

**EFEITO DO ETANOL E DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO INTRAGÁSTRICO
SOBRE A MUCOSA GÁSTRICA DE RÃ (*Rana catesbeiana*, SHAW)**

**EFFECT OF INTRAGASTRIC ETHANOL AND HYDROGEN PEROXIDE IN FROG
GASTRIC MUCOSA (*Rana catesbeiana*, SHAW)**

Hidê Virgínia Estivallet, Maria Inês Rodrigues, Norma Possa Marroni

Departamento de Fisiologia, Laboratório de Fisiologia Digestiva, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil

ABSTRACT

This work investigated the frog gastric mucosa response to hydrogen peroxide and ethanol induced injury. Acid and mucus secretion were estimated "in vitro" in control animals with intragastric absolute ethanol (1ml/30min. or 2ml/60min.) and hydrogen peroxide. The gastric mucosa morphological conditions were assessed "in vivo", concerning lesion area, pH and mucus. Ethanol (1ml/30min.) was observed to cause hyperemia, cell damage, rupture, edema, erosions, necrosis in gastric mucosa and significant increase in acid secretion. Absolute ethanol (2ml/60min.) caused a decrease in acid secretion due to alcalinization and an increase of mucus and pH. Intragastric hydrogen peroxide provoked gastric unwrinkling and hyperemia, acid secretions were not increased, mucus fragmented and the pH was decreased. The results indicate an increase of mucus and acid in response to ethanol and unwrinkling and hyperemia to hydrogen peroxide.

Key words: Gastric acid secretion, mucus, ethanol, hydrogen peroxide, frog.

INTRODUÇÃO

A mucosa gástrica isolada de leitões tem sido usada em preparações para análises eletrofisiológicas e farmacológicas objetivando o estudo detalhado da secreção de HCl, (FORTE & MACHEN, 1975). Estudos "in vitro" de mucosa gástrica de diferente espécies de mamíferos também tem se apresentado com variável sucesso.

As avaliações da mucosa gástrica de anfíbios, mostraram que, em temperatura de 26°C e PO₂ de 2000 mm de Hg, a mucosa isolada de sapo (*Bufo paracnemis*) exibe uma secreção espontânea de HCl e pepsina (GONZAGA & ALZAMORA, 1981 ; GONZAGA, 1980; GONZAGA & ALZAMORA, 1979; GONZAGA et al, 1979). A mucosa gástrica de sapo (gênero *Bufo*) secreta

ácido e pepsina uniformemente em temperatura ambiente de 18 °C a 32 °C, ao longo do ano. Foi evidenciado que, na mucosa gástrica de sapo (*Bufo paracnemis*), a acetilcolina e a histamina estimulam a secreção ácida. A secreção de ácido estimulada pela histamina é bloqueada pela cimetidina; a secreção ácida estimulada pela acetilcolina é bloqueada pela atropina, indicando a presença de receptores histaminérgicos e colinérgicos da mucosa (GONZAGA, 1986). Foi observado que a histamina age na mucosa, estimulando a adenilciclase nas membranas das células parietais (oxintopépticas nos anfíbios), como parte do receptor histaminérgico (BARROS NETO, 1988).

A barreira que protege a mucosa de autodigestão pelo suco gástrico é um dinâmico sistema de multicomponente. A camada epitelial, fornece uma barreira permeável, podendo reparar rapidamente danos superficiais por um processo de migração celular, correspondendo a reepitelização ou reconstituição. A vascularização abundante propicia um suprimento de HCO_3^- por transporte transcelular e/ou difusão na camada de muco (ALLEN et al, 1993). O muco gel atua como barreira física contra a pepsina luminal e fornece uma camada estável que possibilita, na superfície, a neutralização do ácido pelo HCO_3^- . O muco secretado pela superfície das células epiteliais e das células mucosais de pescoço tem importante função como lubrificante; uma armadilha para micróbios (WALLACE, 1989).

O muco é considerado por ZATERKA, 1993 como um fator defensivo pré-epitelial, recobrando o epitélio de revestimento juntamente com o bicarbonato secretado pelas células de revestimento e com os fosfolipídeos, dispostos logo acima da membrana celular, responsáveis pela propriedade hidrófoba da superfície. O muco existe sob duas formas: o aderente e o solúvel.

