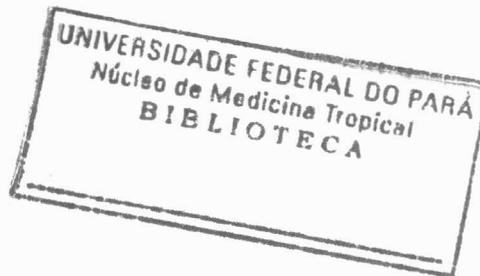


FLÁVIA GARCEZ DA SILVA

TEORES DE TIOCIANATO URINÁRIO EM PORTADORES
DE ÚLCERA PÉPTICA

3
BELÉM
2003

FLÁVIA GARCEZ DA SILVA

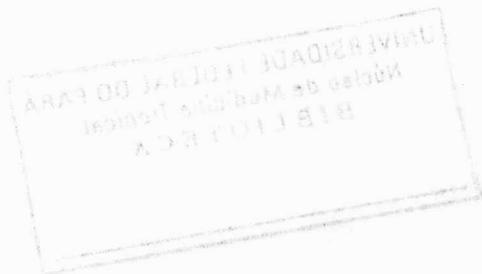


TEORES DE TIOCIANATO URINÁRIO EM PORTADORES DE
ÚLCERA PÉPTICA



616.343
5586x
D15

BELEM
2003



S586t

Silva, Flávia Garcez da
Tiocianato urinário em portadores de úlcera
péptica./ Flávia Garcez da Silva.- Belém,2003.

70 p.

Dissertação (Mestrado em Patologia das doenças
tropicais) – Universidade Federal do Pará, 2003.

1.Úlcera Péptica 2. Estômago-Doenças
3.Tiocianato urinário. I. Título.

CDD – 616.343

FLÁVIA GARCEZ DA SILVA

Dissertação Apresentada a Universidade Federal do Pará
para a obtenção do título de Mestre em Patologia das
Doenças Tropicais pelo Núcleo de Medicina Tropical,
submetido à Banca Examinadora do Colegiado
constituída pelos professores:

.....
Prof. Dr. José Luis Fernandes Vieira
Presidente e Orientador

.....
Prof. Dr. Luis Wagner Ramos Barbosa
1º Examinador

.....
Prof. Dr. Pergentino José da Cunha Sousa
2º Examinador

.....
Prof. Dr. José Carlos Rocha da Silva
3º Examinador

.....
Profª Drª Maria Isabel da Silva
Suplente

Julgado em: / /

Conceito:

A meus pais Nazaré e Juarez pela dedicação, apoio nos momentos difíceis da minha caminhada de estudante, incentivando para a realização de mais uma etapa da minha vida.



Á Deus

Aos meus pais Nazaré Garcez e Juarez Moreira

A mim, pelo esforço e luta para concretização deste trabalho

Ao prof. Dr. José Luis Fernandes Vieira, pela orientação

Ao prof. Ms. Wallace Raimundo, por ter me apoiado nesta caminhada tão difícil

A Universidade Federal do Pará, por permitir a realização deste trabalho

Ao prof. Dr Habib Fraiha Neto, que me incentivou a continuar este trabalho perante os obstáculos

As vezes ouço passar o vento; e só de
ouvir o vento passar, vale a pena ter
nascido.

