

Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol em ratas*

Evaluation of the gastroprotective activity of hydroalcoholic extract of sunflower seed in rats

Cibelle Barcelos Filipini¹, Daniella Ribeiro da Paixão¹, Mara Aparecida Pereira de Ávila¹, Pâmella Aparecida Flausino¹, Vander Alves Pereira¹, Juslene Aparecida Oliveira², Ana Maria Duarte Dias Costa³, Fábio de Souza Terra⁴, Evelise Aline Soares⁵

*Recebido da Faculdade de Enfermagem da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS). Alfenas, MG.

RESUMO

JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS: Avaliar a proteção gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) em relação ao estresse, ao uso de indometacina e etanol.

MÉTODO: Foi realizado um estudo experimental envolvendo 90 ratas (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, fêmeas, com peso corporal médio de 150-230 g, divididos em 18 grupos distintos os quais receberam os seguintes tratamentos: EHSG: 250 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg e 2000 mg/kg; etanol 0,5 mL; cimetidina 60 mg/kg; indometacina 20 mg/kg; água 1 mL. Os dados foram analisados utilizando o programa Grand Pad Prism 5 com aplicação de testes estatísticos considerando o nível de significância de 5%.

RESULTADOS: O EHSG apresenta proteção contra as lesões gástricas em ratas, nas doses de 250 e 1000 mg, tanto no modelo pelo estresse, quanto na indução por etanol e indometacina.

CONCLUSÃO: Os dados obtidos no presente estudo mostram que o EHSG apresenta proteção gástrica em determinadas doses.

Descritores: Cimetidina, Estresse, Indometacina, Proteção gástrica, Úlcera gástrica.

SUMMARY

BACKGROUND AND OBJECTIVES: To evaluate the gastric protection hydroalcoholic extract the sunflower seed (EHSG) in relation to stress, the use of indomethacin and ethanol.

METHOD: We conducted an experimental study involving 90 rats (*Rattus norvegicus albinus*), Wistar, females, mean body weight of 150-230 g were divided into 18 distinct groups which received the following treatments: EHSG: 250 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg and 2000 mg/kg; 0.5 mL ethanol, cimetidine 60 mg/kg, 20 mg/kg indomethacin; 1 mL water. Data were analyzed using the GrandPad Prism 5 with application of statistical tests, the significance level of 5%.

RESULTS: The EHSG has protective against gastric injury in rats at doses 250 mg and 1000, both in the model by stress, as in the induction by ethanol and indomethacin.

CONCLUSION: The data obtained in this study show that has EHSG gastric protection in certain doses.

Keywords: Cimetidine, Gastric protection, Gastric ulcer, Indomethacin, Stress.

INTRODUÇÃO

A história da cicatrização das feridas e o emprego da fitoterapia na sua reparação são tão antigos quanto à história da humanidade. As utilizações de plantas medicinais na prática aparecem desde 2.500 anos a.C., e muitas destas são mencionadas em textos chineses ou ensinamentos budistas. Na natureza existem milhares de plantas com ação farmacológica. O Brasil, nesse aspecto, caracteriza-se por possuir grande riqueza de plantas, apesar de a maioria delas ser utilizada sem embasamento científico. Dentre os vários fitoterápicos utilizados pela população encontra-se o *Helianthus annuus Linné* (girassol). As plantas medicinais além de ser a maior fonte de matéria-prima para a descoberta de novas moléculas são também um recurso natural potencialmente ativo na forma de fitoterápico¹.

O uso popular de produtos naturais, principalmente os deriva-

1. Graduando em Enfermagem da Faculdade de Enfermagem da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS). Alfenas, MG, Brasil
2. Mestre em Saúde pela Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS). Professora do Curso de Enfermagem da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS). Alfenas, MG, Brasil
3. Doutora em Farmacologia pela Universidade Estadual Paulista (UNICAMP). Professora Titular do Curso de Medicina e Odontologia e Coordenadora do Mestrado em Saúde da Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS). Alfenas, MG, Brasil
4. Doutor em Ciências, Programa Enfermagem Fundamental, pela Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (EERP/USP). Professor do Curso de Enfermagem da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). Alfenas, MG, Brasil
5. Doutoranda em Biologia Celular e Estrutural, Área Anatomia, pela Universidade Estadual Paulista (UNICAMP). Professora de Anatomia e Neuroanatomia na Universidade José do Rosário Vellano (UNIFENAS). Alfenas, MG, Brasil

Apresentado em 24 de outubro de 2011

Aceito para publicação em 18 de janeiro de 2012

Endereço para correspondência:

Dra. Ana Maria Duarte Dias Costa

Rua Presidente Artur Bernardes, 655 – Centro

37130-000 Alfenas, MG.