Uma das funções da camada de muco que reveste o sistema gástrico é o recolhimento de radicais livres, altamente reativos derivados de oxigênio. Esse evento fornece proteção antioxidante para as camadas abaixo das células mucosas epiteliais impedindo as lesões oxidativas. Quando o muco que recolhe as espécies ativas é fragmentado, há redução da viscosidade e das propriedades gel. Sob condições normais, a secreção de muco recuperaria essa perda. As células das camadas inferiores seriam somente danificadas por uma forte agressão externa (HALLIWELL & GUTERRIEDGE, 1989).

O dano da mucosa do trato gastrintestinal pode ser provocado por agentes físicos (água quente, irradiação), químicos (HCl , Ca(OH)_2 , NaCl concentrado, etanol concentrado,

drogas antiinflamatórias não esteroidais, ácidos fracos e outros) numa variedade de circunstâncias experimentais e doenças ulcerosas (MÓSZIK et al, 1993).

Há muitas semelhanças entre lesões induzidas por etanol, e lesões gástricas, induzidas por agentes químicos e físicos. Há probabilidade de que o mecanismo de formação da lesão por agentes necrotizantes seja o mesmo (OATES & HAKKINEN, 1988).

Os objetivos do presente trabalho foram: Verificar a área lesada da mucosa gástrica de rã sob efeito de etanol 100% e de peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações intragástricas avaliando também a secreção ácida e o muco secretado; observar o aspecto macroscópico do estômago de rã, "in vivo" e o muco secretado em condições normais e sob a ação do etanol 100%, e do peróxido de hidrogênio, intragástrico.

MATERIAL E MÉTODOS

- Animais: Rãs (*Rana catesbeiana*, Shaw) de ambos os sexos, com peso médio de 80 gramas. Com 24 horas de jejum, mantidos à temperatura ambiente e à umidade constante, foram pesados e divididos nos seguintes grupos:

GRUPO I - Animais normais, controles. GRUPO II - Animais submetidos ao etanol 100% intragástrico - 1ml/30 minutos. GRUPO III - Animais submetidos ao etanol 100% intragástrico - 2ml/60 minutos. GRUPO IV - Animais submetidos ao peróxido de hidrogênio nas concentrações de 1mM, 2mM e 10mM (3 a 5ml/30 minutos)

Os animais do Grupo I eram descerebrados para estudo experimental. Os animais dos Grupos II e III, submetidos ao etanol 1 ml por 30 minutos e 2 ml por 60 minutos; os do Grupo IV, nas diferentes concentrações de H₂O₂, permaneciam em cubas e, após 30 minutos, eram descerebrados assim como os do Grupo I. No preparo da solução nutritiva para os experimentos, usava-se a solução de Ringer tamponado com fosfato, pH=7,4. A partir de uma solução estoque A e B, acrescida de glicose para uso.

Para a composição do Ringer em mMol/l foram utilizadas as seguintes substâncias: NaCl 92; KCl 8; CaCl₂ 2H₂O 1,3; MgSO₄ 1,2; KH₂PO₄ 12,3; Glicose 11. pH = 7,4

A mucosa gástrica de rã era preparada segundo o método de DAVENPORT & CHAVRÉ, 1952 . De acordo com o protocolo experimental (controle - etanol 100% e peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações), os estômagos eram expostos, isolados e feita a

remoção das camadas musculares por divulsão. A seguir, a extremidade pilórica era ligada e preenchida com Ringer (3,0 a 5,0 ml). Ligava-se também a parte superior do estômago (cárdia) e incubando-se a preparação sob agitação contínua em câmara de incubação com uma mistura de O₂ : CO₂ na proporção de 95:5 (v/v) com uma pressão de 2000 mm/ Hg, em temperatura de 26 °C, durante 30 minutos em um banho tipo Dubnoff . Após esse período, o conteúdo que estava em contato com a mucosa, era colocado num becker de 10 ml e posteriormente esse conteúdo era utilizado para determinar a quantidade de H⁺ secretado.