Fernando Pessoa

RESUMO

A etiopatogenia da úlcera péptica apresenta diversos fatores que contribuem para a agressão à mucosa gastroduodenal, sendo que o hábito alimentar pode ser um fator desencadeante, a população paraense apresenta relevante característica quanto ao hábito alimentar, em decorrência da ingestão de alimentos derivados da mandioca contendo glicosídeos cianogênicos, sendo que este trabalho tem o objetivo de determinar os teores de tiocianato urinário em portadores de úlcera péptica considerando-se a presença de *Helicobacter pylori* e comparando com indivíduos sadios de acordo com o nível de ingestão destes alimentos. Para a determinação dos teores de tiocianato foi empregado o método espectrofotométrico (UV), sendo que os resultados obtidos apresentaram valores médios de 0.7619 ± 0.4859 mg SCN-/L, 0.9258 ± 0.5701 mg SCN-/L e 1.2467 ± 0.8236 mg SCN-/L naqueles com baixa, moderada e elevada ingestão de glicosídeos cianogênicos respectivamente, concluindo-se que o método empregado na culinária paraense é eficaz, os indivíduos portadores de úlcera péptica *H. pylori* (positivo) apresentaram teores de tiocianato médios de 0.4913 ± 0.3841 mg SCN-/L, enquanto que os *H.pylori* (negativo) valores de 0.2463 ± 0.2922 mg SCN-/L, portanto, a ingestão de glicosídeos cianogênicos não interferiu no crescimento da bactéria no trato gastrintestinal.

ABSTRACT

The ethyopathogeny of the peptic ulcer presents diverse factors that contribute for the aggression to the gastroduodenal mucosa, being that the alimentary habit can be an unleash factor, the paraense population presents excellent characteristic how much to the alimentary habit, in result of the food ingestion derived from the cassava contends cyanogenic glycosides, being that this work has the objective to determine of urinary thiocyanate concentration in carriers of peptic ulcer being considered the presence of *Helicobacter pylori* and comparing with healthy individuals in accordance with the level of ingestion of these foods. The used analytical method was spectrophotometry (UV), being that the gotten results had presented average values of $0.7619 \pm 0,4859$ mg SCN-/L, $0,9258 \pm 0,5701$ mg SCN-/L and $1,2467 \pm 0,8236$ mg SCN-/L in those with low, moderate and hide ingestion of cyanogenic glycosides respectively, concluding itself that the method used in the paraense food is efficient, the carrying individuals of peptic ulcer *H. pylori* (positive) had presented average texts of thiocyanate of 0.4913 ± 0.3841 mg SCN-/L, while that the *H.pylori* (negative) values of $0.2463 \pm 0,2922$ mg SCN-/L, therefore, the ingestion of cyanogenic glycosides did not intervene with the growth of the bacterium in the gastrointestinal treatment.

LISTA DE TABELAS

TABELA	1 Composição química (%) da raiz da mandioca	27
TABELA	2 Distribuição de HCN (%) nas diferentes partes do vegetal	29
TABELA	3 Perdas de compostos cianogênicos durante o processamento de raiz de mandioca	29
TABELA	4 Valores das absorvâncias de tiocianato nas referidas concentrações	43
TABELA	5 Valores da precisão intra-ensaio, obtidos a partir das análises das amostras de urina	44
TABELA	6 Valores da precisão inter-ensaio, obtidos a partir da análise das amostras de urina	44
TABELA	7 Valores obtidos na recuperação da coluna	45
TABELA	8 Resultados da determinação de tiocianato em indivíduos sem úlcera péptica ...	45
TABELA	9 Resultados da determinação de tiocianato urinário em indivíduos com úlcera péptica	45

LISTAS DE ABREVIATURAS

INCA	Instituto Nacional do Câncer
pH	Potencial de Hidrogênio
HCN	Ácido Cianídrico
p.p.m.	parte por milhão
CN ⁻	Íon Cianeto
SCN	Tiocianato
I.V.	Intra-Venoso
EDTA	Ácido Tetracético d-etilamino
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

