



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO  
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL EFEITO  
CICATRIZANTE GÁSTRICO E ANTIARTRÍTICO DA  
MANGIFERINA, UMA XANTONA GLICOSILADA DA  
*Mangifera indica***

**Marília do Valle Carneiro**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Clélia Akiko Hiruma-Lima**

**Co-orientador: Prof. Thiago de Mello Moraes**

Monografia apresentada ao  
Instituto de Biociências, Campus de  
Botucatu, para obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biomédicas

**BOTUCATU – SP**

**2010**



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO  
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS  
CÂMPUS DE BOTUCATU

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL EFEITO  
CICATRIZANTE GÁSTRICO E ANTIARTRÍTICO DA  
MANGIFERINA, UMA XANTONA GLICOSILADA DA  
*Mangifera indica***

**Marília do Valle Carneiro**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Clélia Akiko Hiruma-Lima**

**Co-orientador: Prof. Thiago de Mello Moraes**

Monografia apresentada ao  
Instituto de Biociências, Campus de  
Botucatu, para obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biomédicas

**BOTUCATU – SP**

**2010**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Carneiro, Marília do Valle.

Avaliação do potencial efeito cicatrizante gástrico e antiartrítico da mangiferina, uma xantona glicosilada da *Mangifera indica* / Marília do Valle Carneiro. - Botucatu, 2010

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biomédicas) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2010.

Orientadora: Clélia Akiko Hiruma-Lima

Co-orientador: Thiago de Mello Moraes

Capes: 21006008

1. Artrite reumatoide. 2. Estômago – Úlceras.

Palavras-chave: Artrite reumatoide; Cicatrização gástrica; Mangiferina; Úlcera gástrica.

*Dedicat6ria*

Dedico este trabalho a meus pais, Rosane e William, por terem me apoiado e ajudado em todos os momentos, sempre com muita paciência e compreensão, e deixando que eu tomasse minhas próprias decisões, e a meu irmão Bruno, por fazer parte da minha vida, tornando-a mais divertida.

# *Agradecimientos*

Aos meus amigos “unespianos”, que tornaram mais agradável minha vida universitária, pois não se vive só de estudos! Em especial à Bianca “Péks”, vizinha e companheira pra todas as horas, e à Carol “Galah”, amiga de longa data e atual colega de quarto, que sempre alegram meus dias em Botucatu.

A todos os meus colegas de laboratório e ao pessoal do laboratório do professor Di Stasi e do laboratório da professora Cláudia, pela cooperação nos experimentos e pelos frequentes momentos de diversão e descontração;

A todos os funcionários e professores do departamento de Fisiologia pelos muitos auxílios prestados ao longo do ano;

À FAPESP, pelo auxílio financeiro concedido para o desenvolvimento de meu projeto de Iniciação Científica;

À professora Lúcia Rocha pelo apoio e incentivo;

Ao meu “mestre” e co-orientador Thiago “Mingo”, pelos ensinamentos, por sempre responder às minhas muitas perguntas, pela imensa ajuda com todos os experimentos e por compartilhar as frustrações quando nada dava certo;

E por fim, à minha orientadora, Clélia Akiko Hiruma-Lima, por ter me acolhido e guiado nesses dois anos, sendo um exemplo a ser seguido.

*Resumo*

A artrite reumatoide (AR) é uma doença crônica com importante potencial de causar comorbidades resultantes de atividades inflamatórias cumulativas, e que tem contribuído muito para o aumento das taxas de incapacitação e mortalidade dos pacientes. Dentre as opções terapêuticas hoje existentes para o tratamento da AR, as drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (DAINEs) ainda têm papel importante na terapêutica da doença, sendo amplamente utilizadas pelos pacientes, principalmente para aliviar a dor e a rigidez. No entanto, essa classe de medicamentos causa muitos efeitos adversos gastrointestinais, como dispepsia, azia, náuseas e vômitos, e seu uso é uma das causas mais comuns de úlceras pépticas. A mangiferina (uma xantona glicosilada extraída principalmente da casca de *Mangifera indica* L.) é o principal componente de um extrato aquoso produzido a partir da casca da mangueira, e tendo em vista a ação anti-inflamatória apresentada por ela no modelo de periodontite em ratos realizado por nosso grupo de pesquisa e também pela ação gastroprotetora deste composto descrita na literatura, este trabalho avaliou o potencial efeito antiartrítico e cicatrizante gástrico da mangiferina em modelos animais, analisando também alguns parâmetros de toxicidade para assegurar sua eficácia e segurança de uso como potencial droga para o tratamento desta doença. A AR foi induzida em ratos por injeção de emulsão de colágeno com adjuvante completo de Freund. Apesar da baixa incidência de artrite em ratos através deste modelo, foi possível obter AR em 60 a 70% dos animais. Devido ao amplo uso de DAINES, potentes causadoras de úlceras gastrointestinais, por pacientes acometidos pela AR, neste projeto inovou-se ao propor um modelo experimental que induziu úlcera gástrica por ácido acético nos animais artríticos, para observar o efeito cicatrizante gástrico da mangiferina em animais com AR. Após 14 dias de tratamento com mangiferina nos animais com AR, observou-se ligeiro aumento na área de lesão da mucosa gástrica nos animais do grupo tratado com mangiferina e do grupo tratado com ibuprofeno, em relação ao grupo controle, embora essa diferença não tenha sido significativa. Nos grupos tratados com mangiferina e ibuprofeno também foi observado aumento significativo nos níveis de atividade da enzima mieloperoxidase, indicando maior inflamação e infiltração de neutrófilos no tecido. Na avaliação da artrite, não foi observada nenhuma alteração no volume das patas dos animais artríticos tratados com mangiferina ou ibuprofeno em relação aos animais do grupo controle, tratados apenas com veículo, assim como também não houve redução significativa dos níveis de interleucina-1 $\beta$  nos animais dos grupos tratados com mangiferina ou ibuprofeno. Apesar disso, houve redução significativa dos níveis de fator de necrose tumoral, uma importante citocina pró-inflamatória, após os 14 dias de tratamento com a mangiferina ( $p < 0,05$ ), indicando o potencial anti-inflamatório deste composto. Além disso, a mangiferina não apresentou efeitos tóxicos nos parâmetros avaliados, comprovando sua segurança de uso.

*Abstract*

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic illness with great potential to cause comorbidities resulting from cumulative inflammatory activities, and it contributes with the increase of disabilities and death of patients. It affects 1 to 2% of world population and usually occurs between 30 and 50 years of age. Among existing therapeutic options for the disease non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) still play an important part in the treatment, being widely used by patients to relieve pain and stiffness. However, this class of drugs causes many adverse gastrointestinal effects, such as dyspepsia, heartburn, nausea and vomit, and its use is one of the most common causes of peptic ulcers. Mangiferin (a glycosilated xanthone extracted mainly from the bark of *Mangifera indica* L.) is the main compound of an aqueous extract made from the bark stem of the mango tree. Previous studies conducted by our research group prove the anti-inflammatory action of mangiferin on an animal model of periodontitis, and its gastroprotective action has been described before. Considering these informations this study evaluated mangiferin's potential on the treatment of RA and on gastric ulcer healing in animal models, and analyzed toxicity parameters to assure efficacy and safety of the compound as potential new drug for the treatment of the disease. RA was induced in rats by subcutaneous injection of bovine collagen and Freund's complete adjuvant. This method presented low incidence of RA in rats, but we were able to induce the disease in 60 to 70% of the animals. Due to the wide use of NSAIDs and its potential to cause peptic ulcers, we induced gastric ulcer on arthritic rats to analyze mangiferin's gastric healing effect. After 14 days of treatment we noticed small increase of the lesion area of animals treated with mangiferin or ibuprofen, when compared to the animals treated with saline, although the difference wasn't significant. Groups treated with mangiferin or ibuprofen also presented increase of the activity of the enzyme mieloperoxidase, indicating greater tissue inflammation and neutrophile infiltration. Regarding the arthritis evaluation there was no alteration on the volume of the paws of arthritic animals treated with mangiferin or ibuprofen when compared to saline treated animals, and there was also no reduction of the interleukin-1 $\beta$  levels on either group. There was however significant reduction of tumor necrosis factor, an important pro-inflammatory cytokine, after 14 days of treatment with mangiferin ( $p < 0,05$ ), showing its anti-inflammatory potential. In addition to this, mangiferin also showed no toxic effects on the parameters evaluated, proving its safety of use.