Obtenção do peso úmido e do peso seco

Depois de retirado o excesso do líquido da mucosa, colocava-se a mesma em um becker de 10 ml e fazia-se a pesagem. O valor determinado menos o peso do becker era igual ao peso úmido. O becker contendo a mucosa era levado a estufa por 18 horas, em temperatura de 105 °C. Após esse tempo, procedeu-se uma nova pesagem . O peso seco era obtido retirando-se o peso do becker, do peso do becker mais a mucosa seca.

Observação dos aspectos morfológicos da mucosa gástrica

Os aspectos morfológicos foram observados nas condições experimentais previstas com etanol 100% (1ml/30 minutos, 2ml/60 minutos) e peróxido de hidrogênio (10mM/30 minutos), "in vivo", com Microscópio Esteroscópico Zeiss.

Administração do etanol e de peróxido de hidrogênio sobre a mucosa gástrica

O etanol 100% era administrado intragastricamente (1ml a 2ml), 30 ou 60 minutos antes do experimento. Da mesma maneira administrou-se peróxido de hidrogênio em diferentes concentrações (1mM, 2mM ou 10 mM) 30 minutos antes do experimento. A seguir, os animais são descerebrados, seus estômagos expostos e isolados. A mucosa foi lavada, o piloro foi ligado e a mucosa gástrica foi preenchida com solução nutritiva de Ringer (pH = 7,4); após ligava-se a cárdia e a preparação era incubada sob agitação contínua por 30 minutos. Após esse período, a mucosa foi removida do banho, seu conteúdo colocado em um becker de 10ml para determinar a quantidade de H⁺ secretado. Animais nessas mesmas condições experimentais são avaliados quanto à área de lesão da mucosa gástrica e de muco secretado.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como médias \pm erro padrão da média (EMP) de (n) valores.

A comparação entre os grupos foi realizada em amostras não pareadas, adotando-se o teste "t" de Student. Valores de p menores que 0,05 foram considerados significativos.

RESULTADOS

Tabela I - Secreção ácida de rã (*Rana catesbeiana*, SHAW) sob o efeito do etanol 100%, intragástrico (1ml/30min. e 2ml/60min.). (Verão, Outono).

| Condições Experimentais | Secreção Ácida \bar{X} $\mu\text{Eq}/\text{H}^+/\text{cm}^2/30'$ |
|--|---|
| Grupo I Controle | 50,1 \pm 6,7 (19) |
| Grupo II Etanol 100% (1ml/30 min.) | 83,6 \pm 28,3 * (08) |
| Grupo III Etanol 100% (2ml/60 min.) | Não apresenta secreção ácida (06) |

* A secreção ácida em rã sob o efeito de etanol 100% intragástrico (1ml/30 min.) apresentou diferença significativa em relação ao controle, sendo $p < 0,05$. O etanol 100% 2ml/60 min. não apresentou secreção ácida.

Teste "t" de Student

Os dados apresentam média \pm EPM

() Número de animais.

Tabela II - Quantidade de muco secretado pela mucosa gástrica de rã, (*Rana catesbeiana*, SHAW), sob o efeito de etanol 100% intragástrico (1ml/30min. e 2ml/60min.) (Verão e Outono).

| Condições Experimentais | \bar{X} muco secretado (g) |
|--|------------------------------|
| Grupo I Controle | 0,02 ± 0,01 (6) |
| Grupo II Etanol 100% (1ml/30 min.) | 0,107 ± 0,06 (6) |
| Grupo III Etanol 100% (2ml/60 min.) | 0,178 ± 0,10 (6) |

A quantidade de muco secretado pela mucosa gástrica de rã frente ao Etanol 100% intragástrico 1ml/30 min e 2ml/60 min. difere significativamente do controle, sendo $p < 0,05$. Teste "t" de Student

Os dados apresentam Média + EPM

() N^o de animais

Quadro 1 - Avaliação macroscópica "in vivo" da mucosa gástrica de rã (*Rana catesbeiana*, SHAW) sob o efeito do etanol 100% e de peróxido de hidrogênio intragástrico.