Fone: (35) 3291-2375

Email: ana.costa2@yahoo.com.br

© Sociedade Brasileira de Clínica Médica

dos de plantas medicinais, está entre as mais atrativas fontes de novos medicamentos e tem mostrado resultados promissores no tratamento de úlcera gástrica. Em 2001 e 2002, cerca de 25% dos fármacos mais vendidos mundialmente, eram produtos naturais ou seus derivados².

A úlcera péptica constitui uma desordem do trato gastrointestinal que afeta milhões de pessoas em todo o mundo, e têm sido, há bastante tempo, uma das causas mais importantes de morbidade e mortalidade³. O tratamento de úlceras gástricas é de alto custo, não sendo acessível à grande parte da população. Dessa forma, constitui ainda um grande desafio e torna-se necessário o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos mais eficazes, menos tóxicos e de baixo custo.

O girassol é uma planta originária do México e cresce bem na Europa Central e na Rússia Meridional, necessitando de muito sol e de umidade. As suas sementes possuem em seu óleo, ácido oléico e uma grande abundância de ácidos graxos insaturados, especialmente o ácido linoléico, que melhoram a quimiotaxia de leucócitos polimorfonucleares após lesão tecidual⁴.

Vale, portanto mencionar, que os benefícios cicatrícios e as ações do óleo de girassol rico em triglicerídeos de cadeia média confirmaram-se como a base para o desenvolvimento de compostos promotores da aceleração no processo de cicatrização de lesões de pele e mucosas^{5,6}.

É importante destacar que os riscos de lesões gástricas em pacientes que utilizam anti-inflamatório não esteroide (AINES) convencionais são altos, devido aos seus efeitos colaterais decorrentes da inibição da biossíntese de prostaglandinas gástricas, que funcionam como substâncias de proteção da mucosa. A indometacina foi introduzida em 1963, é um potente anti-inflamatório inibidor não seletivo da ciclo-oxigenase constitutiva presente no corpo e é responsável por funções fisiológicas importantes⁷.

Após a ingestão do etanol, a maior parte do álcool é absorvida pelo intestino delgado (80%) e estômago (20%), e são rapidamente distribuídos pelo organismo devido à sua alta solubilidade em água. Assim, os AINES quando combinados com o consumo agudo de álcool, podem aumentar os riscos para o sangramento gastrointestinal por lesões à mucosa gástrica e aumento no tempo de sangramento⁸.

O emprego do *Helianthus annuus* na medicina popular tem sido ancorado em sua propriedade citoprotetora gástrica, justificando a necessidade de estudos científicos que comprovem tal fato.

O objetivo deste estudo foi avaliar a proteção gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol (EHSG) em relação ao estresse, ao uso de indometacina e etanol.

MÉTODOS

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade José do Rosário Vellano de Alfenas (protocolo nº 04 A/2009), realizou-se este estudo no Laboratório de Fitofármacos da UNIFENAS, respeitando-se a Legislação Brasileira de Animais de Experimentação regulamentada pela Lei Federal 6.638/1979. Todo o experimento obedeceu aos princípios éticos em experimentação animal, preconizados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizadas 90 ratas (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, fêmeas, com peso corporal médio de 150-230 g, provenientes do Biotério Central da UNIFENAS. Após desmame os animais foram tratados com água e ração *ad libitum* e mantidos com controle de temperatura a 25° e 12h no ciclo claro/escuro, em caixas de polipropileno adequadas à sua manutenção.