*Lista de Tabelas e  
Ilustrações*

<b><u>TABELA 1: AÇÃO DA MANGIFERINA SOBRE A ATIVIDADE DA ENZIMA MIELOPEROXIDASE NO MODELO DE CICATRIZAÇÃO DE ÚLCERA GÁSTRICA INDUZIDA POR ÁCIDO ACÉTICO EM RATOS ARTRÍTICOS</u></b>	<b><u>28</u></b>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------

<b><u>GRÁFICO 1: ATIVIDADE DA MANGIFERINA SOBRE O EDEMA DE PATA OBSERVADO EM RATOS ARTRÍTICOS</u></b>	<b><u>29</u></b>
-------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------

<b><u>GRÁFICO 2: ATIVIDADE DA MANGIFERINA SOBRE OS NÍVEIS DE TNF NO MODELO DE AR</u></b>	<b><u>29</u></b>
------------------------------------------------------------------------------------------	------------------

<b><u>GRÁFICO 3: ATIVIDADE DA MANGIFERINA SOBRE OS NÍVEIS DE IL-1B NO MODELO DE AR</u></b>	<b><u>30</u></b>
--------------------------------------------------------------------------------------------	------------------

<b><u>GRÁFICO 4: EVOLUÇÃO DO PESO CORPORAL DOS RATOS SUBMETIDOS A 14 DIAS DE TRATAMENTO COM SALINA, IBUPROFENO OU MANGIFERINA</u></b>	<b><u>31</u></b>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------

<b><u>TABELA 2: PESO DOS ÓRGÃOS (G) DOS RATOS TRATADOS DURANTE 14 DIAS COM VEÍCULO, IBUPROFENO OU MANGIFERINA</u></b>	<b><u>31</u></b>
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------

*Lista de abreviaturas e  
siglas*

ANOVA – Análise de variância

AR – Artrite reumatoide

RA – Rheumatoid arthritis

COX – Ciclooxigenase

DAINEs – Drogas anti-inflamatórias não-esteroidais

NSAIDs – Non-steroidal anti-inflammatory drugs

DMARDs – Medicamentos anti-reumáticos modificadores da doença

FCA – Adjuvante completo de Freund

GSH – Forma reduzida da glutathione

GSSG – Forma oxidada da glutathione

HTAB – Tampão de brometo de hexadeciltrimetilamônio

Ig – Imunoglobulina

IL - Interleucina

MMP – Metaloproteinases de matriz

MPO – Mieloperoxidase

PBS – Tampão fosfato salino

PG – Prostaglandina

PGE<sub>2</sub> – Prostaglandina E2

PGI<sub>2</sub> – Prostaciclina

TNF – Fator de necrose tumoral

# *Sumário*

<b>DEDICATÓRIA</b>	<b>3</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b>	<b>5</b>
<b>RESUMO</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>9</b>
<b>LISTA DE TABELAS E ILUSTRAÇÕES</b>	<b>11</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b>	<b>13</b>
<b>SUMÁRIO</b>	<b>15</b>
<b>INTRODUÇÃO E OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>22</b>
<b>PADRONIZAÇÃO DO MODELO DE INDUÇÃO DE ARTRITE REUMATOIDE E LESÃO ULCEROSA</b>	<b>23</b>
DOSAGENS DE FATOR DE NECROSE TUMORAL E INTERLEUCINA-1B	24
ATIVIDADE DA ENZIMA MIELOPEROXIDASE NA MUCOSA GÁSTRICA	24
<b>AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE</b>	<b>25</b>
<b>ANÁLISE ESTATÍSTICA</b>	<b>25</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>26</b>
<b>CONCLUSÃO</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>34</b>

# *Introdução e Objetivos*

A artrite reumatoide (AR) é uma doença auto-imune inflamatória crônica e sistêmica, caracterizada pela inflamação simétrica das articulações sinoviais. Nas últimas décadas, importantes descobertas sobre esta doença fizeram com que a AR deixasse de ser uma síndrome de causa completamente desconhecida. Não existe cura para a AR, sendo a meta atual dos tratamentos existentes a amenização da dor e a prevenção da destruição progressiva dos ossos e da cartilagem das articulações. Com essas medidas, preserva-se a função de ossos e cartilagens e evita-se a incapacitação do indivíduo (Doan & Massarotti, 2005; Klareskog *et al.*, 2009).

Embora a etiologia da AR ainda não seja totalmente compreendida, sabe-se que é uma doença genética de herança complexa e já são conhecidos alguns fatores de risco ambientais para a doença. Ela parece ser iniciada por linfócitos T CD4<sup>+</sup>, que são ativados ao reconhecer antígenos artritogênicos no tecido sinovial, passando a estimular monócitos, macrófagos e fibroblastos do próprio tecido a produzirem metaloproteinases de matriz (MMP), enzimas envolvidas na erosão e degradação de cartilagem e osso, e outras substâncias, como as interleucinas (IL) 1 e 6 e o fator de necrose tumoral (TNF), que são as principais citocinas pró-inflamatórias envolvidas na AR. Também estão envolvidos no processo inflamatório os linfócitos B, estimulados pelas células T CD4<sup>+</sup> a produzirem imunoglobulinas (Ig), entre as quais se encontra o fator reumatoide, um auto anticorpo contra a porção constante de IgG, que forma imunocomplexos ao se ligar a outros anticorpos. Todos esses processos em conjunto levam à inflamação do tecido sinovial, que se torna espesso, edemaciado e localmente invasivo, passando a penetrar progressivamente na cartilagem e nos ossos adjacentes, destruindo-os (Smith & Haynes, 2002; Doan & Massarotti, 2005).

As estratégias para o combate da AR mudaram muito nas últimas décadas. Até o fim da década de 80, o tratamento se iniciava com o uso de drogas menos tóxicas, como as drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (DAINEs) para aliviar a dor e a rigidez. Gradualmente mudava-se para drogas mais tóxicas, conforme o agravamento da doença, passando pelas drogas anti-reumáticas modificadoras da doença (DMARDs), como hidroxicloroquina, sais de ouro e metotrexato, para aqueles que não respondiam à terapia inicial. Por fim, nos casos mais graves, após alguns anos chegava-se ao tratamento com ciclofosfamida. Ainda assim a destruição

das articulações e a incapacitação eram comuns com esse tipo de tratamento (Kremers *et al.*, 2004; Doan & Massarotti, 2005).

Após a descoberta de que a AR parece ser mais agressiva e também mais responsiva ao tratamento em seus estágios iniciais, e com os novos conhecimentos sobre a biologia molecular da inflamação das articulações foi possível modificar essas estratégias terapêuticas. Atualmente, elas se baseiam em três conceitos: 1) a redução da inflamação nos estágios iniciais previne danos às articulações; 2) deve-se buscar alvos moleculares específicos envolvidos na patogênese da doença; e 3) diferentes tratamentos podem funcionar para pacientes em estágios distintos da doença, já que a AR é uma doença dinâmica e diversificada. Com isso, passou-se a usar uma ou mais DMARDs logo que a doença é diagnosticada, pois elas controlam a inflamação sinovial e são capazes de diminuir o ritmo da progressão radiográfica ou até cessá-la completamente ao alterar a resposta imune de forma mais agressiva e duradoura que as DAINEs. Elas são usadas até que a destruição óssea se estabilize e a progressão da doença cesse, e então se reduz progressivamente a dose e o número de drogas administradas (Doan & Massarotti, 2005; Klareskog *et al.*, 2009).