1 - INTRODUÇÃO	13
1.1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	13
1.2 - ÚLCERA PÉPTICA	16
1.2.1 - Etiopatogenia da úlcera péptica	17
1.2.1.1 - Fatores genéticos	18
1.2.1.2 - Fatores ambientais	19
1.3 - ASPECTOS GERAIS DOS VEGETAIS CONTENDO GLICOSÍDEOS CIANOGENÍCOS	24
1.3.1 - Mandioca (Manihot Esculenta Crantz)	25
1.3.1.1 - Taxinomia	25
1.3.1.2 - Descrição botânica	25
1.3.1.3 - Descrição das características químicas e nutricionais da mandioca	26
1.3.1.4 - Glicosídeos cianogênicos da mandioca	27
1.4 - GLICOSÍDEOS CIANOGENÍCOS: PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	29
1.5 - ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DO ÁCIDO CIANIDRICO	30
1.5.1 - Toxicocinética	30
1.5.2 - Toxicodinâmica	31
1.5.3 - Manifestações clínicas da intoxicação aguda e crônica por cianeto	31
1.5.4 - Tratamento das intoxicações	33
1.6 - DETERMINAÇÃO DE GLICOSÍDEOS CIANOGENÍCOS EM FLUÍDOS BIOLÓGICOS	34

2 - JUSTIFICATIVA	35
3 - OBJETIVOS	36
4 - MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1 - CASUÍSTICA	37
4.2 - AMOSTRA	38
4.3 - MATERIAL	38
4.3.1 - Equipamentos e Acessórios	38
4.3.2 - Vidrarias	39
4.3.3 - Reagentes e solventes	39
4.3.4 - Calibradores	40
4.4 - MÉTODOS	40
4.4.1 - Acondicionamento da coluna para cromatografia	40
4.4.2 - Procedimento analítico para determinação de tiocianato urinário	40
4.4.3 - Limite de detecção	41
4.4.4 - Curva de calibração	41
4.4.5 - Precisão	41
4.4.6 - Recuperação da coluna cromatográfica	42
4.4.7 - Procedimento analítico para determinação da creatinina urinária	42
4.4.8 - Procedimentos da endoscopia digestiva alta	42
4.4.9 - Avaliação estatística dos resultados	42
4.4.10 - Parecer de ética	42
5 - RESULTADOS	43
5.1 - LIMITE DE DETECÇÃO	43
5.2 - CURVA DE CALIBRAÇÃO	43

5.3 - PRECISÃO	43
5.4 - RECUPERAÇÃO	44
6 - DISCUSSÃO	46
7 - CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54
ANEXOS	66

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Segundo Friedman e Peterson (1998), o estômago é uma dilatação do tubo digestivo com função exócrina e endócrina que atua, principalmente, na continuidade da digestão dos hidratos de carbono e na hidrólise das proteínas oriundas dos alimentos ingeridos, pela ação da pepsina e outras enzimas secretadas por suas glândulas.

As principais afecções gástricas benignas que afetam o homem são as gastrites e a úlcera péptica, sendo que as gastrites são caracterizadas por processos inflamatórios da mucosa gástrica e as úlceras apresentam-se em forma de lesão escavada, geralmente solitária e crônica, que se forma na mucosa esofagogastrointestinal como resultado da digestão ácido-péptica, relacionada ao rompimento do equilíbrio entre as defesas da mucosa e a ação agressiva do suco gástrico (SANIOTO; AIRES, 1991).

As gastrites e as úlceras apresentam etiopatogenia multifatorial, e as evidências sugerem que fatores ambientais e genéticos seriam importantes para ocorrência dessas afecções (ANDREOLLO et al, 1999; KUIPERS et al, 1995).

Dentre os fatores ambientais pode-se destacar a bactéria *Helicobacter pylori*, a qual tem sido associada a um amplo espectro de doenças gástricas (JAVIER; PAJARES, 2003).

Outro fator é a dieta alimentar, que desempenha um papel relevante no desenvolvimento de diversas afecções do trato digestivo (CHEMPEREK; JELENIEWSKI, 2001).

Estudos realizados por Chemperek e Jeleniewski (2001) evidenciaram, através de questionários aplicados a estudantes do ensino médio, que inúmeros fatores ambientais favoreciam as afecções no estômago como, por exemplo, o tipo de alimentação (dieta alimentar), o estilo de nutrição, o horário em que as refeições eram efetuadas e as condições

sócio-econômicas. Dentre os 246 estudantes entrevistados, 15,5% apresentaram constipação e úlcera péptica, ratificando que a dieta alimentar é um fator ambiental relevante para a ocorrência desta afecção.

