

Atividade ulcerogênica do celecoxibe, piroxicam e piroxicam associado a sulfato de zinco em modelo de granuloma em ratos

Ulcerogenic activity of celecoxib, piroxicam and piroxicam associated with zinc sulfate in granuloma model in rats

Janaina do Amaral Bueno¹; Raphael Fernando Boiati²; Fabiana Gatti de Menezes³; Jorge Willian Leandro Nascimento⁴

¹ Farmacêutica – Uninove, São Paulo, SP [Brasil].

² Farmacêutico, Mestrando em Ciências da Reabilitação. Uninove, São Paulo, SP [Brasil].

³ Farmacêutica, Doutora em Farmacologia – USP, Docente – Uninove, São Paulo, SP [Brasil].

⁴ Farmacêutico, Doutor em Fármaco e Medicamentos – USP, Docente do Programa de Mestrado em Ciências da Reabilitação – Uninove, São Paulo, SP [Brasil].

Endereço para correspondência

Prof. Dr. Jorge Willian Leandro Nascimento
Av. Francisco Matarazzo 612 – Água Branca
05001-100 – São Paulo, SP [Brasil]
jorgewillian@uninove.br

Resumo

Objetivos: Objetivou-se neste estudo, avaliar a atividade ulcerogênica do celecoxibe (seletivo para COX-2), do piroxicam e piroxicam+sulfato de zinco (AINEs não seletivos). **Método:** Utilizou-se a implantação de pellets de algodão na região abdominal de ratos, além da avaliação da formação de lesão gástrica promovida pelo próprio modelo. **Resultados:** Os resultados obtidos mostraram que a formação do granuloma não induziu maior gravidade na lesão gástrica. **Conclusão:** Dentre os fármacos estudados, houve uma maior incidência de lesões na mucosa gástrica causada pelo piroxicam, quando comparado ao celecoxibe, enquanto a associação piroxicam+sulfato de zinco apresentou menor incidência de lesões gástricas, quando comparado ao piroxicam.

Descritores: Antiinflamatórios não esteróides; Celecoxibe; Piroxicam; Úlcera; Zinco.

Abstract

Objectives: The aim of this study was to evaluate the ulcerogenic activity of celecoxib (selective COX-2), the piroxicam and piroxicam + zinc sulfate (non-selective NSAIDs). **Method:** It has been utilized introduction of cotton pellets in the abdominal region of rats, and by evaluating the formation of gastric lesions promoted by the model. **Results:** The results showed that granuloma formation did not induce gastric lesions. **Conclusions:** Among the drugs studied, there was a higher incidence of gastric lesions caused by piroxicam when compared with celecoxib, while the association piroxicam + zinc sulfate had lower gastric lesion, when compared to piroxicam.

Key words: Non-Steroidal Anti-Inflammatory Agents; Celecoxib; Piroxicam; Ulcer; Zinc.

Introdução

Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINE) representam um dos grupos farmacológicos mais utilizados no mundo devido à sua atividade analgésica, antipirética e anti-inflamatória, e estão entre as drogas que mais causam reações adversas, sendo responsáveis por cerca de 20% de todas as reações de hipersensibilidade a drogas, além de provocarem insuficiência renal e lesão gástrica^{1, 2}.

O mecanismo de ação dos AINEs envolve a inibição da enzima ciclooxigenase (COX), enzima chave na oxidação do ácido aracônico e consequente síntese de prostaglandinas (PG) e tromboxanos (TX)³. As COXs são encontradas em duas isoformas principais: COX-1 e COX-2.

A COX-1 desempenha atividades constitutivas, agindo principalmente na produção de PGs de forma fisiológica, enquanto a COX-2 seria expressa a partir de estímulos inflamatórios, sendo, portanto, responsável pela produção de mediadores na inflamação, além de possuir alguma atividade constitutiva^{4, 5, 6}.

As prostaglandinas atuam como importantes mediadores na resposta inflamatória, além de desempenhar um papel significativo na manutenção da homeostase de vários tecidos e órgãos, incluindo proteção do endotélio vascular, rins, cérebro e, especialmente, trato gastrointestinal. Dessa forma, quando os AINEs inibem não seletivamente a COX, sua ação não se restringe apenas à atividade anti-inflamatória, mas também à promoção de efeitos colaterais, tais como a lesão gastrointestinal associada à redução da formação das PGs, por meio da inibição de sua precursora, a enzima COX-1^{3, 7}.