Com esses avanços nos tratamentos para AR pôde-se observar mudanças significativas no curso da doença. As manifestações extra-articulares, antes bastante comuns, estão se tornando cada vez mais raras, o que torna mais importante entender e tratar outros sintomas, como linfomas, doenças cardiovasculares, dor e fadiga. No entanto, apesar do crescente uso precoce de tratamentos agressivos, a AR ainda é uma doença crônica com importante potencial de causar comorbidades resultantes de atividades inflamatórias cumulativas, que podem contribuir para o aumento das taxas de incapacitação e mortalidade e dos custos do tratamento, além de reduzirem a qualidade de vida dos pacientes (Michaud & Wolfe, 2007; Klareskog *et al.*, 2009).

A doença afeta cerca de 1 a 2% da população mundial e geralmente surge entre 30 e 50 anos de idade, sendo mais frequente em mulheres. Sua gravidade varia desde formas brandas e auto-limitantes até formas mais graves que causam destruição e deformidade permanente das articulações, sendo que o tempo de vida pode ser reduzido em até 18 anos. No Brasil há poucos dados epidemiológicos sobre a AR, mas segundo um estudo de 1993 de Marques Neto e colaboradores, a

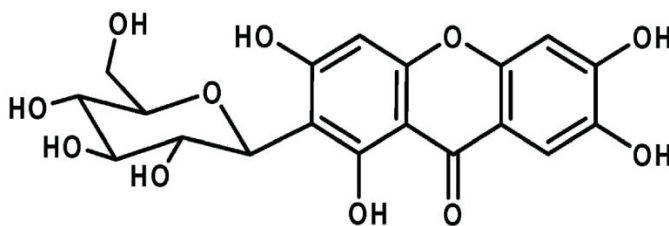
incidência da doença varia de 0,2% a 1% no país (Doan & Massarotti, 2005; Louzada-Junior *et al.*, 2007).

Apesar de atualmente não serem a base do tratamento para AR, as DAINEs ainda têm papel importante na terapêutica da doença, sendo amplamente utilizadas pelos pacientes, principalmente para aliviar a dor e a rigidez. No entanto, essa classe de medicamentos causa muitos efeitos adversos gastrointestinais, como dispepsia, azia, náuseas e vômitos, e seu uso é uma das causas mais comuns de úlceras pépticas (Bidaut-Russell, 2001; Musumba *et al.*, 2009).

As úlceras induzidas por DAINEs são, em grande parte, consequência do seu principal mecanismo de ação, a inibição das enzimas cicloxigenases COX-1 e COX-2, que catalisam a conversão de ácido araquidônico em tromboxanos, prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e prostaglandinas (PG). A produção constante de PGI<sub>2</sub> e prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) é fundamental para a proteção e regeneração da mucosa gástrica, e como as úlceras resultam de um desequilíbrio entre os fatores agressivos e as defesas da mucosa, essa inibição enzimática é a principal causa de lesões gástricas induzidas pelo uso de DAINEs, embora estejam envolvidos também mecanismos independentes de PG (Moncur & Willians, 1995; Lu & Graham, 2006; Musumba *et al.*, 2009). Outra substância com importante papel na defesa da mucosa gástrica é a glutathiona em sua forma reduzida (GSH), um tripeptídeo cujos efeitos protetores em lesões gástricas induzidas por DAINEs já foram documentados. Ela age reduzindo a peroxidação lipídica e a formação de radicais livres e minimizando o estresse oxidativo, que tem papel importante na patogênese da inflamação. A GSH é capaz de remover radicais livres de duas formas: 1) diretamente, ao ser transformada em sua forma oxidada (GSSG) por espécies reativas de oxigênio ou nitrogênio e outros radicais livres, voltando à sua forma reduzida pela ação da enzima glutathiona-reductase; ou 2) através da enzima glutathiona peroxidase, que catalisa a redução de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e outros peróxidos, dependente de GSH (Hung, 2000; Demir *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2004). Enquanto os níveis de PGE<sub>2</sub> e de GSH indicam o estado das defesas da mucosa gástrica, pode-se avaliar o nível de inflamação no local através da quantificação de mieloperoxidase (MPO), uma enzima presente em grandes quantidades nos grânulos azurofílicos dos neutrófilos, células características do processo inflamatório. A MPO também modula diversos aspectos da resposta inflamatória, sendo parte importante do sistema imune inato, e está

relacionada aos danos teciduais em algumas doenças inflamatórias (Sasayama *et al.*, 1997; Winterbourn *et al.*, 2000).

Com base nos dados sobre a doença relatados acima e com a escassez de medicamentos que auxiliem na prevenção e cura da AR, o estudo de novas drogas para seu tratamento e/ou prevenção se faz necessário e urgente. Em vista disso, uma possível candidata a nova droga para o tratamento da AR é a mangiferina (1,3,6,7-tetrahidroxixantona C2- $\beta$ -D-glucosídeo), uma xantona glicosilada extraída principalmente da casca de *Mangifera indica* L., uma árvore frutífera da família Anacardiaceae, cuja estrutura está representada na Figura 1 (Roberts, 1961; Coe & Anderson, 1996; Núñez-Sellés *et al.*, 2002; Correia *et al.*, 2006; Wilkinson *et al.*, 2008). É o principal componente de um extrato aquoso produzido industrialmente a partir da casca da mangueira, comercialmente conhecido como Vimang<sup>®</sup> (Núñez-Sellés *et al.*, 2002), e que apresenta atividades analgésica, anti-inflamatória (Garrido *et al.*, 2001; Garrido *et al.*, 2004b) e anti-alérgica (Rivera *et al.*, 2006) comprovadas. Muitas dessas atividades foram relacionadas à presença da mangiferina no extrato, e já se comprovou suas ações analgésica, antioxidante (Dar *et al.*, 2005), gastroprotetora (Carvalho *et al.*, 2007) e anti-inflamatória em periodontite (Carvalho *et al.*, 2009).



**Figura 1:** Estrutura da mangiferina  
(Barreto *et al.*, 2008)

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliação da capacidade cicatrizante gástrica e anti-inflamatória da mangiferina em ratos Wistar artríticos e caracterização de seus mecanismos de ação em modelos experimentais *in vivo*, avaliando a ação anti-inflamatória e cicatrizante da mangiferina através da análise de alguns parâmetros bioquímicos, morfométricos e imunohistológicos.

# *Material e Métodos*

## Padronização do modelo de indução de artrite reumatoide e lesão ulcerosa

Neste trabalho, a artrite foi induzida por injeção subcutânea de 100 µl de emulsão de colágeno bovino (dissolvido em solução de ácido acético 0,1 M – 2 mg/ml) e adjuvante completo de Freund (FCA), na proporção 1:1, dorsalmente na região da base da cauda de cada rato Wistar macho (200 g a 250 g), no primeiro e no décimo dias do experimento. Um grupo de animais sem artrite (grupo branco) foi mantido nas mesmas condições, para a observação e comparação das características com os animais que apresentaram artrite implantada. A inflamação crônica e sistêmica da AR foi confirmada pelo desenvolvimento de edema nas patas traseiras dez dias após a segunda injeção de colágeno + FCA (Durie *et al.*, 1994), e foi medida através da avaliação do volume da pata em pletismômetro (Ugo Basile, Itália).