Segundo os mesmos autores, foi constatado que a maioria dos estudantes não se alimentava regularmente, ou seja, não tinham horários fixos para efetuar suas refeições e os alimentos consumidos eram preferencialmente condimentados com mostarda, ketchup, maionese e pimenta, somando-se a isto o fato que as mesmas eram degustadas rapidamente.

De acordo com os dados do Ministério da Saúde foram registrados no período de 2000 a 2003, no Estado do Pará, 189 casos de óbitos por úlcera gástrica e duodenal.¹

As afecções gástricas malignas são representadas principalmente pelo adenocarcinoma, que é responsável por 95% dos tumores gástricos (RASO et al., 2002).

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer (INCA), o carcinoma gástrico representa, entre os tumores malignos, a segunda causa de óbito no mundo, sendo que no Brasil, está na terceira posição entre as patologias mais frequentes. Esta afecção ocupa o primeiro lugar em afecções do aparelho digestivo na região norte e nordeste (SAMPAIO; MORAES, 2000).

Conforme o Sistema de Informação sobre mortalidade da Fundação Nacional de Saúde, o Estado do Pará, apresentou no ano de 2000, 246 óbitos por neoplasias malignas do estômago, dos quais 158 somente na capital.

A etiopatogenia do câncer gástrico está relacionada a fatores genéticos e ambientais, portanto, multifatorial. O fator genético representa papel importante no desenvolvimento do câncer gástrico, como por exemplo, nos indivíduos que apresentam a síndrome da polipose familiar, uma herança autossômica dominante com alto grau de penetrância, cujo risco de

¹ MS/Funasa/Cenepi – Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM)

desenvolvimento da doença é duas a três vezes superior ao da população em geral. (LYNCH et al., 1996).

Outros fatores a ser destacado, de acordo com os mesmos autores, são os fenótipos sanguíneos, a exemplo do fenótipo A do sistema ABO, particularmente associado a maior incidência de câncer difuso.

Alguns fatores ambientais também estão implicados diretamente na gênese do câncer gástrico, destacando-se os fatores dietéticos, como os compostos N-nitrosos, representados pelas nitrosaminas, hidrocarbonetos policíclicos como o benzopireno entre outros (MÍDIO; MARTINS, 2000).

Uma considerável relação entre a exposição dos compostos N-nitrosos, e o aparecimento de câncer na população. Como exemplo têm-se as N-nitrosopirrolidina substância extremamente carcinogênica presente no toucinho defumado em quantidade significativa; outro composto é a dimetilnitrosamina que está presente em peixes salgados sendo associada à gênese do câncer gástrico (ANDREOLLO, 1994).

Os alimentos defumados também apresentam o benzopireno, substância potencialmente carcinogênica. Estudos epidemiológicos em animais de experimentação demonstraram que através desta dieta alimentar como carnes curadas, carne defumada, bacon, peixe salgado entre outros levou ao aparecimento de papilomas e carcinomas gástricos (SAMPAIO; MORAES, 2000).

Ainda de acordo com os mesmos autores, o consumo de alimentos regionais no norte e nordeste brasileiro pode estar relacionado a carcinogênese gástrica. São, porém de difícil mensuração o consumo destes alimentos e seus efeitos à saúde humana. Em seus estudos constataram que pessoas do sexo masculino apresentavam maior incidência de câncer gástrico, devido, principalmente, aos hábitos alimentares.

1.2 ÚLCERA PÉPTICA

A úlcera péptica gastroduodenal é uma doença de evolução geralmente crônica caracterizada por lesões inflamatórias em áreas do trato digestivo, que resulta na perda circunscrita do tecido (RASO et al., 2002; MENDES, et al. 2002).