Os ratos foram divididos em 18 grupos distintos, os quais receberam os seguintes tratamentos: EHSG nas doses de 250 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg e 2000 mg/kg, etanol 0,5 mL; cimetidina 60 mg/kg; indometacina 20 mg/kg; e água 1 mL; grupos que foram submetidos à associação da cimetidina com etanol e indometacina; as 4 doses do EHSG com etanol 70% e indometacina; grupos submetidos à ligadura pilórica e administração de água, cimetidina, e as 4 doses de EHSG.

As lesões gástricas nos ratos foram induzidas por etanol, segundo o modelo descrito por Robert e col.⁹; por indometacina, conforme relatado por Djahanguiri¹⁰, e pelo estresse, descrito por Takagi e Okabe¹¹.

Para testar a atividade protetora gástrica do extrato da semente do girassol, o mesmo foi administrado por via oral (gavagem) nas doses de 250, 500, 1000 e 2000 mg/kg, após jejum de 12 horas e água *ad libitum*. Após uma hora do pré-tratamento, foi administrado etanol 70% (0,5 mL/animal, v.o.). Seis horas depois da administração do etanol, os animais foram eutanasiados na câmara de CO₂ e a parede abdominal ficou exposta, sendo o estômago localizado e removido. Após a remoção, o estômago foi mantido em placa de Petri, lavado com água destilada e aberto ao longo da curvatura menor. O conteúdo gástrico foi desprezado, a mucosa lavada delicadamente com água destilada e esticada em placa de isopor. Depois deste procedimento, as mucosas foram fotografadas e introduzidas no programa *ImageLab* onde se verificou a quantidade e a área de cada lesão e a área total de cada mucosa.

O mesmo procedimento ocorreu em outros grupos, administrando-se a indometacina 20 mg/kg, também por gavagem.

As lesões gástricas por estresse foram induzidas seguindo-se o método onde cada rata ficou imobilizada em um compartimento individual (tubo contensor), e a seguir imersa verticalmente, até o nível da região xifoide, em um reservatório contendo água corrente à temperatura de 25° C onde permaneceriam por 6 horas após terem sido submetidas a um jejum de 12 horas com água *ad libitum*. Após este período, os animais foram retirados do tubo contensor e submetidos à eutanásia.

Para determinação do índice de úlceras, após fotografia dos estômagos dos animais tratados e os controles, foi determinado o índice de lesões com auxílio do programa *ImageLab*[®], pela contagem e obtenção das medidas da área de cada lesão e área total das respectivas mucosas gástricas.

As análises estatísticas foram analisadas utilizando o Programa GraphPad Prism 5. Empregaram-se os seguintes testes estatísticos para análise das lesões no estômago: a Análise de Variância (ANOVA) e Comparação múltipla com o teste de Tukey (testes paramétricos). Considerando-se o nível de significância de 5%, ou seja, os dados foram estatisticamente significantes para $p < 0,05$.

RESULTADOS

Pode-se observar pelos dados da tabela 1, referente o efeito do EHSG sobre as lesões gástricas induzidas por estresse em ratas que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados ($p = 0,0075$). O girassol nas doses de 500 e 2000 mg apresentaram os maiores valores de média; 23,80 e 25,23, respectivamente, tendo significância estatística com o controle (cimetidina) ($p > 0,05$). Enquanto o girassol nas doses de 250 e 1000 mg apresentaram médias de 12,56 e 11,96; respectivamente, não havendo diferença estatisticamente significativa com nenhum controle (água ou cimetidina) ($p > 0,05$). Dessa forma, o girassol nas doses de 250 mg e 1000 mg apresenta efeito protetor sobre a mucosa gástrica.

Tabela 1 - Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol sobre as lesões gástricas induzidas por estresse em ratas.

Grupos	Estatística Descritiva*			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	17,80 ± 19,5	11,60	2,45	124,63
Cimetidina	4,16 ± 4,5	3,24	0,53	21,52
Girassol (250 mg)	12,56 ± 9,2	8,78	2,03	29,89
Girassol (500 mg)	23,80 ± 34,1 **	7,12	0,56	145,82
Girassol (1000 mg)	11,96 ± 13,5	7,14	0,19	72,53
Girassol (2000 mg)	25,23 ± 43,4 **	8,14	0,28	151,53

*Aplicação da ANOVA: valor- $p = 0,0075$

**Comparação múltipla (teste de Tukey): $p < 0,05$ versus controle (cimetidina)

Pela comparação múltipla (teste de Tukey) não houve diferença estatisticamente significativa dos grupos com o controle (água) ($p > 0,05$).