A lesão gástrica foi implantada após a manifestação da AR, evidenciada pela presença de edema nas patas traseiras. Após 16 horas de jejum, os ratos artríticos foram anestesiados e seu abdômen foi aberto abaixo da apófise xifóide para exposição do estômago. Um tubo de 4,2 mm de diâmetro interno foi aplicado firmemente à superfície serosa da parede do estômago para delimitar a região exposta ao agente lesivo. Em seguida, 70 µl de ácido acético (100%) foram aplicados na superfície do estômago durante 20 segundos, e em seguida removidos completamente. A superfície serosa do estômago foi lavada abundantemente com salina para assegurar a total remoção do agente lesivo antes da sutura do abdômen. O processo resultou em ulceração da mucosa e submucosa, com área aproximada de lesão de 13,8 mm<sup>2</sup> (Figura 2). A metodologia foi realizada com base no método descrito por Okabe *et al.* (1971), modificado por Konturek *et al.* (1988).



**Figura 2:** Lesão induzida pela aplicação de ácido acético (100%) na mucosa gástrica

Transcorridas 24 horas do procedimento cirúrgico de implantação da úlcera gástrica, os animais foram tratados por via oral, uma vez ao dia durante catorze dias, com veículo salina (controle negativo), droga anti-inflamatória não-esteroidal (controle positivo - ibuprofeno, 100 mg/kg) e mangiferina (100 mg/kg, menor dose efetiva em experimentos anteriormente realizados). No 15º dia após o início do tratamento, os animais foram mortos e coletou-se o tecido subcutâneo das patas e o estômago de cada animal para avaliação dos parâmetros relacionados à artrite (quantificação das citocinas TNF e IL-1 $\beta$ ) e à lesão gástrica (determinação da área de lesão e da atividade da mieloperoxidase).

### **Dosagens de fator de necrose tumoral e interleucina-1 $\beta$**

O TNF e a IL-1 $\beta$  são citocinas pró-inflamatórias produzidas normalmente pelo organismo e envolvidas na iniciação da inflamação. O TNF apresenta importante papel no desenvolvimento de tecidos linfóides e no sistema imune, incluindo a estimulação da inflamação (Atzeni *et al.*, 2010), enquanto a IL-1 $\beta$  é produzida por diversos tipos celulares e está relacionada à ativação de leucócitos e à liberação de outras citocinas pró-inflamatórias, como o próprio TNF (Ren & Torres, 2009; Netea *et al.*, 2010).

Para a realização da dosagem dessas citocinas, o tecido subcutâneo coletado de cada pata foi homogeneizado individualmente em um mixer Polytron, com volume de tampão PBS (tampão fosfato salino, pH 7,4) igual a quatro vezes o peso da amostra. A solução obtida foi centrifugada e o sobrenadante foi recolhido e armazenado a -80°C para posterior realização das dosagens. As dosagens foram realizadas utilizando-se kits DuoSet ELISA (Development System, da R&D Systems) e a leitura foi feita em espectrofotômetro em comprimento de onda de 450 nm (Passos *et al.*, 2004).

### **Atividade da enzima mieloperoxidase na mucosa gástrica**

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima peroxidase produzida apenas por células da linhagem mieloide, principalmente neutrófilos. Estudos recentes revelaram que a enzima está relacionada à homeostase celular e é um fator importante na iniciação e progressão de diversas doenças inflamatórias, devido a seus efeitos nas cascatas sinalizadoras em diferentes tipos celulares (van der Veen *et al.*, 2009). Ela é descrita como marcadora da infiltração/agregação de neutrófilos e está elevada em

lesões ulcerogênicas, sendo um marcador sensível e específico da inflamação aguda (Dengiz *et al.*, 2007; Guha *et al.*, 2009).

Amostras de estômago foram coletadas, pesadas e homogeneizadas com tampão HTAB (brometo de hexadeciltrimetilamônio) na proporção 1:20, que atua como detergente, lisando os grânulos dos neutrófilos que contêm a enzima e liberando-a. Após triplo congelamento-descongelamento e centrifugação da amostra, o sobrenadante foi coletado e usado para a dosagem de MPO, realizada através de leitura em espectrofotômetro a 450 nm, após a adição do tampão de reação [cloridrato de o-dianisidina a 0,167 mg/ml em tampão fosfato (50 mM; pH 6,0) com peróxido de hidrogênio 0,0005% (p/v) (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 33%)]. A atividade enzimática foi determinada seguindo a cinética da reação da enzima com água oxigenada do tampão de reação, sendo que uma unidade de MPO determinada é capaz de degradar um nmol/minuto de água oxigenada a 25°C. Como controle da metodologia foi feita a curva-padrão (com coeficiente de regressão próximo de um), a partir da qual se calculou a concentração de MPO nas amostras (Krawisz *et al.*, 1984).

### **Avaliação da toxicidade**

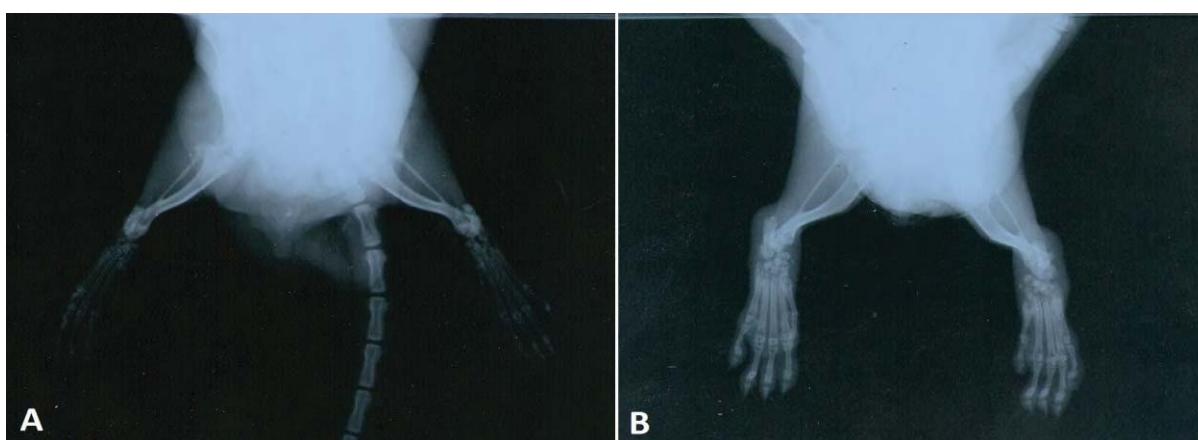
Juntamente com o modelo de indução de úlcera por ácido acético em ratos artríticos foi realizada a avaliação toxicológica da mangiferina, através de avaliações de alguns parâmetros toxicológicos. Os animais foram pesados diariamente para se avaliar possíveis alterações na evolução do peso corporal. Após a morte dos animais, retirou-se coração, pulmões, fígado, rins e baço, que foram pesados em balança analítica de alta precisão. Em seguida foi feita a relação do peso dos órgãos com o peso dos respectivos animais, e os valores obtidos desta relação foram convertidos em arco-seno para a análise estatística.

### **Análise estatística**

Dados paramétricos foram expressos na forma de média  $\pm$  erro padrão da média e submetidos à análise de variância de uma via (ANOVA), seguida pelo teste *a posteriori* de múltiplas comparações de Dunnett. Todas as análises foram feitas pelo software *GraphPad InStat* com nível de significância mínimo de  $p < 0,05$ .

## *Resultados e Discussão*

Para a padronização do método de indução da artrite reumatoide, baseamos-nos em um método comumente apresentado pela literatura, utilizando injeção de colágeno bovino para a indução da artrite (Trentham *et al.*, 1977; Wooley & Chapedelaine, 1987; Griffiths, 1988; Wooley, 1991; Durie *et al.*, 1994). A incidência de AR através deste método foi de cerca de 60-70% dos animais. Sendo assim, foi necessária a realização de uma seleção prévia dos animais artríticos antes da continuidade dos experimentos. Na Figura 3 é possível observar as alterações ósseas e o edema do tecido mole periarticular presentes em ratos que desenvolveram a AR.