Segundo Zaterka et.al (1988), na maioria das vezes a lesão é única e mais raramente, dupla ou múltipla.

A úlcera péptica gastroduodenal apresenta localização variada, sendo que a duodenal constitui a forma predominante, localizando-se em 95% dos casos, no bulbo duodenal, no máximo, a 2cm do músculo pilórico, a maioria das úlceras duodenais têm diâmetro inferior a 2cm, sendo que as maiores, de ocorrência rara, se caracterizam por apresentar um diâmetro entre 3 a 5cm (CASTRO; COELHO; NOGUEIRA, 1993).

Na síndrome de Zollinger-Ellison, as úlceras localizam-se na terceira e quarta porções do duodeno, e no jejuno superior. Tal síndrome consiste em um tumor endócrino que produz quantidade excessiva e sem controle fisiológico de gastrina (MENDES, et al. 2002; MINCIS, 2002).

A úlcera gástrica ocorre predominantemente no antro e localiza-se de preferência, na região adjacente à mucosa do corpo gástrico produtora de ácido clorídrico (ZATERKA et al., 1988).

Os aspectos histopatológicos da úlcera péptica ativa são caracterizados por um tecido necrótico do tipo fibrinóide presente no fundo da lesão, uma camada de exsudato celular com predomínio de neutrófilos, uma camada constituída por tecido de granulação e um tecido fibroso cicatricial (RASO et al., 2002). Segundo o mesmo autor, na úlcera péptica inativa, a camada superficial de necrose é escassa ou inexistente e o exsudato de neutrófilo é discreto.

A úlcera gástrica ocorre em proporção menor do que em relação à duodenal. As manifestações clínicas destas duas afecções apresentam características similares, podendo ser assintomáticas e sintomáticas. Os sintomas são caracterizados por dor em queimação acentuada, especialmente no epigástrico, apetite incomum e a dor noturna que, invariavelmente, desperta o ulceroso à noite, sendo quase patognomônicos da úlcera duodenal, principalmente quando melhoram após a ingestão de alimento ou uso de antiácido. (BERROTARÁN et al, 2001; LOOR SOLÓRZANO, 1997; RODRÍGUEZ et al, 2001).

Para o diagnóstico da úlcera péptica utiliza-se o quadro clínico relatado pelo paciente e a esofagogastroduodenoscopia que é o exame mais importante indicado para detecção da úlcera, pois possibilita a realização de biópsias e a obtenção de material para estudo citológico (ANDREOLLO, et al., 1999).

1.2.1 Etiopatogenia da úlcera péptica

A etiopatogenia da úlcera péptica é ainda pouco conhecida. Do ponto de vista epidemiológico, sua prevalência é difícil de ser estimada, haja visto a subjetividade dos sintomas e sua semelhança com outros quadros dispépticos. Contudo, tanto os fatores genéticos quanto os ambientais, por apresentarem em si um número grande de variantes determinam, por isso, as condições etiopatogênicas (ANDREOLLO et al, 1999; SOUZA, 2000).

O rompimento do equilíbrio entre os fatores agressivos e defensivos da mucosa gastrintestinal, geralmente por aumento dos fatores agressivos, por diminuição dos defensivos ou por ambas as alterações, podem levar à úlcera péptica (MINCIS, 2002).

Inúmeros fatores contribuem para a agressão à mucosa gastroduodenal, comprometendo sua integridade e colaborando para a patogênese da úlcera péptica,

provocando o rompimento do equilíbrio entre os fatores agressores como o ácido clorídrico e pepsina e aqueles responsáveis por neutralizá-los, como a barreira muco-bicarbonato, os fosfolípidios ativos da superfície epitelial de revestimento, a camada lipoprotéica da membrana celular e as firmes ligações entre as células, o fluxo sanguíneo, a capacidade de regeneração da membrana epitelial dentre outros (CHEHTER, 1999; LEÓN BARUA et al, 1997).