Fármacos que inibem seletivamente COX-2, conhecidos como *Coxibs*, desencadeariam menor dano à mucosa gástrica, pois não inibem a síntese de PGs constitutivas, via COX-1, e consequentemente a proteção gástrica estaria preservada a partir da formação e manutenção da camada de muco presente no estômago^{8, 9, 10}.

Entretanto, apesar dos *Coxibs* demonstrarem similaridades na atividade anti-inflamatória

e menor incidência de efeitos adversos gástricos, quando comparados aos não seletivos, alguns foram retirados do mercado, como é o caso do rofecoxibe e do valdecoxibe, pois se verificou que, após estudos, os usuários desses fármacos apresentaram altas taxas de eventos cardiovasculares¹¹. O celecoxibe continua a ser utilizado, apesar de ensaios randomizados, controlados demonstrarem um aumento no risco de infarto do miocárdio, quando utilizado em doses consideravelmente superiores às recomendadas^{12, 13, 14, 15}. Desde 1995, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), autoriza a comercialização atualmente apenas do celecoxibe (Celebra[®]) e o etoricoxibe (Arcoxia[®]), de forma controlada com retenção do receituário, diminuindo assim, a utilização desses fármacos pela população. O medicamento lumiracoxibe (Prexige[®]) é registrado na agência, porém não ocorre sua comercialização¹⁶.

Dessa forma, novas abordagens terapêuticas para o manejo dos processos inflamatórios vêm sendo objeto de análises, com o intuito de reduzir os eventos adversos promovidos pelos AINEs. Estudos prévios demonstram que os compostos de zinco, poderiam ser utilizados no tratamento e prevenção de úlceras gástricas, por exemplo, como os fármacos complexados (piroxicam-zinco, tenoxicam-zinco, diclofenaco-zinco e a indometacina-zinco), os quais reduziram a incidência de lesões gástricas sem perda de atividade anti-inflamatória em modelos animais^{17, 18, 19}.

Dentre os principais modelos utilizados para indução de lesão gástrica, a literatura relata a utilização de etanol e de estresse físico. O etanol causa um aumento na secreção de ácidos gástricos, possivelmente mediado pela histamina e pela gastrina e aumenta a permeabilidade epitelial, podendo causar lesões estomacais²⁰. Também ocorre influência do etanol sobre a atividade da musculatura, o que pode provocar estase gástrica, congestão capilar e, ainda, aumento da permeabilidade vascular e do risco de hemorragia e ulcerações, associados a lesões macroscópicas e microscópicas na mucosa^{21, 22}.

Já em modelos de lesão gástrica induzidos pelo estresse, os animais são submetidos a baixas temperaturas (-18°C) em *freezer* por 45 minutos, a fim de avaliar as lesões gástricas causadas pelo frio. Além disso, pode-se utilizar alterações do ciclo claro-escuro, em que os animais expostos muito tempo à claridade, sofrem mais estresse e, como consequência, maior possibilidade de lesões gástricas²³.

Utiliza-se também a indução gástrica pelo uso de indometacina ou outros AINEs em animais, no intuito de avaliar a lesão estomacal causada pela droga, além de analisar a ação de outras drogas que possuem efeitos gastroprotetores^{24, 25, 26}.

Assim, o objetivo neste estudo é comparar os efeitos do piroxicam, piroxicam + sulfato de zinco e celecoxibe sobre a mucosa gástrica de animais em modelo de granuloma e, adicionalmente, avaliar se a cirurgia de implante e a presença do granuloma seriam fatores de estresse que pudessem induzir a formação de lesões gástricas.

Material e métodos

Foram utilizados 15 ratos Wistar, machos, pesando de 180-250g, mantidos em ciclo claro/escuro de 12 horas, com ração e água *ad libitum*. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Nove de Julho, para a realização dos experimentos. A metodologia para indução do granuloma foi baseada em estudos previamente publicados¹⁷.

Os animais foram divididos em cinco grupos (n=3): Grupo controle (C) – *Sham*; Grupo granuloma (G); Grupo piroxicam (P); Grupo celecoxibe (CX) e Grupo piroxicam+sulfato de zinco (PZn). Foram utilizados os fármacos: piroxicam (DEG-Sigma), sulfato de zinco (Labsynth) e celecoxibe (Celebra® - Pfizer).

Para realização do experimento, os animais foram anestesiados com uma solução de Ketamina/Xilazina (75/10 mg/Kg) por via intraperitoneal. O processo inflamatório foi induzido e todos os grupos, com exceção do Grupo Controle, a partir do implante subcutâneo de 4

pellets de algodão estéreis (160 mg) em regiões equidistantes do abdômen de cada animal. Os *pellets* foram previamente autoclavados por 1 hora e secos em estufa a 60°C, por 30 minutos¹⁷.