| Grupos | I Controle | II etanol (1ml/30 min.) | III etanol (2ml/60 min.) | IV H ₂ O ₂ (10mM/30') |
|-------------------------------------|--------------------|-------------------------------|---------------------------------|---|
| Peso (g) | 80 | 80 | 80 | 80 |
| Área de lesão (mm ²) | -x- | 0,017 * (6) | 0,109 * (6) | Não se observa lesão |
| Muco (g) | 0,02 ± 0,01 (6) | 0,107 ± 0,06 (6) | 0,178 ± 0,10 (6) | 0,230 ± 0,04 (13) |
| Aspecto da M.G. | normal | hiperemia dilatação | hiperemia dilatação | hiperemia dilatação alisamento das pregas |
| Região da M.G. afetada | -x- | anterior | anterior fúndica pilórica | anterior fúndica pilórica |

M.G.=Mucosa Gástrica

* A área de lesão do grupo III é significativamente maior do que a do grupo II, sendo $p < 0,05$.

O muco secretado dos grupos II, III e IV é significativamente maior do que o do grupo controle, sendo $p < 0,05$.

O aspecto morfológico dos grupos II, III e IV apresenta-se modificado em relação ao grupo I.

As regiões da mucosa gástrica dos grupos III e IV são todas afetadas. No grupo I, somente a região anterior é afetada.

Teste “t” de Student

() N^o de animais

Tabela III - Secreção ácida e de muco em rã (*Rana catesbeiana*, SHAW), sob o efeito de peróxido de hidrogênio 1mM, 2mM e 10mM, intragástrico, “in vitro”. (Inverno).

| Condições Experimentais | Secreção Ácida $\mu\text{Eq}/\text{H}^+/\text{cm}^2$ | Muco (g) |
|------------------------------------|---|----------------------------|
| Grupo I Controle | $122,79 \pm 36,99$ (08) | $0,150 \pm 0,04$ (08) |
| Grupo IV Peróxido de Hidrogênio | | |
| 1 mM/30' | $112,76 \pm 28,19$ (12) | $0,210 \pm 0,05$ * (8) |
| 2mM/60' | $95,19 \pm 23,09$ (10) | $0,190 \pm 0,05$ * (11) |
| 10 mM/30' | $108,49 \pm 17,09$ (13) | $0,230 \pm 0,04$ * (13) |

A secreção ácida e o muco da mucosa gástrica de rã não apresentam diferença significativa nas diferentes concentrações de Peróxido de Hidrogênio estudadas.

Teste “t” de Student

* O aspecto do muco é menos viscoso do que o controle

Os dados apresentam MÉDIA \pm EPM

() Número de animais

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho respondem aos objetivos propostos inicialmente, no tocante à complementação e concretização de estudos relativos à secreção de ácido e de muco, lesão, hiperemia de mucosa gástrica de rã (*Rana catesbeiana*, SHAW), frente a agressores como o etanol e o peróxido de hidrogênio.

MIRALLA et al., 1994 usaram a mucosa gástrica de rã (*Rana catesbeiana*, SHAW) para estudos "in vitro" de secreção H^+ e de pepsina em resposta a uma variação sazonal e ao estresse osmótico e por éter, observando uma resposta diferenciada quanto a época do ano, jejum e estresse submetido.

Para estudo da avaliação de área total da mucosa gástrica, utilizaram a área do quadrado. Essa área foi aqui extrapolada e utilizada para mucosa da rã, a área do triângulo escaleno; com a aplicação da fórmula matemática de Herão, com valores obtidos de $2,055 \text{ cm}^2 \pm 0,34$ (FORTE & MACHEN, 1975).

Nos experimentos aqui efetivados em mucosa gástrica de rã (*Rana Catesbeiana*, SHAW), frente ao etanol 100%, 1ml durante 30 minutos "in vitro", intragástrico, foi observada uma elevação significativa de secreção ácida em relação ao controle ($p < 0,05$). Já com 2ml de etanol 100% durante 60 minutos, não há secreção de H^+ , devido à alcalinização do meio, estando o pH acima de 7,4 (TABELA I).

