.M; Gastroprotective activity of the resin from *Virola oleifera*. **Pharmaceutical Biology**, v.55, p.472-480, 2017.

PEREIRA, D.S.T; *et al.* Topical Application Effect of the Isolectin Hydrogel (Cramoll 1,4) on Second-Degree Burns: Experimental Model. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 2012.

PEUMANS, W.J; *et al.* Classification of de plant lectins on families of structurally and evolutionary related proteins. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.491, p. 27-54, 2001.

PLAYFORD, R.J; GHOSH, S. Cytokines and growth factor modulators in intestinal inflammation and repair. **The Journal of Pathology**, v.250, p.417-425, 2005.

REED, D.J; FARISS, M.W. Glutathione depletion and susceptibility. **Pharmacology Reviews**, v.36, p.25, 1984.

REYNOLDS, M; MARRADI, M; IMBERTY, A; PENADÉS, S; PÉREZ, S. Multivalent Gold Glycoclusters: High Affinity Molecular Recognition by Bacterial Lectin PA-IL. **Chemistry: A European Journal**, v.18, p.4264-73, 2012.

RIBEIRO, K.A, CHAVES, H.V; FILHO, S.M.P; PINTO, I.R; MONTEIRO, D.A.M; MATOS, S. O; GADELHA, T; GADELHA, C.A. de A; DE LACERDA, J.T.J.G; AGUIARA, L. M. V., PEREIRA, K. M. A., BENEVIDE, N. M. B; PINTO, V. de P.T; FILHO, G.C; BEZERRA, M.M; SILVA, A.A.R. Alpha-2 Adrenergic and Opioids Receptors Participation in Mice Gastroprotection of *Abelmoschus esculentus* Lectin. **Current Pharmaceutical Design**, v.22, p.1-7, 2016.

ROCCO, A; COMPARE, D; ANGRISANI, D; *et al.* Alcoholic disease: Liver and beyond. **World Journal of Gastroenterology**, v.20, p.14652-14659, 2014.

RODRIGUES, P.A; MORAIS, S.M; SOUZA, C.M; MAGALHÃES, D.V; VIEIRA, I.G; ANDRADE, G.M; RAO, V.S; SANTOS, F.A. Gastroprotective effect of *Byrsonima sericea* DC leaf extract against ethanol-induced gastric injury and its possible mechanisms of action. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.84, p.113-122, 2012.

ROSS, D. Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents. Mechanisms an free radical induced toxicity and glutathione dependent protection. **Pharmacology & Therapeutics**, v.37, p.231-235, 1988.

SÁNCHEZ-MENDOZA, M.E; REYES-RAMÍREZ, A; CRUZ ANTONIO, L; MARTÍNEZ JIMÉNEZ, L; RODRÍGUEZ-SILVERIO, J; ARRIETA, J. Bioassay-guided isolation of an antiulcer compound, Tagitinin C, from *Tithonia diversifolia*: role of nitric oxide, prostaglandins and sulfhydryls. **Molecules**, v. 16, p.665–674, 2011.

SATO, T; AMANO, H; ITO, Y; ESHIMA, K; MINAMINO, T; AE, T; KATADA C; OHNO, T; HOSONO, K; SUZUKI, T; SHIBUYA, M; KOIZUMI, W; MAJIMA, M.F. Vascular endothelial growth factor receptor 1 signaling facilitates gastric ulcer healing and angiogenesis through the upregulation of epidermal growth factor expression on VEGFR1+C XCR4 + cells recruited from bone marrow. **Journal of Gastroenterology**, v.49, n.3, p.455-469, 2014.

SAWAI, N; KITA M; KODAMA, T; TANAHASHI, T; YAMAOKA, Y; TAGAWA, Y; IWAKURA, Y; IMANISHI, J. Role of gamma interferon in *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammatory responses in a mouse model. **Infection and Immunity**, v.67, p. 279-285, 1999.

SCHUBERT, M. L; PEURA, D.A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v.134, p.1842-1860, 2008.

SEHN, E; *et al.* Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing. **Analytica Chimica Acta**, v.635, n.1, p.115-120, 2009.

SHARON, N. Lectins: past, present and future. **Biochemical Society Transactions**, v.36, p.1457–60, 2008.

SHARON, N; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glycobiology**, v.14, p.53-62, 2004.

SILVA, A.A.R; BEZERRA, M.M; CHAVES, H.V; *et al.* Protective effect of *Chresta martii* extract on ethanol-induced gastropathy depends on alpha-2 adrenergic receptors pathways but not on nitric oxide, prostaglandins or opioids. **Journal of Ethnopharmacology**, v.142, p.206-212, 2012.