De acordo com os mesmos autores, em 98% dos casos, a úlcera ocorre no bulbo duodenal, ou na mucosa gástrica, e se apresenta menos acentuada no terço inferior do esôfago, no divertículo de Meckel com mucosa gástrica ectópica, na borda intestinal de gastroenteroanastomose e, finalmente, no estômago, duodeno ou jejuno proximal na síndrome de Zollinger-Ellison.

1.2.1.1 Fatores genéticos

Variáveis genéticas podem aumentar a predisposição ao desenvolvimento da úlcera péptica, pois evidências indicam que pelo menos em alguns grupos de ulcerosos, os fatores hereditários fornecem elementos predisponentes da doença (BALLESTERO; ARTURO, 2000).

Os fatores genéticos têm sido abordados dentro de três linhas de estudo, quer sejam o estudo da agregação familiar, de gêmeos e de marcadores genéticos (CASTRO et al., 1993).

De acordo com Mincis, (2002), a incidência de úlcera duodenal é três vezes maior em descendentes ulcerosos duodenais e de igual proporção à da úlcera gástrica em descendentes de ulcerosos gástricos, pois estudos em família através da comparação do mesmo grau de parentesco foram realizados por vários grupos, que demonstraram que a frequência da úlcera

péptica é 3 a 5 vezes maior em parentes de primeiro grau – entre pacientes ulcerosos – do que nos mesmos parentes de controle ou da população em geral.

Os estudos em gêmeos, comparando a frequência de ocorrência da doença em gêmeos homozigóticos e dizigóticos demonstraram a maior incidência em gêmeos homozigótico, dentre os marcadores genéticos associando a doença ao fator genético conhecido, pode-se destacar o grupo sanguíneo O, pois 30 - 40% das pessoas com este grupo sanguíneo apresentam maior incidência de úlcera péptica quando, comparadas com os demais grupos sanguíneos (CORTI et al, 1986).

O estado secretor, de acordo com o mesmo autor, também é um marcador genético de ocorrência da úlcera, pois pessoas que não apresentam a capacidade de secretar substâncias do grupo sanguíneo do sistema ABH na saliva e no suco gástrico demonstraram, maior incidência de úlcera duodenal em relação aos secretores, apresentando um índice 1,5 maior em relação aos mesmos, destacando-se também outros marcadores relacionados à gênese da doença como os fatores de histocompatibilidade (HLA-B5, HLA-B12, HLA-B35, HLA-Bw49) pepsinogênio do tipo I, dentre outros.

1.2.1.2 Fatores ambientais

- *Helicobacter pylori*

Desde o século XIX patologistas europeus já tinham descrito a presença de bactérias espiraladas no estômago do homem, mas somente na década de setenta do século XX, com a utilização de técnicas como a biópsia, começou-se a observar que 80% dos estudos histopatológicos em pacientes com úlcera gástrica apresentavam bacilos gram-negativos (EISING; SILVA, 2002).

A bactéria foi isolada pela primeira vez por Marshall em 1983, a partir de material de biópsia de um paciente investigado pelo método de detecção de espécies do gênero *Campylobacter* (DUNN; COHEN; BLASER, 1977; KUIPERS et al, 1995).

Inicialmente este microorganismo foi denominado de *Campylobacter pylori*, e posteriormente de *Helicobacter pylori*, pois o mesmo apresentava estruturas e propriedades enzimáticas que não se enquadravam no gênero *Campylobacter* (WARREN, 2000).

Os conhecimentos sobre a fisiopatologia da úlcera péptica foram revolucionados pelas evidências de sua associação à bactéria *H.pylori*, sendo esta, também um agente promotor no desenvolvimento de neoplasias como o câncer gástrico (EL-BARRAWY; MORAD; GABER, 1997).

Esta bactéria apresenta características morfológicas gram-negativa, medindo de 2,5 a 5,0 μ , possuindo de um a seis flagelos do tipo unipolar. É uma bactéria microaerofílica, que cresce preferencialmente a 37°C e tem como seu *habitat* o estômago humano (DIETZ, et. al., 2001; GRAHAM, 2003).