Quanto à alcalinização do meio, SAÁRIO et al., 1988 observaram, em seus experimentos com mucosa gástrica de rã, uma alcalinização da solução luminal com $\geq 30\%$ de etanol. Essa alcalinização é geralmente relacionada com o grau da concentração de etanol. Se a alcalinização decorre do HCO_3^- ou retrodifusão do H^+ de solução luminal não está bem claro, mas muitos autores fornecem a hipótese do vazamento do HCO_3^- através da superfície mucosal danificada (SAÁRIO et al., 1988). A secreção de HCO_3^- poderia mascarar a secreção ácida, porque, depois de expor mucosa de rato "in vivo" ao etanol 50% por 10 min., a histamina aumenta a secreção de ácido. A cessação da secreção H^+ ocorre quando a mucosa gástrica de rã é exposta ao etanol 20% ou concentrações maiores. O início da cessação se dá com o etanol 20% em cães, ratos e coelhos "in vivo". Quando a secreção de ácido cessa abruptamente e nenhuma alcalinização é observada, o efeito sugere a ação direta nas células parietais. Explicam que, mesmo expostas por um breve período ao etanol em altas concentrações, as células parietais não ficam permanentemente danificadas (ALLEN et al, 1993).

Em nossos experimentos com etanol 100% "in vitro" para observar a secreção ácida, foram obtidos dados de relevância quanto à secreção de muco pelas células epiteliais e mucíparas da mucosa gástrica de rã (*Rana catesbeiana*, SHAW). Quando a mucosa era exposta ao etanol 100% 1ml por 30 min., era obtida uma média de 0,107 mg de muco. Com etanol 100% 2ml por 60 min., aumentava para 0,178 mg. Comparando esses dados com o peso do controle, 0,02 mg, observou-se que o muco aumentava significativamente $p < 0,05$ (TABELA II).

As observações dos aspectos morfológicos do estômago e da mucosa gástrica de rã "in vivo", nos grupos I, II, III e IV, possibilitam as seguintes informações: dilatação do estômago, hiperemia, aumento de peso do muco em relação ao controle, da área de lesão e as regiões do estômago de rã afetadas e alisamento de pregas. (QUADRO 1)

A análise macroscópica da mucosa gástrica de rã através de um vídeo endoscópio - (VI-OLIMPUS CV-1, PAN-ENDOSCÓPIO) (MARRONI & RODRIGUES, 1989), revelou uma mucosa altamente hiperemiada, com grande acúmulo de muco secretado na luz do estômago em resposta ao etanol 100% e ao H_2O_2 .

Uma vez estabelecida a lesão da mucosa, observa-se a formação de uma camada de muco viscoso, de mistura com restos das células necrosadas que cobrem a área de lesão. Essa camada, chamada de rolha mucóide, cujo pH é significativamente maior que o intraluminal, além de servir como barreira adicional, fornece o microelemento adequado para o fenômeno de restituição da mucosa (ZATERKA, 1993).

Recentes estudos têm indicado que o etanol causa um distúrbio na circulação gástrica e que lesões hiperêmicas desenvolvem-se rapidamente. Tem sido observado que o etanol, em altas concentrações 35% (vol./vol.), já causa acentuada hiperemia mucosal, necrose (especialmente de células epiteliais superficiais), edema e hemorragia mucosal e submucosal (OATES & HAKKINEN, 1988). Nos sítios onde o etanol produz hiperemia na mucosa, as vênulas constriam fortemente e as arteríolas dilatam marcadamente. O início da venoconstrição submucosal precede tipicamente a dilatação arteriolar, com visível hiperemia mucosal. As razões pelas quais algumas áreas da mucosa aparecem mais lesionadas podem relacionar-se à variações da permeabilidade da mucosa ou igualmente à variações de contato tecido-etanol (OATES & HAKKINEN, 1988).

Em nossos experimentos, verificou-se que, quando era usado o etanol 100%, 1ml em 30 min., esse atinge as células zimogênicas da região anterior que é a zona de transição entre esôfago e estômago. Quando se usava o etanol 100% 2ml em 60 min., todas as partes do

estômago eram atingidas: a anterior, a fúndica e a pilórica. No grupo IV, no qual se usava H_2O_2 10mM, todas as partes no estômago da rã eram afetadas e um aumento significativo de muco era observado ($p < 0,05$), acompanhado de um alisamento nas pregas da mucosa gástrica.