Os fármacos piroxicam, celecoxibe e o sulfato de zinco, foram diluídos em solução de carboximetilcelulose (CMC 0,02%), e as administrações foram realizadas por gavagem, com auxílio de uma cânula, sendo: Grupo controle (1 ml de CMC); Grupo granuloma (1 ml de CMC); Grupo piroxicam (10 mg/Kg de piroxicam, diluído em 1 ml de CMC), grupo celecoxibe (10 mg/Kg de celecoxibe, diluído em 1 ml de CMC) e o Grupo piroxicam+sulfato de zinco (10 mg/Kg de piroxicam e 25 mg/Kg de Sulfato de Zinco, diluídos em 1 ml de CMC).

Todos os grupos receberam a medicação (P, PZn e CX) ou o veículo (C e G), logo após a cirurgia e nos seis dias subsequentes. No oitavo dia, os animais foram privados de alimentação por 12 horas, com água *ad libitum*, e sacrificados, sendo utilizada dose letal do anestésico, retirando os granulomas e os respectivos estômagos, para posterior análise.

Os granulomas foram removidos e em seguida, levados à estufa (60°C) por 1 hora. Após a secagem, eles foram pesados em balança analítica, sendo calculada a diferença no peso do granuloma final e inicial.

Para avaliação das lesões gástricas nos grupos estudados, os estômagos foram retirados e abertos ao longo da grande curvatura, os quais foram lavados com solução fisiológica, afixando-os em placas de isopor com alfinetes, conforme técnica previamente descrita na literatura²⁰. As lesões foram fotografadas e avaliadas por meio de Editor *Adobe Photoshop 7.0* (Microsoft®) para determinação do tipo de formação da lesão gástrica causada pela utilização dos AINEs.

As lesões gástricas foram classificadas quanto ao tamanho e severidade da seguinte maneira²⁷:

- Nível 1: hiperemia e/ou hemorragia puntiforme (petéquias) com diâmetro ≤ 1 mm;
- Nível 2: lesões hemorrágicas com erosão moderada com diâmetro de 1 a 3 mm;

Nível 3: botões hemorrágicos com lesão severa (extensa) com diâmetro ≥ 3 mm.

Análise estatística

Para análise estatística, utilizou-se o software *GraphPad InStat 3.0*.

Os dados foram expressos como média e desvio-padrão. As diferenças entre os grupos em todas as avaliações realizadas foram analisadas por Análise de Variância (ANOVA) *one-way*, seguido do teste de Tukey, como contraste para os dados paramétricos. Foi considerado como indicativo de significância estatística $p < 0,05$.

Resultados

Formação do tecido granulomatoso

O implante dos *pellets* de algodão desencadeou o processo inflamatório com formação de tecido granulomatoso significativo no grupo granuloma (Figura 1), quando comparado aos grupos que receberam tratamento farmacológico.

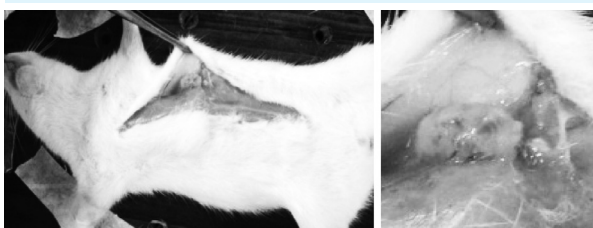


Figura 1: Formação do tecido granulomatoso, oito dias após implantação dos *pellets* de algodão

Os resultados obtidos demonstraram uma atividade anti-inflamatória nos grupos tratados com piroxicam e celecoxibe ($476 \pm 32,35$ mg e $488 \pm 55,05$ mg), quando comparado ao grupo granuloma ($574 \pm 32,35$ mg); porém, o tratamento com piroxicam+sulfato de zinco ($582 \pm 18,58$ mg), não demonstrou a mesma atividade, ou seja, ocorreu desenvolvimento de tecido granulomatoso significativo.

Incidência de lesões gástricas

Após tratamento farmacológico utilizando-se piroxicam, celecoxibe e piroxicam + sulfato de zinco, os estômagos foram retirados e fotografados (Figura 2), sendo realizada a contagem das lesões gástricas nos respectivos níveis de gravidade (Figura 3).