Com referência ao efeito do EHSG sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em ratas (Tabela 2), é possível verificar que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados ($p = 0,0862$). O girassol nas doses de 250 mg e 1000 mg apresentou os menores valores de média; 21,76 e 22,54; respectivamente. Enquanto os maiores valores de média foram encontrados no girassol com dose de 500 mg (28,23) e 2000 mg (29,85).

Tabela 2 - Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol sobre as lesões gástricas induzidas por etanol em ratas.

Grupos	Estatística Descritiva*			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	21,51 ± 23,2	13,85	1,84	136,63
Etanol	38,42 ± 62,3	17,86	0,51	352,63
Cimetidina e etanol	19,75 ± 15,2	15,96	3,42	76,93
Girassol 250 mg e etanol	21,76 ± 17,5	15,14	0,58	85,83
Girassol 500 mg e etanol	28,23 ± 32,3	15,52	0,49	156,13
Girassol 1000 mg e etanol	22,54 ± 21,4	14,86	2,35	101,84
Girassol 2000 mg e etanol	29,85 ± 37,4	16,27	1,48	212,52

*Aplicação da ANOVA: valor de $p = 0,0862$

Pela comparação múltipla (teste de Tukey) não houve diferença estatisticamente significativa dos grupos com os controles (água, etanol e cimetidina) ($p > 0,05$).

Com relação ao efeito do EHSG sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em ratas pode verificar que houve diferença estatisticamente entre os grupos avaliados ($p < 0,0001$) (Tabela 3). O girassol na dose de 250 mg apresentou o menor valor de média (7,97) e nas demais doses encontradas os maiores valores de média. Ao realizar a comparação múltipla entre os grupos, observa-se

que o girassol 250 mg apresentou diferença significativa com o controle (indometacina) ($p < 0,05$) e o girassol nas doses de 500, 1000 e 2000 mg apresentaram diferença estatisticamente significativa com o grupo controle (cimetidina e indometacina) ($p < 0,05$) (Tabela 3). Assim, o girassol (250 mg) apresenta efeito protetor sobre a mucosa gástrica, como foi encontrado também no modelo induzido pelo estresse (Tabela 1).

Tabela 3 - Efeito do extrato hidroalcoólico da semente de girassol sobre as lesões gástricas induzidas por indometacina em ratas.

Grupos	Estatística Descritiva*			
	Média ± DP	Mediana	Mínimo	Máximo
Água	18,83 ± 20,4	11,85	1,34	128,63
Indometacina	25,67 ± 15,7	10,56	0,54	136,37
Cimetidina e indometacina	8,04 ± 1,9	4,96	0,38	78,64
Girassol 250 mg e indometacina	7,97 ± 8,1 **	5,84	0,37	67,37
Girassol 500 mg e indometacina	24,58 ± 34,2 ***	14,37	0,59	183,64
Girassol 1000 mg e indometacina	19,96 ± 17,6 ***	14,67	0,48	82,87
Girassol 2000 mg e indometacina	24,13 ± 38,5 ***	8,75	0,53	176,37

*Aplicação da ANOVA: valor- $p < 0,0001$

**Comparação múltipla (teste de Tukey): $p < 0,05$ versus controle (indometacina)

***Comparação múltipla (teste de Tukey): $p < 0,05$ versus controle (cimetidina e indometacina)

Pela comparação múltipla (teste de Tukey) não houve diferença estatisticamente significativa dos grupos com o controle (água) ($p > 0,05$).

DISCUSSÃO

As úlceras provocadas por estresse ocorrem por fatores psicológicos e fisiológicos¹². O estresse induz a peroxidação de lipídeos a partir do aumento dos níveis de peroxidase lipídica. A consequência desse processo é o aumento da geração de espécies livres de oxigênio reativo ocasionando, lesão oxidativa que é considerada fator comum na patogenia de diferentes modelos experimentais e clínicos de úlcera¹³⁻¹⁵.