**Figura 3:** Raio-X das patas traseiras de um rato normal (A) e de um rato artrítico (B)

O modelo experimental de úlceras gástricas induzidas por ácido acético em ratos artríticos é inovador no que se refere ao modelo que associa a AR e a úlcera gástrica implantada nestes animais, simulando uma situação patológica comum aos portadores de AR que fazem uso crônico de uma DAINE e que possuem lesões ulcerosas na mucosa gástrica decorrentes do tratamento para a artrite (Kato *et al.*, 2002). Nosso estudo padronizou pela primeira vez esta técnica e foi constatado que não houve diferença significativa no tamanho da lesão gástrica dos animais dos grupos tratados com veículo, ibuprofeno (100 mg/kg) ou mangiferina (100 mg/kg), e, apesar de se ter observado um aumento no tamanho das lesões dos animais tratados com mangiferina, essa diferença não foi significativa. Apesar da ação gastroprotetora da mangiferina ter sido descrita por Carvalho *et al.*, 2007, nossos resultados mostram que ela não apresenta ação cicatrizante gástrica.

Apesar da análise macroscópica não mostrar diferença significativa entre os grupos tratados, nas dosagens de MPO do estômago dos animais submetidos aos

tratamentos foi observado aumento significativo da atividade da enzima nos animais dos grupos tratados com ibuprofeno e com mangiferina, em relação ao grupo tratado apenas com salina (Tabela 1), indicando maior inflamação e infiltração de neutrófilos no tecido. Estudos mostram que há um atraso na cicatrização da mucosa gástrica de ratos artríticos, atribuído à diminuição da atividade biossintética de PG, importantes fatores de proteção da mucosa gástrica, cuja síntese depende da atividade das enzimas COX 1 e 2 (Kato *et al.*, 2002). Além disso, as DAINEs, por serem inibidoras destas enzimas, promovem um retardo ainda maior da cicatrização na mucosa destes animais. Sendo assim, o aumento da atividade da MPO observado pode ser explicado pela ação inibitória da atividade das enzimas COX apresentada tanto pelo ibuprofeno (COX 1 e 2) quanto pela mangiferina (COX-2) (Leiro *et al.*, 2004; Wallace, 2008).

**Tabela 1:** Ação da mangiferina sobre a atividade da enzima mieloperoxidase no modelo de cicatrização de úlcera gástrica induzida por ácido acético em ratos artríticos

<b>Grupo</b>	<b>Atividade da MPO (unidades de MPO/g de tecido)</b>
<b>Branco</b>	3084,01 ± 75,16
<b>Salina</b>	2514,14 ± 320,16
<b>Ibuprofeno (100 mg/kg)</b>	3453,46 ± 54,147 *
<b>Mangiferina (100 mg/kg)</b>	3323,77 ± 229,71 *

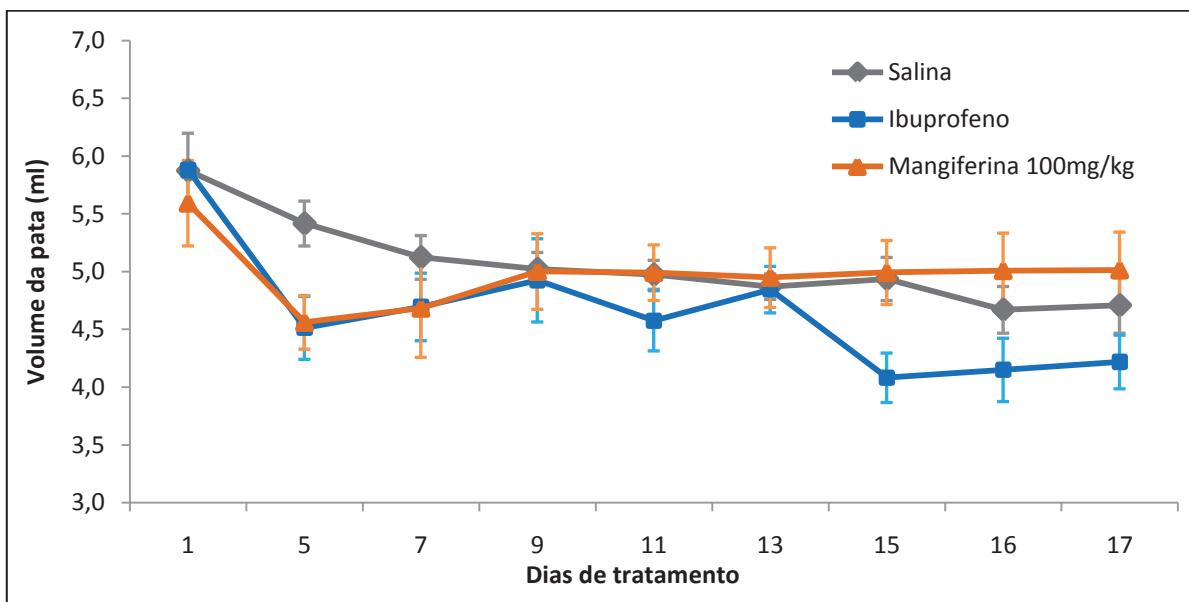
Dosagem da atividade da enzima MPO no estômago. Média ± erro padrão da média, n = 5. ANOVA seguida pelo teste de múltiplas comparações de Dunnett. \* → Diferença significativa em relação ao grupo salina (p<0,05).

Na avaliação da atividade antiartrítica da mangiferina observou-se que a mesma não foi capaz de inibir a formação de edema de pata provocado pela artrite durante os 14 dias de avaliação (Gráfico 1), mas mostrou-se efetiva em reduzir em 37,68% a quantidade de TNF presente nas patas dos animais artríticos após os 14 dias de tratamento (Gráfico 2), em relação aos animais tratados com salina, enquanto o ibuprofeno não foi capaz de reduzir os níveis de TNF. Na dosagem de IL-1 $\beta$ , apesar da evidente redução dos níveis da citocina pela mangiferina (28%), não foi observada diferença significativa em relação ao controle (

Gráfico 3). O TNF e a IL-1 $\beta$  são citocinas pró-inflamatórias, que podem causar inflamação excessiva e lesões teciduais quando liberados em altas concentrações,

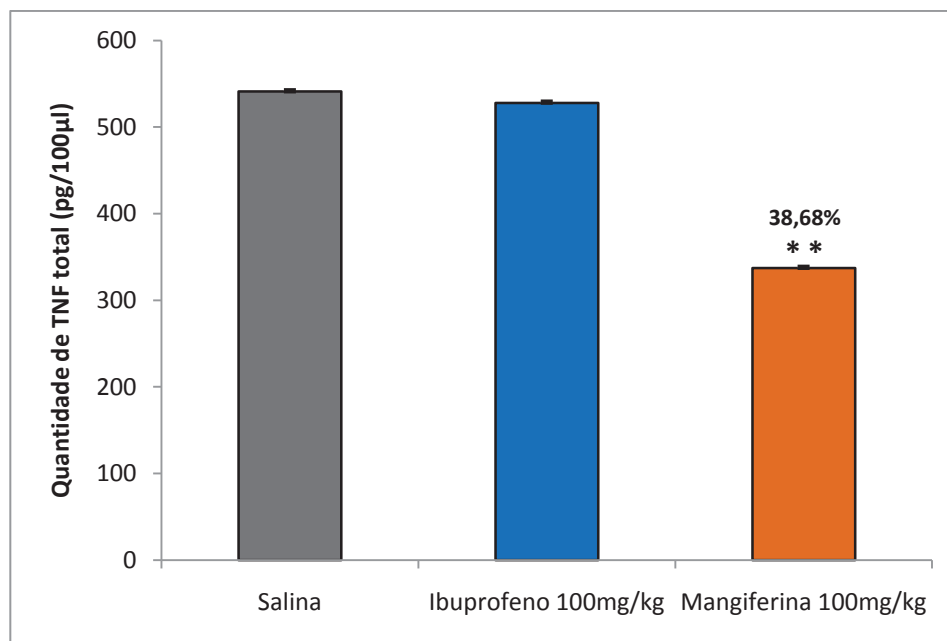
pois são capazes de mediar efeitos patogênicos diretos e induzir a produção de outros mediadores inflamatórios, como ocorre em diversas doenças inflamatórias imunomediadas (Tracey *et al.*, 2008; Ren & Torres, 2009; Netea *et al.*, 2010).