As lesões de nível 1, pequenos pontos hemorrágicos (lesões leves) com menor gravidade, foram semelhantes em todos os grupos avaliados, inclusive no grupo controle. Já entre as lesões de gravidade moderada, nível 2, e as lesões profundas (ulcerosas), nível 3, houve diferenças entre os grupos.

No grupo controle e granuloma, a coloração da mucosa gástrica mostrou-se inalterada, com presença de muco na parte central, formação de lesões de nível 1 na região da curvatura maior da mucosa e raras lesões nível 2 e 3. Já no grupo piroxicam, a coloração da mucosa gástrica foi totalmente alterada, com presença de pouca quantidade de muco de forma homogênea, desenvolvimento de um grande número de lesões nível 2 e de nível 3. Apresentou-se, ainda, erosão profunda predominante na mucosa da porção de curvatura maior do órgão.

O grupo tratado com celecoxibe apresentou muco em grande quantidade, desenvolvimento de lesões raras de nível 2 na porção central, e raras de nível 3, principalmente na região da curvatura maior. O grupo tratado com piroxicam + sulfato de zinco, mostrou coloração da mucosa gástrica inalterada, com presença de pouca quantidade de muco em toda a mucosa, além de formação de lesões nível 1 de forma homogênea na mucosa e de poucas lesões níveis 2 e 3 (Figura 3).

Discussão

O modelo de granuloma induzido por *pellets* de algodão é bastante descrito na literatura como confiável para avaliação da atividade anti-inflamatória de diversas substâncias, inclusive AINEs¹.

Aliado a esse modelo, quando se deseja também verificar a atividade ulcerogênica de uma determinada droga anti-inflamatória, a literatura descreve vários modelos de indução de lesão gástrica que apresentam em sua maioria, situações estressantes ou lesivas para os animais em estudo^{24, 25, 26}.

Dessa forma, procuramos avaliar se a utilização do modelo de granuloma seria, por si só, suficiente para ocasionar aumento no número

de lesões gástricas nos estômagos dos animais submetidos a esse procedimento.

Em nosso estudo, quando comparamos o grupo controle (sem implante dos *pellets*) e o grupo granuloma, observamos que não houve diferença significativa no número de lesões gástricas observadas, seja nível 1, 2 ou 3 de gravidade. Estes resultados indicam que a utilização deste modelo não é capaz de alterar significativamente a formação de lesões gástricas.