SODHI, A; TARANG, S; KESHERWANI, V. Concanavalin A induced expression of Tolllike receptors in murine peritoneal macrophages in vitro. **International Immunopharmacology**, v.7, p.454-463, 2007.

SOL, F.G.D; CAVADA, B.S; CALVETE, J.J. Crystal structures of *Bauhinia floribunda* seed lectin at acidic and basic pHs. Insights into the structural basis of the pH-dependent dimer-tetramer transition. **Journal of Structural Biology**, v.158, p.1-9, 2007.

SOSTRES, C; GARGALLO, C.J; ARROYO, M.T; LANAS, A. Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v.24, n.2, p.121-32, 2010.

SOUZA, G.A; OLIVEIRA, P.S.L; TRAPANI, S; SANTOS, A.C.O; ROSA, J.C; LAURE, H.J; *et al.* Amino acid sequence and tertiary structure of Cratylia mollis seed lectin. **Glycobiology**, v.13, p.961-72, 2003.

SUN, J; *et al.* Purification and characterization of a natural lectin from the serum of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Fish & Shellfish Immunology**, v.23, p.292-299, 2007.

TARNAWSKI, A.S; AHLUWALIA, A; JONES, M.K. The mechanisms of gastric mucosal injury: focus on microvascular endothelium as a key target. **Current Medicinal Chemistry**, v.19, p.4–15, 2012.

TARNAWSKI A.S; AHLUWALIA, A; JONES M. K. Gastric cytoprotection beyond prostaglandins: cellular and molecular mechanisms of gastroprotective and ulcer healing actions of antacids. **Current Pharmaceutical Design**, v.19, n.1, p.126-132, 2013.

TYTGAT, G.N.J. Etiopathogenetic Principles and Peptic Ulcer Disease Classification. **Digestive Diseases**, v.29 (5), p.454–458, 2011.

TOMLINSON, J; BLIKSLAGER, A. Role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in gastrointestinal tract injury and repair. **Journal of The American Veterinary Medical Association**, v.222, p.946-951, 2003.

VIANA, A.F.S.C; FERNANDES, H.B; SILVA, F.V; OLIVEIRA, I.S; FREITAS, F.F.B.P; MACHADO, F.D.F. Gastroprotective activity of Cenosigma macrophyllum Tul. Var. acuminata Teles Freire leaves on experimental ulcer models. **Journal of Ethnopharmacology**, v.150, p.316-323, 2013.

WALLACE, J.L; Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protections: why doesn't the stomach digest itself? **Physiological Reviews**, v.88, p.1547-1565, 2008.

WHITTLE, B.J; LÁSZLÓ, F; EVANS, S.M; MONCADA, S. Induction of nitric oxide synthase and microvascular injury in the rat jejunum provoked by indomethacin. **British Journal of Pharmacology**, v.116(4), p.2286-2290, 1995.

WITITSUWANNAKUL, R; WITITSUWANNAKUL, D; SAKULBORIRUG, C. A lectin from the bark of the rubber tree (*Hevea brasiliensis*). **Phytochemistry**, v. 47, p. 183-187, 1998.

YASUOKA, T.M; FUKUNAGA, T; TSUJIKAWA, T; FUJIYAMA, Y; KUSHIMA, R. The effects of lectins on indomethacin-induced small intestinal ulceration. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 84 pp. 231–237, 2003.

YADV, S.K; ADHIKARY, B; MAITY, B; BANDYOPADHYAY, S.K; CHATOOPADHYAY, S. The gastric ulcer-healing action of allylpyrocatechol is mediated by modulation of arginase metabolism and shift of cytokine balance. **European Journal of Pharmacology**, v. 614 p.106-113 2009.

YILDIRIM, F.I; UYANIK, O; OZYOGURTÇU, H; GUREL, A; ATUKEREN, P; GUMUST, K; OZDEMIR, O; UYDES-DOGAN, S. Aggravating effect of atorvastatin

on indomethacin-induced gastric injury: Focus on PGE₂, TNF- α , neutrophils and iNOS. **Prostaglandins Other Lipid Mediat**, v.121, p.53-62, 2015.

YOSHIDA, N; YOSHIKAWA, T; NAKAMURA, Y; ARAI, M; MATSUYAMA, K; IINUMA, S; YAGI, N; NAITO, Y; MIYASAKA, M; KONDO, M. Role of neutrophilmediated inflammation in aspirin-induced gastric mucosal injury. **Digestive Diseases and Sciences**, v.40(11), p.2300- 2304, 1995.