**Gráfico 1:** Atividade da mangiferina sobre o edema de pata observado em ratos artríticos



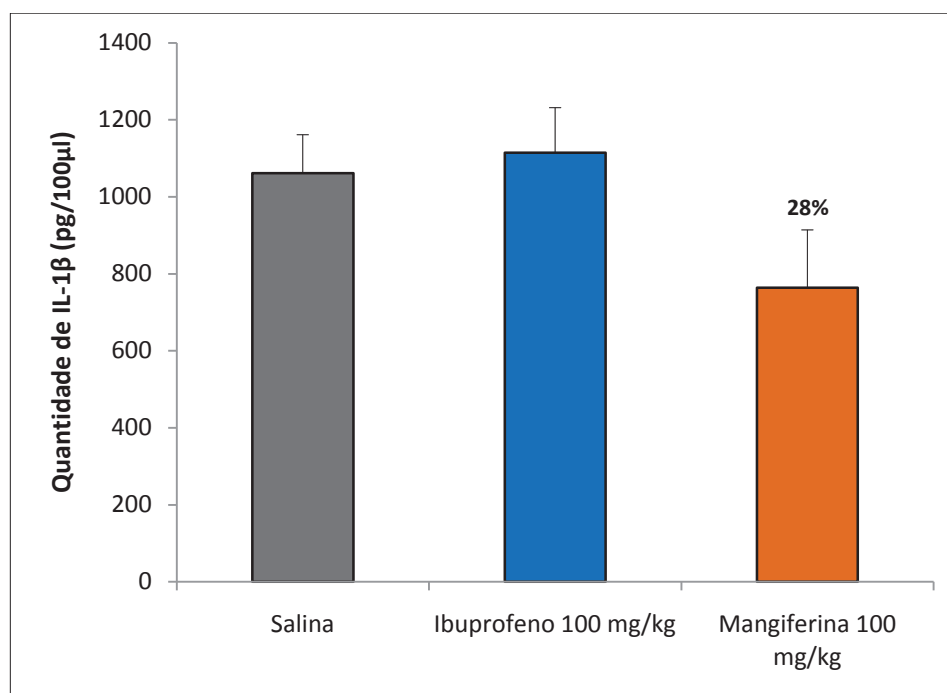
Média do volume da pata  $\pm$  erro padrão da média,  $n = 5$ . ANOVA seguida pelo teste de múltiplas comparações Dunnett. Não houve diferença significativa entre os grupos.

**Gráfico 2:** Atividade da mangiferina sobre os níveis de TNF no modelo de AR



Quantificação de níveis de TNF total presente no tecido subcutâneo da pata. Média  $\pm$  erro padrão da média,  $n = 5$ . ANOVA seguida pelo teste de múltiplas comparações Dunnett.  
 \*\*  $\rightarrow$  Diferença significativa em relação ao grupo salina ( $p < 0,01$ ).

**Gráfico 3:** Atividade da mangiferina sobre os níveis de IL-1 $\beta$  no modelo de AR



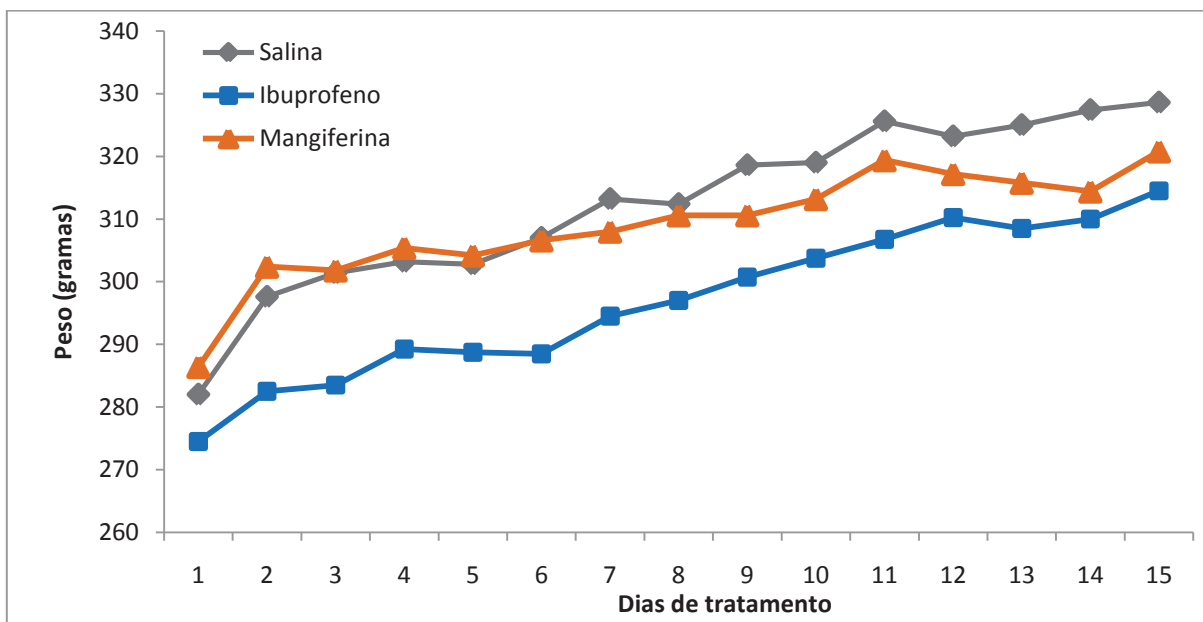
Quantificação de níveis de IL-1 $\beta$  presente no tecido subcutâneo da pata. Média  $\pm$  erro padrão da média, n = 5. ANOVA seguida pelo teste de múltiplas comparações Dunnett. Não houve diferença significativa entre os grupos.

Nossos resultados estão de acordo com os dados da literatura, em que a mangiferina foi capaz de inibir a produção de TNF *in vitro* (Leiro *et al.*, 2003; Leiro *et al.*, 2004) e *in vivo* em modelos de inflamação aguda (Garrido *et al.*, 2004a; Garrido *et al.*, 2004b; Prabhu *et al.*, 2009). Porém, nossos resultados são inovadores em apontar a redução dos níveis de TNF em um modelo de inflamação crônica. Estudos sobre a patogênese da AR e sobre o papel das citocinas demonstram que o TNF e a IL-1 $\beta$  são um dos principais fatores implicados na inflamação e na destruição da matriz celular que ocorrem na doença (Tracey *et al.*, 2008), e ambas as citocinas têm sido usadas como indicadores da severidade dos sintomas da AR (Sekiguchi *et al.*, 2010).

Na avaliação dos parâmetros indicativos de toxicidade, não foram observadas alterações na evolução do peso corporal dos animais submetidos ao tratamento ibuprofeno ou mangiferina durante os 14 dias de tratamento, em comparação aos animais tratados com veículo (salina), como pode ser observado no Gráfico 4. Conforme a Tabela 2 pode-se observar também que não houve alteração no peso

dos órgãos destes mesmos animais após os 14 dias de tratamento, indicando a ausência de toxicidade da mangiferina através deste modelo experimental.