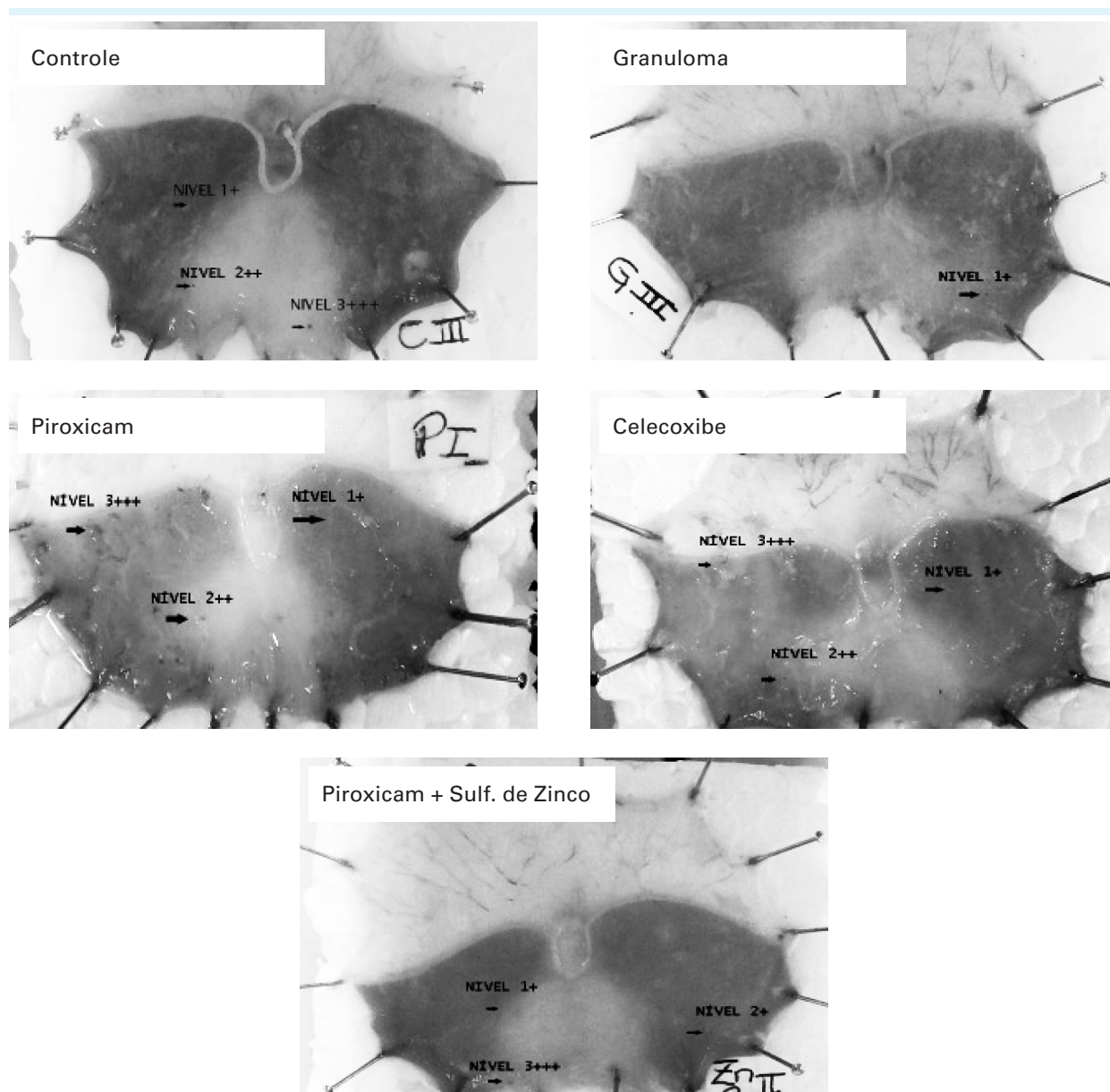


Figura 2: Estômagos dos animais abertos ao longo da grande curvatura representando a presença de lesões gástricas, após tratamento medicamentoso com piroxicam, celecoxibe e piroxicam+sulfato de zinco durante sete dias.

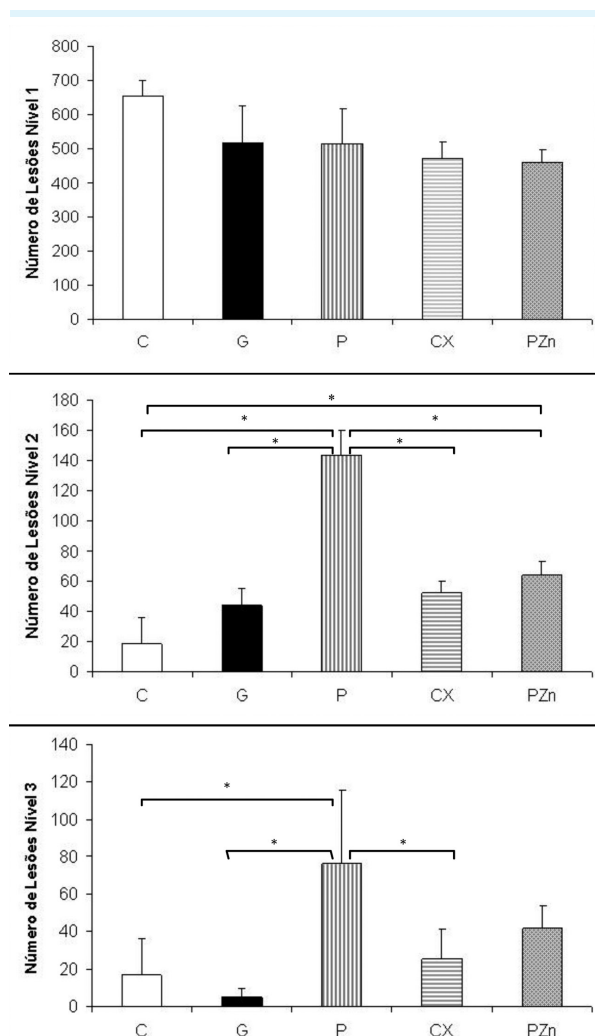


Figura 3: Lesões gástricas induzidas por piroxicam, piroxicam+sulfato de zinco e celecoxibe em ratos, após sete dias de tratamento (média±DP)

* Diferença estatística ($p < 0,05$).

C: Controle; G: Granuloma; P: Piroxicam; CX: Celecoxibe; PZn: Piroxicam + Sulfato de Zinco.

Outra avaliação realizada nesta pesquisa foi a comparação entre o AINE não seletivo (piroxicam) e seletivo (celecoxibe) para COX-2, além do piroxicam associado ao zinco na formação de lesão gástrica.