Verificou-se que, nas diferentes concentrações, não havia diferença significativa em relação ao controle na secreção ácida. O peróxido de hidrogênio não interferiu na secreção de ácido. Quanto ao muco, não aumentou significativamente em relação ao controle, apresentando um aspecto menos viscoso do que quando comparado ao normal (TABELA III). Esses experimentos foram realizados no inverno, época em que a secreção ácida está aumentada, devido a uma maior suscetibilidade da mucosa gástrica da rã em experimentos "in vitro", em temperatura de 26 °C e pressão de $O_2 : CO_2$ constante.

A secreção ácida e o muco em resposta ao peróxido de hidrogênio (inverno) quando comparadas aos dados de verão e outono, mostra-se significativamente maior, (TABELA III e QUADRO 1) indicando sazonalidade semelhante à descrita por MARRONI & RODRIGUES, 1989; MARRONI et al., 1990 e MARRONI et al, 1993.

O peróxido de hidrogênio gerado por via exógena pode ativar ou desativar diferentes sistemas enzimáticos levando a geração do fator de relaxamento endotelial. Segundo o mesmo autor, isto indica que os radicais livres têm importância vital na lesão da mucosa gástrica induzida por etanol. A lesão da mucosa, produzida pela administração intragástrica de etanol a 96%, em ratos, vem associada a uma dramática diminuição da atividade SOD da mucosa gástrica (OLSZEWER, 1992). Sugere-se que radicais livres a partir de etanol seriam aí formados (CZEGLÉIDI et al, 1984). Na primeira hipótese, o etanol induz à formação do superóxido (O_2^-) e à diminuição de O_2 . Na segunda hipótese, o etanol ativa várias enzimas e produz o ânion superóxido que seria dismutado pelo superóxido dismutase formando H_2O_2 (CZEGLÉIDI et al, 1984). O ânion superóxido O_2^- é o mais reativo entre os radicais livres. Pode inativar vírus, matar bactérias, lisar eritrócitos, matar granulócitos, danificar mieloblastos em cultura, iniciar a peroxidação do linolenato, inativar enzimas e danificar o DNA. Quando o muco reage com radicais derivados de oxigênio, as glicoproteínas recolhedoras de H_2O_2 são fragmentadas em resíduos de histidina na proteína. Essa fragmentação é acompanhada de um decréscimo na viscosidade do muco. Parece que a proteína fundamental da glicoproteína é também atacada e dividida pelo radical $\cdot OH$ (hidroxila) (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 1989).

O muco proporciona uma proteção antioxidante para as células epiteliais das camadas inferiores por reações rápidas com o $\cdot OH$ e H_2O_2 gerados externamente (ALLEN et al, 1993) o