Neste contexto, é importante destacar que existem evidências sólidas que indicam que o estresse fisiológico gera úlcera gástrica e prejudica a resposta ao tratamento. Dessa forma, esse estresse funciona como um cofator para a formação de úlcera gástrica¹⁶. No presente estudo, as lesões gástricas em animais submetidos ao estresse diminuíram significativamente, em relação ao controle cimetidina, quando os mesmos foram tratados com EHSG nas doses de 250 e 1000 mg/kg com cimetidina, 12,56 ± 9,2, 11,96 ± 13,5 respectivamente; essas doses protegem contra as lesões gástricas no estresse (Tabela 1).

Esses achados são corroborados com os resultados encontrados por Oliveira e col.¹⁷ que usando metodologia semelhante, verificou o efeito do EHSG sobre lesões gástricas induzidas por estresse em ratos *Wistar* machos. Esse estudo mostrou que não existem diferenças expressivas neste modelo de indução de lesões em ratos machos, mas indicou que as concentrações de 250 mg/kg e 1000 mg/kg do EHSG, apresentaram efeito protetor sobre a mucosa gástrica.

O etanol é considerado um agente irritante da mucosa gástrica, o

qual destrói a camada de muco e de bicarbonato, que atuam na proteção da mucosa gástrica contra o ácido clorídrico e outros agentes agressores. Ele também atua bloqueando a citoproteção gástrica por precipitação das proteínas, liberação de radicais livres e redução da concentração de compostos sulfidrilas nas células da mucosa¹⁸.

As lesões gástricas induzidas por etanol podem também ser associadas à produção excessiva de radicais livres, que atacam constituintes celulares essenciais como ácidos nucleicos, proteínas e lipídeos¹⁹. O aumento do conteúdo de peróxidos lipídicos e radicais livres derivados de oxigênio resulta em alterações significativas em nível celular, causando danos às membranas, morte celular, esfoliação e erosão epitelial³.

Na pesquisa¹⁷, o uso do EHSG em úlceras induzidas por etanol em ratos machos, não apresentou diferenças estatísticas significantes entre os quatro grupos. No entanto, as concentrações de 250 e 1000 mg indicaram menores valores de média quando comparados com outras doses, demonstrando que, assim como no modelo de úlcera induzido por estresse, nessas duas concentrações, ocorreram maior proteção contra as úlceras gástricas. Cabe ressaltar que o modelo de indução de úlceras frente ao uso de etanol também obteve resultados semelhantes entre machos e fêmeas.

Os riscos de lesões gástricas em pacientes que utilizam AINES convencionais, como a indometacina são altos. Esse fato deve-se aos seus efeitos colaterais decorrentes da inibição da biossíntese de prostaglandinas gástricas, que funcionam como substâncias de proteção da mucosa²⁰.

Ainda nesse contexto, o efeito colateral mais conhecido dos AINES é a lesão provocada à mucosa gástrica. Essa lesão pode ocorrer por dois mecanismos distintos. O primeiro é a conhecida inibição das enzimas ciclo-oxigenases, diminuindo assim a produção de prostaglandinas endógenas, como já mencionado. O segundo consiste na formação de um gradiente de íons que favorecem o influxo de H⁺ para dentro das células da mucosa gástrica com o efluxo de K⁺ e Na⁺ para o lúmen, resultando em mudanças na permeabilidade celular e conseqüentemente, lesão celular²¹.

De acordo com resultados já apresentados, em comparativo com os achados encontrados, houve maior proteção às ulcerações provocadas pelo modelo de indometacina com o EHSG na dose de 250 mg, tanto nos estudos que utilizaram machos como nos de fêmeas, confirmando com isto, que as diferenças fisiológicas sexuais, não provocaram alterações nas respostas nos dois estudos¹⁷.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que o efeito do EHSG não é eficaz somente em ratos machos. Contudo, apresenta proteção contra as lesões gástricas em ratas, nas doses de 250 e 1000 mg, tanto no modelo pelo estresse, quanto na indução por etanol e indometacina.

