

## **EFEITO PROTETOR DOS MEDIADORES GASOSOS (NO E H<sub>2</sub>S) NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ALENDRONATO EM RATOS**

*Renan Oliveira Silva (bolsista, PIBIC), Lucas Antonio Duarte Nicolau (colaborador, UFPI – CMRV), Marcellus Henrique Loiola Ponte de Souza (Colaborador, UFC – CE), Jand-Venes Rolim Medeiros (Orientador, Depto de Biologia – UFPI – CMRV)*

### **Introdução**

O alendronato é um bifosfonato primário usado no tratamento de doenças relacionadas ao remodelamento ósseo, como a osteoporose e a doença de Paget's (SIRIS et al., 1996). Entretanto, esses compostos podem causar sérios efeitos adversos nos pacientes, incluindo úlcera, inflamação gástrica, náuseas e dor abdominal, embora o mecanismo subjacente a estas reações permaneça desconhecido (GRAHAM et al., 2002). Atualmente, está bem estabelecido que independentemente da etiologia da úlcera, sua formação ocorre quando há um desequilíbrio entre os fatores de defesa da mucosa e fatores agressivos, que compreendem os agentes químicos endógenos ou exógenos (DEMBINSKI et al., 2005). Dentre as moléculas importantes para manutenção da integridade da mucosa gástrica se destaca os mediadores gasosos, como o óxido nítrico (NO) e o sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S). Esses gases estão entre os mais importantes mediadores biológicos no corpo humano, participando de inúmeros processos fisiológicos e patológicos (FIORUCCI et al., 2005).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito gastroprotetor dos mediadores gasosos (NO e H<sub>2</sub>S) na lesão gástrica induzidas por alendronato, além investigar os possíveis mecanismos envolvidos neste efeito.

### **Metodologia**

Ratos Wistar foram inicialmente tratados, por gavagem, com uma droga doadora de NO (Nitroprussiato de sódio: 10 mg/kg, v.o) ou uma droga doadora de H<sub>2</sub>S (Reagente de Lawesson's: 27 µmol/kg, v.o) uma vez por dia durante quatro dias. Após 30 minutos, os animais receberam alendronato (30 mg/kg, pH 7.0, v.o) sozinho ou após o tratamento com os doadores de NO ou H<sub>2</sub>S (AIHARA et al., 2007). No quarto dia de tratamento, os animais foram sacrificados e os estômagos removidos e abertos ao longo da grande curvatura. As lesões macroscópicas foram medidas utilizando um programa de planimetria computadorizado (Software IMAGE J<sup>®</sup>) a partir das imagens digitais captadas com um referencial métrico. Amostras do estômago foram coletadas e congeladas a -80°C para posteriores dosagens de citocinas, mieloperoxidase, glutatona e malondialdeído, que são parâmetros importantes da lesão por alendronato.

### **Resultados e Discussão**

No presente trabalho foi observado que a administração de alendronato (30 mg/kg, uma vez por dia, durante 4 dias) promove lesões macroscópicas na mucosa gástrica (38,68±7,20 mm<sup>2</sup>). Entretanto quando os animais foram pré-tratados com Nitroprussiato de sódio (10,80±2,67 mm<sup>2</sup>) ou Reagente de Lawesson's (18,13±5,30 mm<sup>2</sup>) as lesões macroscópicas causadas pelo alendronato foram reduzidas de forma significativa (p<0,05).

O mecanismo pelo qual o alendronato e outros bisfosfonatos causam lesões na mucosa não foi claramente esclarecido. Tem sido demonstrado que a acumulação de neutrófilos e edema subepitelial na mucosa gástrica são importantes para o desenvolvimento de úlcera (WALLACE et al., 1999) e que a redução destes mediadores é de extrema importância para a redução de danos nos tecidos. O último efeito está associado com o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  (THIEBAUD et al., 1997; YAMAGUCHI et al., 2000).

No presente estudo, a administração de alendronato promoveu aumento dos níveis das citocinas pró-inflamatórias, TNF- $\alpha$  (2311,0 $\pm$ 302,3 pg/mL) e IL-1 $\beta$  (901,9 $\pm$ 106,2 pg/mL), e da atividade de MPO (49,78 $\pm$ 6,77 U de MPO/mg de tecido) na mucosa gástrica, em acordo com estudos anteriores (OHASHI et al., 2009; SENER et al., 2005), em conjunto, esses dados indicam a contribuição da infiltração de neutrófilos e o impacto de citocinas pró-inflamatórias nos danos gástricos oxidativo induzido por alendronato.

Entretanto, o Nitroprussiato de Sódio inibiu, de forma significativa, o aumento da atividade da MPO (31,84  $\pm$  2,55 U de MPO/mg de tecido), e aboliu a resposta das citocinas TNF- $\alpha$  (1592,0  $\pm$  225,3 pg/mL) e IL-1 $\beta$  (549,8  $\pm$  60,90 pg/mL) de forma concomitante. Por outro lado, o Reagente de Lawesson's não inibiu o aumento da atividade da MPO (45,36  $\pm$  4,43 U de MPO/mg de tecido), porém também aboliu a resposta das citocinas TNF- $\alpha$  (1483,0  $\pm$  150,2 pg/mL) e IL-1 $\beta$  (700,9  $\pm$  77,24 pg/mL). Tem sido demonstrado que esses mediadores podem interferir com os processos inflamatórios por diminuir a lesão do tecido induzida por neutrófilos. Um dos mecanismos que tem sido sugerido é a indução de apoptose em neutrófilos (FIORUCCI et al., 2005).