**Gráfico 4:** Evolução do peso corporal dos ratos submetidos a 14 dias de tratamento com salina, ibuprofeno ou mangiferina



Média de peso corporal  $\pm$  erro padrão da média,  $n = 5$ . ANOVA seguida pelo teste de múltiplas comparações Dunnett. Não houve diferença significativa em relação ao grupo veículo.

**Tabela 2:** Peso dos órgãos (g) dos ratos tratados durante 14 dias com veículo, ibuprofeno ou mangiferina

	<b>Coração</b>	<b>Pulmões</b>	<b>Fígado</b>	<b>Rins</b>	<b>Baço</b>
<b>Salina</b>	3,564 $\pm$ 0,206	4,280 $\pm$ 0,234	9,054 $\pm$ 0,184	4,742 $\pm$ 0,172	2,610 $\pm$ 0,083
<b>Ibuprofeno</b>	3,565 $\pm$ 0,103	4,160 $\pm$ 0,079	9,228 $\pm$ 0,188	5,068 $\pm$ 0,055	2,905 $\pm$ 0,098
<b>Mangiferina</b>	3,542 $\pm$ 0,017	4,194 $\pm$ 0,109	9,020 $\pm$ 0,117	4,840 $\pm$ 0,046	2,634 $\pm$ 0,089
<b>Branco</b>	3,680 $\pm$ 0,121	4,216 $\pm$ 0,156	9,866 $\pm$ 0,156	4,852 $\pm$ 0,088	2,598 $\pm$ 0,143

Média  $\pm$  erro padrão da média,  $n = 5$ . ANOVA seguida pelo teste de múltiplas comparações Dunnett. Não houve diferença significativa em relação ao grupo veículo.

*Conclusão*

Apesar dos relatos na literatura da ação gastroprotetora da mangiferina, ela não demonstra possível ação cicatrizante gástrica no modelo associado à artrite reumatoide, talvez como consequência de sua atividade anti-inflamatória, evidenciada pela redução dos níveis de TNF no modelo de AR. Diante dos resultados obtidos neste trabalho, a mangiferina apresenta potencial como nova droga anti-inflamatória, embora ainda sejam necessários mais estudos.

## *Referências*

- ATZENI, F.; STRAUB, R.H.; CUTOLO, M.; SARZI-PUTTINI, P. Anti-TNF therapy restores the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 1193, n. 1, p. 179-181, 2010.
- BIDAUT-RUSSELL, M. Adverse gastrointestinal effects of NSAIDs: Consequences and costs. **Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.**, v. 15, n. 5, p. 739-753, 2001.
- CARVALHO, A.C.; GUEDES, M.M.; DE SOUZA, A.L.; TREVISAN, M.T.; LIMA, A.F.; SANTOS, F.A.; RAO, V.S. Gastroprotective effect of mangiferin, a xanthonoid from *Mangifera indica*, against gastric injury induced by ethanol and indomethacin in rodents. **Planta Med.**, v. 73, n. 13, p. 1372-1376, 2007.
- CARVALHO, R.R.; PELLIZZON, C.H.; JUSTULIN JUNIOR, L.; FELISBINO, S.L.; VILEGAS, W.; BRUNI, F.; LOPES-FERREIRA, M.; HIRUMA-LIMA, C.A. Effect of mangiferin on the development of periodontal disease: Involvement of lipoxin A4, anti-chemotactic action in leukocyte rolling. **Chem. Biol. Interact.**, v. 179, p. 344-350, 2009.
- COE, F.G.; ANDERSON, G.J. Screening of medicinal plants used by the Garifuna of Eastern Nicaragua for bioactive compounds. **J. Ethnopharmacol.**, v. 53, n. 1, p. 29-50, 1996.
- CORREIA, S.J.; DAVID, J.P.; DAVID, J.M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Quim. Nova**, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006.
- DAR, A.; FAIZI, S.; NAQVI, S.; ROOME, T.; ZIKR-UR-REHMAN, S.; ALI, M.; FIRDOUS, S.; MOIN, S.T. Analgesic and antioxidant activity of mangiferin and its derivatives: the structure activity relationship. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 28, n. 4, p. 596-600, 2005.
- DEMIR, S.; YILMAZ, M.; KÖSEOĞLU, M.; AKALIN, N.; ASLAN, D.; AYDIN, A. Role of free radicals in peptic ulcer and gastritis. **Turk. J. Gastroenterol.**, v. 14, n. 1, p. 39-43, 2003.
- DENGIZ, G.O.; ODABASOĞLU, F.; HALICI, Z.; SULEYMAN, H.; CADIRCI, E.; BAYIR, Y. Gastroprotective and antioxidant effects of amiodarone on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. **Arch. Pharm. Res.**, v.30, n.11, p. 1426-1434, 2007.
- DOAN, T.; MASSAROTTI, E. Rheumatoid arthritis: an overview of new and emerging therapies. **J. Clin. Pharmacol.**, v. 45, n.7, p. 751-762, 2005.
- DURIE, F.H.; FAVA, R.A.; NOELLE, R.J. Collagen-induced arthritis as a model of rheumatoid arthritis. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, v. 73, n.1, p. 11-18, 1994.
- GARRIDO, G.; GONZÁLEZ, D.; DELPORTE, C.; BACKHOUSE, N.; QUINTERO, G.; NÚÑEZ-SELLÉS, A.J.; MORALES, M.A. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (Vimang®). **Phytother. Res.**, v.15, n. 1, p. 18-21, 2001.
- GARRIDO, G.; DELGADO, R.; LEMUS, Y.; RODRÍGUEZ, J.; GARCÍA, D.; NÚÑEZ-SELLÉS, A.J. Protection against septic shock and suppression of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide production on macrophages and microglia by a standard aqueous extract of *Mangifera indica* L. (Vimang®): role of mangiferin isolated from the extract. **Pharmacol. Res.**, v. 50, n. 2, p. 165-172, 2004a.
- GARRIDO, G.; GONZÁLEZ, D.; LEMUS, Y.; GARCÍA, D.; LODEIRO, L.; QUINTERO, G.; DELPORTE, C.; NÚÑEZ-SELLÉS, A.J.; DELGADO, R. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (Vimang®). **Pharmacol. Res.**, v. 50, n. 2, p. 143-149, 2004b.
- GRIFFITHS, M.M. Immunogenetics of collagen-induced arthritis in rats. **Int. Rev. Immunol.**, v.4, n. 1, p. 1-15, 1988.
- GUHA, P.; DEY, A.; SARKAR, B.; DHYANI, M.V.; CHATTOPADHYAY, S.; BANDYOPADHYAY, S.K. Improved antiulcer and anticancer properties of trans-resveratrol analog in mice. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 328, n. 3, p.829-838, 2009.
- HUNG, C.H. Importance of histamine, glutathione and oxyradicals in modulating gastric haemorrhagic ulcer in septic rats. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v. 27, n. 4, p. 306-312, 2000.