O piroxicam, assim como os demais oxicams, apresentam uma vantagem em relação a outros fármacos anti-inflamatórios por apresentarem uma extensa meia vida plasmática (aproximadamente 50 horas), permitindo a administração de uma única dose diária, e favorecendo a adesão ao tratamento²⁸.

A literatura demonstra que apesar de serem efetivos na redução de sintomas de muitas doen-

ças, os AINEs, principalmente os não seletivos como o piroxicam, induzem efeitos gastrointestinais, causando desconforto abdominal, ulcerações, sangramentos e perfurações. A manifestação clínica mais comum com o uso crônico do piroxicam, relacionado ao efeito gastrointestinal, é a combinação de danos ao tecido gastroduodenal, tais como erosões e ulcerações^{29, 30}.

Diante desses fatos, recursos que visam reduzir as reações adversas do AINEs, como alterações da formulação^{31,32} e administração simultânea de adjuvante (misoprostol ou compostos de zinco)^{33,34}, têm sido propostos.

Os primeiros estudos envolvendo os compostos de zinco como protetor gástrico, foram realizados em 1972, quando se utilizou o sulfato de zinco para o tratamento de úlceras gástricas em humanos³⁴.

Joseph RM et al.³⁵ demonstraram que compostos de zinco auxiliam na gastroproteção contra vários agentes ulcerogênicos, especialmente como pré tratamento na diminuição de danos causados na mucosa gástrica induzidos por AINEs. Esses mecanismos de citoproteção incluiriam estabilização da membrana, melhora no fluxo sanguíneo na mucosa gástrica e da síntese de prostaglandinas e maior produção de muco.

Outros trabalhos mostram que o sulfato de zinco é eficaz na proteção da mucosa gástrica, após estresse³⁶ e administração de etanol³⁷. A proteção ocorre, provavelmente, devido à ação dos íons de zinco que possuem atividade estabilizadora da membrana, em especial nos lisossomos e mastócitos, independentemente da síntese da PGE₂ gástrica³⁸.

Em humanos, compostos de zinco no tratamento de úlcera gástrica apresentaram resultados satisfatórios. Fraser et al.³⁴ e Frommer DJ³⁹ demonstraram que o zinco, na forma de sulfato de zinco, apresentou uma capacidade curativa para tratar esse tipo de doença em pacientes. Segundo Nascimento JW et al.¹⁷, a avaliação desse possível efeito citoprotetor do zinco, poderia favorecer o desenvolvimento de associações que promovam alguma redução na incidência de lesões gástricas por esses fármacos, sem que ocorra redução na atividade anti-inflamatória.

Diferentes AINEs interferem de maneira distinta na incorporação de sulfato nas subunidades glicoproteicas do muco. A ação gastroprotetora do zinco poderia, também, ser explicada pela restauração qualitativa da camada mucosa por restaurar as ligações dissulfeto entre as glicoproteínas⁴⁰.

A busca por AINEs eficazes e com baixa incidência de efeitos gástricos vem sendo temática de vários estudos em todo o mundo. No final da década de 90, uma nova classe de anti-inflamatórios, inibidores seletivos para COX-2, foi desenvolvida e, a despeito de outros efeitos adversos, a incidência de lesão gástrica promovida por esses compostos tem-se apresentado menor do que os AINEs convencionais, conforme confirmado em diversos trabalhos clínicos e pré-clínicos^{10, 41, 42}.

Em nosso estudo, ao comparar-se o celecoxibe com o piroxicam, observou-se que houve uma menor incidência de lesões de nível 2 e 3, as mais graves, no grupo que utilizou celecoxibe (Figura 3). Estes resultados são condizentes com a literatura, em que os AINEs inibidores seletivos COX-2 induzem menores danos à mucosa gástrica, principalmente aqueles de maior gravidade, quando comparado com os não seletivos COX-2²⁹.

Ao avaliar o grupo tratado com a associação piroxicam e sulfato de zinco, foram observadas diferenças significativas com redução no número de lesões nível 2 no grupo tratado com a associação. Entretanto, apesar das diferenças nas médias das lesões nível 3 não foi observada diferença estatística entre estes grupos. Esta tendência à diferença pode ter ocorrido em razão do pequeno tamanho da amostra, o que possibilitou a ocorrência de erro do tipo II neste grupo, produzindo grande desvio-padrão intragrupo.

Conclusão

Pelos resultados obtidos, pôde-se observar que o modelo de granuloma não promove aumento da lesão gástrica em ratos e que os animais tratados com celecoxibe ou com piroxicam associado ao sulfato zinco apresentaram menor incidência de lesão gástrica que aqueles tratados com piroxicam.