Pelo fato do alto custo do tratamento de úlceras gástricas e não acessível à grande parte da população, os resultados da presente pesquisa tornam esta planta interessante objeto de estudo, visando não só o desenvolvimento de fitomedicamentos com ação antiulcerogênica, como também novos agentes terapêuticos eficazes, menos tóxicos e de baixo custo.

REFERÊNCIAS

1. Fonte NNA. Complexidade das plantas medicinais: enfoque farmacêutico. In: Correia JRC, Graça LR, Sceffer MC, (editores). Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no Estado do Paraná – diagnóstico e perspectivas. Curitiba: EMATER; 2004. p. 24-45.
2. Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci* 2005;78(5):431-41.
3. Birdane FM, Cemek M, Birdane YO, et al. Beneficial effects of *Foeniculum vulgare* on ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rats. *World J Gastroenterol* 2007;13(4):607-11.
4. Marques SR, Peixoto CA, Messias JB, et al. Efeitos da aplicação tópica de óleo de sementes de girassol em feridas cutâneas, em carneiros. *Acta Cir Bras* 2004;19(3):196-211.
5. Declair V, Carmona M. Ácidos graxos essenciais: protetores celulares dos mecanismos agressivos da lesão hipóxica. São Paulo: Dermatológica Atual; 1994. p. 78-81.
6. Jczyk PF, Haskins ME, Patterson D, et al. Mucopolysaccharidosis in a cat with arylsulfatase B deficiency: a model of Maroteaux-Lamy syndrome. *Science* 1997;198(4319):834-6.
7. Süleyman H, Demircan B, Karagöz Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. *Pharmacol Rep* 2007;59(3):247-58.
8. Emanuele MA, Wezeman F, Emanuele NV. Alcohol's effects on female reproductive function. *Alcohol Res Health* 2002;26(4):274-81.
9. Robert A, Nezamis JE, Lancaster C, et al. Cytoprotection by prostaglandins in rats. Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology* 1979;77(3):433-43.
10. Djahanguiri B. The production of acute gastric ulceration by indomethacin in the rat. *Scand J Gastroenterol* 1969;4(3):265-7.
11. Takagi K, Okabe S. The effects of drugs on the production and recovery processes of the stress ulcer. *Jpn J Pharmacol* 1968;18(1):9-18.
12. Miller TA. Mechanism of stress-related mucosal damage. *Am J Med* 1987;83(1):8-14.
13. Goel RK, Bhattacharya SK. Gastrointestinal mucosal defense and mucosal protective agents. *Indian J Exp Biol* 1991;29(8):701-14.
14. Goel RK, Pathak NK, Biswas M, et al. Effect of lapachol, a naphthoquinone isolated from *Tectona grandis*, on experimental peptic ulcer and gastric secretion. *J Pharm Pharmacol* 1987;39(2):138-40.
15. Sairam K, Rao ChV, Babu MD, et al. Antiulcerogenic effect of methanolic extract of *Embliba officinalis*: an experimental study. *J Ethnopharmacol* 2002;82(1):1-9.
16. Levenstein S. Stress and peptic ulcer: life beyond *Helicobacter*. *BMJ* 1998;316(7130):538-41.
17. Oliveira JA, Costa AMDD, Terra FS, et al. Avaliação da atividade protetora gástrica do extrato hidroalcoólico da semente de girassol. *Rev Bras Clin Med* 2010;8(2):129-34.
18. Pacheco MTB, Bighetti E, Antônio M, et al. Effects of a whey protein concentrate and its peptides in the protection of ulcerative lesions at rat gastric mucosa. *Rev Nutr* 2006;19(1):47-55.
19. La Casa C, Villegas I, Alarcón de la Lastra C, et al. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacol* 2000;71(1-2):45-53.
20. Kummer CL, Coelho TC. Cyclooxygenase-2 inhibitors nonsteroid anti-inflammatory drugs: current issues. *Rev Bras Anestesiologia* 2002;52(4):498-512.
21. Glavin GB, Szabo S. Experimental gastric mucosal injury: laboratory models reveal mechanisms of pathogenesis and new therapeutic strategies. *FASEB J* 1992;6(3):825-31.