muco que cobre as células epiteliais protegeria então a mucosa gástrica do dano oxidativo. O muco quando degradado fragmenta-se, com redução da viscosidade e das propriedades gel. Isto sugere que a presença de um sistema gerador de radicais de oxigênio, favoreceria a degradação da camada de muco ou prejudicaria sua síntese, explicando assim a ação do etanol e do peróxido de hidrogênio, nessa situação experimental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, A.; FLEMSTRÖM, G.; GARNER, A.; KIVILAAKSO, E. Gastroduodenal mucosal protection. **Physiologic. Rev.**, v. 73, n. 4, p. 823-856, 1993.
- BARROS NETO, R. *Estudo da resposta secretora da mucosa gástrica isolada de rã, Rana catesbeiana, em diferentes estágios de crescimento*. Belo Horizonte: UFMG, 1988. 73 p. (Dissertação Mestrado em Fisiologia I, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 1988).
- CZEGLÉDI, B.; ZSOLDOS, T., MÓZSIK, G. Effect of PGF_{2α} administered in cytoprotective and antisecretory doses on the ethanol and HCl-induced gastric mucosal damage and gastric mucosal superoxide dismutase activity in rats. **Acta Physiol. Hung.**, v. 64, n. 3/4, p. 331-337, 1984.
- DAVENPORT, H. W. & CHAVRÉ, V. J. Evident that glycolysis contributes to gastric acid secretion. **Am. J. Physiol.**, Salt Lake City, v. 171, n. 1, p. 1-6, 1952.
- FORTE, J. G. & MACHEN, T. E. Transport and electrical phenomena in resting and secreting piglet gastric mucosa. **J. Physiol.**, v. 244, p. 33-51, 1975.
- GONZAGA, H. M. S. & ALZAMORA, F. A comparative study of gastric secretion induced by agonists added to the luminal or serosal surface of the isolated frog gastric mucosa. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 14, p. 456, 1981.
- GONZAGA, H. M. S. & ALZAMORA, F. Mecanismo de ação da toxina escorpiônica purificada de *T. serrulatus* sobre a secreção de mucosas isoladas de estômago de sapo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FIOLOGIA, 10, 1979, São Paulo. **Anais ...** São Paulo, p. 20, 1979.
- GONZAGA, H. M. S. *Ação da tityotoxina sobre a secreção gástrica "in vitro" e "in vivo"*. Belo Horizonte: UFMG, 1980, 64 p. **Dissertação** (Mestrado em Fisiologia I, Universidade Federal de Minas Gerais, 1980).
- GONZAGA, H. M. S. Estudo da difusão de Histamina e Acetilcolina através da mucosa gástrica isolada de sapo e suas relações com a secreção de hidrogênio e pepsina. São Paulo: USP, 1986. (Tese de Doutorado - Fisiologia I, Universidade de São Paulo, 1986).
- GONZAGA, H. M. S.; ALZAMORA, F.; CUNHA-MELO, J. R.; FREIRE-MAIA, L. Gastric secretion induced by scorpion toxin. **Toxicon**, v. 17, p. 316-318, 1979.
- HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 2 ed. New York, Oxford University, 1989.
- MARRONI, N. A.; MARRONI, C.A.; RODRIGUES, M.I.; MARQUES, M. Evaluation of gastric mucosa of Amphibian *Rana catesbeiana* (Shaw) "in vivo" and "in vitro" at different seasons of the year and under the effect of stress. **Arq. Biol. Technol.** 36 (2): 273-282. Jun. 1993

- MARRONI, N. P. & RODRIGUES, M. I. & MARRONI, C. A. - Efeito do estresse osmótico do ethanol e do éter sobre a mucosa gástrica de rã **Rana catesbeiana**, SHAW. In: REUNIÃO DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 5, 1990, Caxambu. **Resumos**. Caxambu: p. 251, 1990.
- MARRONI, N. P. & RODRIGUES, M. I. Estudo da mucosa gástrica isolada de anfíbios frente ao estresse. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 4, 1989, Caxambú. **Resumos**. Caxambú: p. 198, 1989.
- MIRALLA, M. R.; MARRONI, N.P. & RODRIGUES, M.I. - Avaliação da secreção de pepsina em Rana catesbeiana (Shaw) nas diferentes estações do ano, sob o efeito do estresse e do jejum prolongado (*Amphibia*). **Arq. Biol. Technol.** 37 (1): 23-35, mar., 1994.
- MÓSZIK, G.; KARÁDI, O.; MATUS, Z.; SÜTÖ, G.; TÓTH, G.; VINCZE, A. Vagal nerve and the gastric mucosal defense. **J. Physiol.**, v. 87, p. 329-334, 1993.
- OATES, P. J. & HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. **Gastroenterol.**, v. 94, n. 1, p. 10-21, 1988.
- OLSZEWER, E. Radicais livres em medicina. São Paulo: Fundo Editorial BYK, 1992.
- SAARIO, I.; ROSEN, S.; CARTER, K.; SILEN, W. Effect of ethanol on frog gastric mucosa: Electrophysiologic and morphologic correlations. **Gastroenterol.**, v. 94, n. 3, p. 638-646, 1988.
- WALLACE, J. Gastric resistance to acid: is the "mucus-bicarbonate barrier" functionally redundant? **Am. J. Physiol.**, v. 256, n. 6, p. G31-G38, 1989.
- ZATERKA, S. Mecanismos de defesa da mucosa gastroduodenal. **GED**, v. 12, n. 2, Artigo de Atualização, 1993.

Received: 02 July 1996;
Revised: 21 August 1997;
Accepted: 16 April 1998.