Referências

1. Estévez DQ. Are selective COX-2 inhibitors a safe option in patients with intolerance to nonsteroidal anti-inflammatory drugs? *J Investig Allergol Immunol.* 2009;19(4):328-30.
2. Weck AL, Sanz ML, Gamboa PM, Aberer W, Blanca M, Correia S et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drug hypersensitivity syndrome. A multicenter study. I. Clinical findings and in vitro diagnosis. *J Investig Allergol Immunol.* 2009;19(5):355-69.
3. Rao PP, Knaus EE. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J Pharm Pharmaceut Sci.* 2008;11(2):81-110.
4. Vane JR, Bakne TS, Botting RM. Cyclooxygenase 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1998;38:97-110.
5. Harirforoosh S, Jamali F. Effect of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with varying extent of COX-2 – COX-1 severity on urinary sodium and potassium excretion in the rat. *Can J Physiol Pharmacol.* 2005;83(1):85-90.
6. Riendeau D, Percival MD, Brideau C, Charleson S, Dube D, Ethier D et al. Etericoxib (MK-0663): Preclinical profile and comparison with other agents that selectively inhibit cyclooxygenase-2. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;296(2):558-66.
7. Higuchi K, Yoda Y, Amagase K, Kato S, Tokioka S, Murano M et al. Presentation of NSAID – Induced small intestinal mucosal injury: prophylactic potential of lansoprazole. *J Clin Biochem Nutr.* 2009;45:125-30.
8. Hinz B, Brune K. Cyclooxygenase-2: 10 years later. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002;300(2):367-75.
9. Wallace JL, McKnight W, Reuter BK, Vergnolle N. NSAID-Induced gastric damage in rats: Requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology.* 2000; 119:706-14.
10. Wallace JL, Ma L. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. *Exp Biol Med.* 2001;226:1003-15.
11. Esser R, Berry C, Zherngming D, Dawson J, Fox A, Fujimoto RA et al. Preclinical pharmacology of lumiracoxib: a novel selective inhibitor of cyclooxygenase-2. *Br J Pharmacol.* 2005;144:538-50.
12. McGettigan P, Henry D. Cardiovascular risk and inhibition of cyclooxygenase. A systematic review of the observational studies of selective and nonselective inhibitors of cyclooxygenase 2. *JAMA.* 2006;296(13):1633-44.
13. Głuszko P, Bieli ska A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the risk of cardiovascular diseases. Are we going to see the revival of cyclooxygenase-2 selective inhibitors? *Pol Arch Med Wewn.* 2009;119(4):231-34.