Tem sido sugerido que os radicais livres derivados do oxigênio (ROS) podem contribuir para as lesões da mucosa gástrica induzidas por alendronato, e assim, depletar os níveis de GSH no estômago (SENER et al., 2005). Nossos resultados mostraram que a administração de Nitroprussiato de sódio ou Reagente de Lawesson's revertem a diminuição dos níveis gástricos de GSH (471,6 $\pm$ 45,27 mg de NPSH/g e 397,9 $\pm$ 40,20 mg de NPSH/g de tecido, respectivamente) quando comparados aos animais que receberam apenas alendronato (180,3 $\pm$ 21,95 mg de NPSH/g de tecido). Assim, esses mediadores podem funcionar através da diminuição do estado redox da gastropatia induzida por alendronato.

Portanto, outra possibilidade é a de que um aumento nos níveis de GSH poderia ser secundário a uma diminuição da produção de radicais livres. Os resultados demonstraram que o pré-tratamento com Nitroprussiato de sódio ou Reagente de Lawesson's resultou numa diminuição significativa nos níveis de MDA (85,62  $\pm$  3,685  $\pm$  78,47  $\pm$  7,636 nmol/g de tecido) quando comparados ao grupo alendronato (121,1  $\pm$  4,297 nmol/g de tecido).

## Conclusão

- ✓ Os mediadores gasosos, Óxido Nítrico (NO) e Sulfeto de Hidrogênio (H<sub>2</sub>S) exercem efeito gastroprotetor na lesão induzida por alendronato em ratos.
- ✓ O efeito protetor desses mediadores na gastropatia induzida por alendronato é dependente em parte da ação antioxidante, por diminuir a peroxidação lipídica e o consumo de GSH.

- ✓ O efeito protetor do NO e do H<sub>2</sub>S na gastropatia induzida por alendronato é dependente em parte de ação antiinflamatória, os quais foram observados uma diminuição da infiltração de células inflamatórias para o sítio inflamado, bem como a inibição de citocina pró-inflamatórias.

### Referências Bibliográficas

1. AIHARA, E., HAYASHI, S., AMAGASE, K.S., KATO, K. Prophylactic effect of rebamipide against the irritative and healing impairment actions of alendronate in rat stomachs. *Inflammopharmacology*, 15:196–202, 2007.
2. DEMBINSKI, A., WARZECHA, Z., CERANOWICZ, P., BRZOZOWSKI, T., DEMBINSKI, M., KONTUREK, S.J., PAWLIK, W.W. Role of capsaicin sensitive nerve and histamine, H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub> and H<sub>3</sub> receptors in the gastroprotective effect of histamine against stress ulcer in rats. *European Journal of Pharmacology*, 508:211-222, 2005.
3. FIORUCCI, S., ANTONELLI, E., DISTRUTTI, E., RIZZO, G., MENCARELLI, A., ORLANDI, S., ZANARDO, R., RENGHA, B., DI SANTE, M., MORELLI, A., CIRINO, G., WALLACE, J.L. Inhibition of hydrogen sulfide generation contributes to gastric injury caused by anti-inflammatory nonsteroidal drugs. *Gastroenterology*, 129:1210–1224, 2005.
4. GRAHAM, D.Y. What the gastroenterologist should know about the gastrointestinal safety profiles of bisphosphonates. *Digestive Diseases and Sciences*, 47:1665–1678, 2002.
5. OHASHI, Y., AIHARA, E., TAKASUKA, H., TAKAHASHI, K., TAKEUCHI, K. Antral ulcers induced by alendronate, a nitrogen-containing bisphosphonate, in rat stomachs: prophylactic effect of rebamipide. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 60: 85-93, 2009.
6. SENER, G., KAPUCU, C., CETINEL, S., CIKLER, E., AYANOGLU-DÜLGER, G. Gastroprotective effect of leukotriene receptor blocker montelukast in alendronate-induced lesions of the rat gastric mucosa. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 72:1–11, 2005.
7. SIRIS, E., WEINSTEIN, R.S., ALTMAN, R., CONTE, J.M., FAVUS, M., LOMBARDI, A., LYLES, K., MCILWAIN, H., MURPHY, W.A., JR, REDA, C., RUDE, R., SETON, M., TIEGS, R., THOMPSON, D., TUCCI, J.R., YATES, A.J., ZIMMERING, M. Comparative study of alendronate versus etidronate for the treatment of Paget's disease of bone. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 81:961-967, 1996.
8. THIEBAUD, D., SAUTY, A., BURCKHARD, P., LEUENBERGER, P., SITZLER, L., GREEN, J.R., KANDRA, A., ZIESCHANG, J., IBARRA DE PALACIOS, P. An in vitro and in vivo study of cytokines in the acute-phase response associated with bisphosphonates. *Calcified Tissue International*, 61:386-392, 1997.
9. WALLACE, J.L., DICAY, M., MCKNIGHT, W., BASTAKI, S., BLANK, M.A. N-bisphosphonates cause gastric epithelial injury independent of effects on the microcirculation. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 13:1675-1682, 1999.
10. YAMAGUCHI, K., MOTEGI, K., IWAKURA, Y., ENDO, Y. Involvement of interleukin-1 in the inflammatory actions of aminobisphosphonates in mice. *British Journal of Pharmacology*, 130:1646-1654, 2000.

**Palavras-chave;** *Sulfeto de Hidrogênio. Óxido Nítrico. Alendronato.*