- KATO, S.; OGAWA, Y.; KANATSU, K.; OKAYAMA, M.; WATANABE, T.; ARAKAWA, T.; TAKEUCHI, K. Ulcerogenic influence of selective cyclooxygenase-2 inhibitors in the rat stomach with adjuvant-induced arthritis. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 303, n. 2, p. 503-509, 2009.
- KLARESKOG, L.; CATRINA, A.I.; PAGET, S. Rheumatoid arthritis. **Lancet**, v. 373, n. 9664, p. 659-672, 2009.
- KONTUREK, S.J.; DEMBINSKI, A.; WARZECHA, Z.; BRZOZOWSKI, T.; GREGORY, H. Role of epidermal growth factor in healing of chronic gastroduodenal ulcers in rats. **Gastroenterol.**, v. 94, n. 6, p. 1300-1307, 1988.
- KRAWISZ, J.E.; SHARON, P.; STENSON, W.F. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity: assessment of inflammation in rat and hamster models. **Gastroenterol.**, v. 87, n. 6, p.1344-1350, 1984.
- KREMERS, H.M.; NICOLA, P.; CROWSON, C.S.; O'FALLON, W.M.; GABRIEL, S.E. Therapeutic strategies in rheumatoid arthritis over a 40-year period. **J. Rheumatol.**, v. 31, n.12, p. 2366-2373, 2004.
- LEIRO, J.M.; ALVAREZ, E.; ARRANZ, J.A.; SISO, I.G.; ORALLO, F. *In vitro* effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric oxide synthase, tumour necrosis factor- $\alpha$  and transforming growth factor- $\beta$  genes. **Biochem. Pharmacol.**, v. 65, n. 8, p. 1361-1371, 2003.
- LEIRO, J.; GARCÍA, D.; ARRANZ, J.A.; DELGADO, R.; SANMARTÍN, M.L.; ORALLO, F. An Anacardiaceae preparation reduces the expression of inflammation-related genes in murine macrophages. **Int. Immunopharmacol.**, v. 4, n. 8, p. 991-1003, 2004.
- LOUZADA-JUNIOR, P.; SOUZA, B.D.B.; TOLEDO, R.A.; CICONELLI, R.M. Análise descritiva das características demográficas e clínicas de pacientes com artrite reumatóide no Estado de SP, Brasil. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 47, n. 2, p. 84-90, 2007.
- LU, H.; GRAHAM, D.Y. New development in the mechanistic understanding of peptic ulcer diseases. **Drug Discov. Today Dis. Mech.**, v. 3, n. 4, p. 431- 437, 2006.
- MARQUES NETO, J.F.; GONÇALVES, E.T.; LANGEN, L.F.O.B.; CUNHA, M.F.L.; RADOMINSKI, S.; OLIVEIRA, S.M.; CURY, S.E.; MEDEIROS, F.; SAMPAIO, G.C. Estudo multicêntrico da prevalência da artrite reumatóide do adulto em amostras da população brasileira. **Rev. Bras. Reumatol.**, v. 33, n. 5, p. 169-173, 1993.
- MICHAUD, K.; WOLFE, F. Comorbidities in rheumatoid arthritis. **Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.**, v. 21, n. 5, p. 885-906, 2007.
- MONCUR, C.; WILLIAMS, H.J. Rheumatoid arthritis: Status of drug therapies. **Phys. Ther.**, v. 75, n. 6, p. 511-525, 1995.
- MUSUMBA, C.; PRITCHARD, D.M.; PIRMOHAMED, M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 30, n.6, p. 517-531, 2009.
- NETEA, M.G.; SIMON, A.; VAN DE VEERDONK, F.; KULLBERG, B.J.; VAN DER MEER, J.W.; JOOSTEN, L.A. IL-1 $\beta$  processing in host defense: beyond the inflammasomes. **PLoS Pathog.**, v. 6, n. 2, e1000661, 2010.
- NÚÑEZ-SELLÉS, A.J.; VÉLEZ-CASTRO, H.T.; AGÜERO-AGÜERO, J.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, J.; NADDEO, F.; DE SIMONE, F.; RASTRELLI, L. Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars, and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as a nutritional supplement. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 4, p. 762-766, 2002.
- OKABE, S.; ROTH, J.L.; PFEIFFER, C.J. A method for experimental, penetrating gastric and duodenal ulcers in rats: observations on normal healing. **Am. J. Dig. Dis.**, v. 16, n. 3, p. 277-284, 1971.
- PASSOS, G.F.; FERNANDES, E.S.; CAMPOS, M.M.; ARAÚJO, J.G.; PESQUERO, J.L.; SOUZA, G.E.; AVELLAR, M.C.; TEIXEIRA, M.M.; CALIXTO, J.B. Kinin B<sub>1</sub> receptor up-regulation after lipopolysaccharide administration: role of proinflammatory cytokines and neutrophil influx. **J. Immunol.**, v. 172, n. 3, p.1839-1847, 2004.
- PRABHU, S.; NARAYAN, S.; DEVI, C.S. Mechanism of protective action of mangiferin on suppression of inflammatory response and lysosomal instability in rat model of myocardial infarction. **Phytother. Res.**, v.23, n. 6, p. 756-760, 2009.

- REN, K.; TORRES, R. Role of interleukin-1 $\beta$  during pain and inflammation. **Brain. Res. Rev.** v. 60, n. 1, p. 57-64, 2009.
- RIVERA, D.G.; BALMASEDA, I.H.; LEÓN, A.A.; HERNÁNDEZ, B.C.; MONTIEL, L.M.; GARRIDO, G.G.; CUZZOCREA, S.; HERNÁNDEZ, R.D. Anti-allergic properties of *Mangifera indica* L. extract (Vimang®) and contribution of its glucosylxanthone mangiferin. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 58, n. 3, p. 385-392, 2006.
- ROBERTS, J.C. Naturally occurring xanthenes. **Chem. Rev.**, v. 61, n. 6, p. 591-605, 1961.
- SASAYAMA, Y.; KAWANO, S.; TSUJI, S.; FUSAMOTO, H.; HIO, O.; KAMADA, T.; FUKU, H.; YONEDA, S. Relationship between interleukin-8 levels and myeloperoxidase activity in human gastric mucosa. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 12, n. 2, p. 104-108, 1997.
- SEKIGUCHI, Y.; MANO, H.; NAKATANI, S.; SHIMIZU, J.; WADA, M. Effects of the Sri Lankan medicinal plant, *Salacia reticulata*, in rheumatoid arthritis. **Genes Nutr.**, v. 5, n. 1, p. 89-96 2010.
- SMITH, J.B.; HAYNES, M.K. Rheumatoid arthritis: a molecular understanding. **Ann. Intern. Med.**, v. 136, n. 12, p. 908-922, 2002.
- TRACEY, D.; KLARESKOG, L.; SASSO, E.H.; SALFELD, J.G.; TAK, P.P. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. **Pharmacol. Ther.**, v. 117, n. 2, p. 244-279, 2008.
- TRENTHAM, D.E.; TOWNES, A.S.; KANG, A.H. Autoimmunity to type II collagen: an experimental model of arthritis. **J. Exp. Med.**, v. 146, n. 3, p. 857-868, 1977.
- VAN DER VEEN, B.S.; DE WINTHER, M.P.; HEERINGA P. Myeloperoxidase: molecular mechanisms of action and their relevance to human health and disease. **Antioxid. Redox. Signal.**, v. 11, n. 11, p. 2899-2937, 2009.
- WALLACE, J.L. Prostaglandins, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself? **Physiol. Rev.**, v. 88, n. 4, p. 1547-1565, 2008.
- WILKINSON, A.S.; MONTEITH, G.R.; SHAW, P.N.; LIN, C.N.; GIDLEY, M.J.; ROBERTS-THOMSON, S.J. Effects of the mango components mangiferin and quercetin and the putative mangiferin metabolite norathyriol on the transactivation of peroxisome proliferator-activated receptor isoforms. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, n. 9, 3037-3042, 2008.
- WINTERBOURN, C.C.; VISSERS, M.C.; KETTLE, A.J. Myeloperoxidase. **Curr. Opin. Hematol.**, v. 7, n. 1, p. 53-58, 2000.
- WOOLEY, P.H.; CHAPEDELAIN, J.M. Immunogenetics of collagen-induced arthritis. **Crit. Rev. Immunol.**, v. 8, n. 1, p. 1-22, 1987.
- WOOLEY, P.H. Animal models of rheumatoid arthritis. **Curr. Opin. Rheumatol.**, v. 3, n. 3, p. 407-420, 1991.
- WU, G.; FANG, Y.Z.; YANG, S.; LUPTON, J.R.; TURNER, N.D. Glutathione metabolism and its implications for health. **J. Nutr.**, v. 134, n. 3, p. 489-492, 2004.