14. Howes LG. Selective COX-2 inhibitors, NSAIDs and cardiovascular events – is celecoxib the safest choice? *Ther Clin Risk Manag.* 2007;3(5):831-45.
15. Coruzzi G, Venturi N, Spaggiari S. Gastrointestinal safety of novel nonsteroidal antiinflammatory drugs: Selective COX-2 inhibitors and beyond. *Acta Biomed.* 2007;78:96-110.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Posicionamento da Anvisa quanto aos inibidores seletivos de COX-2: atualização – Brasília – Brasil. Câmara Técnica de Medicamento – CATEME, [texto na internet]. 2005. [acesso em: 2009 dez 12]. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/cateme/posicionamento_cox2_atualizacao.htm>.
17. Nascimento JW, Santos LH, Nothenberg MS, Coelho MM, Oga S, Tagliati CA. Anti-inflammatory activity and gastric lesions induced by zinc-tenoxicam. *Pharmacology.* 2003; 68(2):64-69.
18. Tagliati CA, Kimura E, Nothenberg MS, Santos SR, Oga S. Pharmacokinetic profile and adverse gastric effect of zinc-piroxicam in rats. *Gen Pharmacol.* 1999;33(1):67-71.
19. Varghese J, Faith M, Jacob M. Zinc prevents indomethacin-induced renal damage in rats by ameliorating oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Eur J Pharmacol.* 2009;614(1-3):114-21.
20. Ko JKS, Cho Chi-Hin. Histological study of mechanisms of adaptive cytoprotection on ethanol-induced mucosal damage in rat stomachs. *Dig Dis Sci.* 1998;43(6):1248-57.
21. Macmath TL. Alcohol and gastrointestinal bleeding. *Emerg Med Clin North Am.* 1990;8:859-72.
22. Santos FA, Rao VS. 1,8 -cineol, a food flavoring agent, prevents ethanol-induced gastric injury in rats. *Dig Dis Sci.* 2001;46:331-7.
23. Silva JL, Silva RP, Jorge RM, Silva GD, Filho SA, Fonseca AP et al. Avaliação da atividade antiulcerogênica da *Maytenus truncata* Reiss (Celastraceae). *Rev Bras de Farmacog.* 2005;15(1):30-5.
24. Arawawala LD, Thabrew MI, Arambewela LSR. Gastroprotective activity of *trichosanthes cucumerina* in rats. *J Ethnopharmacol.* 2008, DOI: 10.1016/j.jep.2009.11.026.
25. Araújo KP, Blazquez FJ. Anatomia microvascular do estômago canino e lesão gástrica provocada por antiinflamatórios não esteróides. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2007;44 (spIssue):14-8.
26. Hwang HS, Han KJ, Ryu YH, Yang EJ, Kin YS, Jeong SY et al. Protective effects of eletroacupuntura on acetylsalicylic acid-induced acute gastritis in rats. *World J Gastroenterol.* 2009;15(8):973-77.
27. Szelenyi I, Thiemer RK. Distention ulcer as model for testing of drugs ulcerogenic side effects. *Arch Toxicol.* 1978;41(1):99-105.
28. Maghsoudi H, Askary B. The effect of piroxicam on the formation of postoperative, intraabdominal adhesion in rats. *Saudi J Gastroenterol.* 2008;14(4):198-201.
29. Richey F, Bruyere O, Ethgen O, Rabenda V, Bouvenot G, Audran M et al. Time dependents risk of gastrointestinal complications induced by non-steroidal anti-inflammatory drug use: a consensus statement using a meta-analytic approach. *Ann Rheum Dis.* 2004;63:759-66.
30. Buttgerit F, Burmester GR, Simon LS. Gastrointestinal toxic side effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 specific inhibitors. *Am J Med.* 2001;110:13s-19s.
31. Guentert TW, Stebler T, Banken L, Defoin R, Schmitt M. Relative bioavailability of oral dosage forms of tenoxicam. *Fortschr Arzneimittelforsch.* 1994;44(9):1051-4.
32. Salem MS, Alkaysi HN, Gharaibeh AM, Gharaibeh NM, Badwan AA. *J Clin Pharm Ther.* 1994;19:203-7.
33. Grazioli I, Avossa M, Bogliolo A, Brogginini M, Carcassi A, Carcassi U et al. *Clin Exp Rheumatol.* 1993;11(3):289-94.
34. Frazer PM, Doll R, Langman SM, Misiewicz JJ, Shawdon HH. Clinical trial of a new carbenoxolone analogue (BX24) zinc sulphate, and vitamin A in the treatment of gastric. *Gut.* 1972;13:459-61.
35. Joseph RM, Varela V, Kanj VK, Subramony C, Minhas AA. Protective effects of zinc in indomethacin-induced gastric mucosal injury: evidence for a dual mechanism involving lipid peroxidation and nitric oxide. *Aliment Pharmacol Ther.* 1999;13:203-8.
36. Cho CH, Ogle CW. The effects of zinc sulphate on vagal-induced mast cell changes and ulcers in the rat stomach. *Eur J Pharmacol.* 1997;43(4):315-22.
37. Cho CH, Ogle CW, Wong SH, Koom W. Effects of zinc sulphate on ethanol-and indomethacin-induced ulceration and changes in prostaglandin E2 and histamine levels in the rat gastric glandular mucosa. *Digestion.* 1985;32(4):288-95.
38. Pfeiffer CJ, Bulbena O, Esplugues JV, Escolar G, Navarro C, Esplugues J. Anti-ulcer and membrane stabilizing actions of zinc acexamate. *Arch Int Pharmacodyn.* 1987;285(1):148-57.
39. Frommer DJ. The healing of gastric ulcers by zinc sulphate. *Med J Aust.* 1975;2(21):793-6.
40. Escolar G, Camarasa J, Navarro C, Vernetta C, Bulbena O. Antiulcerogenic activity of zinc acexamate in different experimental models. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1987;9(7):423-7.
41. Jackson LM, Hawkey CJ. Gastrointestinal effects of Cox-2 inhibitors. *Expert Opin Investig Drugs.* 1999;8(7):963-71.
42. Paiet M, Van Ryn J. Measurement of differential inhibition of Cox-1 and Cox-2 and the pharmacology of selective inhibitors. *Drugs Today.* 1999;35(4-5):251-65.