Segundo Javier e Pajares (2003), após diagnóstico confirmado de *H.pylori* a úlcera duodenal apresenta maior prevalência em relação à úlcera gástrica.

O *H.pylori* produz várias proteínas que parecem mediar ou facilitar seus efeitos deletérios sobre a mucosa gástrica. Atualmente, tem sido bastante ressaltada a associação da citotoxina *CagA* com aumento da inflamação gástrica e conseqüentemente, quadros clínicos mais graves. As cepas virulentas (*CagA*⁺) induzem forte processo inflamatório, com denso infiltrado de neutrófilos, que causam graves danos à mucosa gástrica (MARTINS et al, 2002).

Para Malaty (1994) existem controvérsias em relação à participação do *H.pylori* na gênese da doença, pois alguns estudos demonstram discrepâncias observadas em determinadas regiões, entre a alta prevalência da bactéria e a baixa ocorrência de úlcera

péptica, como por exemplo, na Nigéria, onde se observa uma prevalência de *H.pylori* uniformemente elevada e taxas de úlcera péptica com grandes variações de região para região, constituindo o chamado enigma africano. Os autores concluíram que existem outros fatores além do *Helicobacter pylori* que devem participar juntamente na gênese da doença ulcerosa, porém ainda não esclarecidos.

Dados epidemiológicos demonstram que no Brasil a bactéria *H.pylori* apresenta elevada incidência em crianças, sendo que, em Belém esta taxa atinge 87% das afecções (MARTINS et al, 2002).

Ainda segundo os autores, em relação aos indivíduos adultos, a presença da bactéria na referida capital mostra-se com altos índices de prevalência como fator etiológico da úlcera péptica apresentando uma incidência de 92% nos casos confirmados da doença.

- TABAGISMO

O tabagismo é um importante fator de risco associado à úlcera péptica, pois foi relatado tanto em estudos epidemiológicos quanto clínicos a forte associação entre o hábito de fumar e a incidência da afecção. Sabe-se que a frequência desta em fumantes é o dobro daquela observada em não-fumantes, existindo uma correlação positiva entre o número de cigarros consumidos e a prevalência da úlcera péptica. (CASTRO et al., 1993).

Montovani (2002) ressalta que essa afecção é maior em fumantes do que em não fumantes, pois nos tabagistas a cicatrização é menor e ocorre de maneira lenta.

Segundo Ishii e Kuyama (2002) estudos epidemiológicos realizados no Japão revelaram que o hábito de fumar agrava o desenvolvimento da úlcera péptica, principalmente em associação com bebidas alcoólicas, aumentando ainda mais as injúrias da mucosa gástrica.

- ANTIINFLAMATÓRIOS

Os antiinflamatórios não-esteróidais são hoje considerados como uma causa estabelecida de úlcera péptica, podendo ocorrer após administração oral ou sistêmica das drogas e com praticamente todos as especialidades farmacêuticas desta classe de fármacos comercializados atualmente (ARCE SONCO, 1997; FULLER, et al., 1997; JAVIER; PAJARES, 2003).

O mecanismo responsável pela indução de lesões crônicas no epitélio gastroduodenal é atribuído principalmente à inibição da cicloxigenase 1, enzima-chave na síntese das prostaglandinas. Dessa forma os antiinflamatórios causam uma redução significativa nos teores de prostaglandinas das mucosas, sendo que as prostaglandinas E e A protegem a mucosa gástrica através de seus efeitos estimulantes sobre a produção de muco e secreção de bicarbonato, enquanto aumenta o fluxo sanguíneo mucoso e reduz o tumor celular, sendo considerados fatores de proteção ou neutralizadores da ocorrência de úlceras (FARIAS et al, 1999; ZATERKA et al.,1988).

Estudos epidemiológicos evidenciaram que 25% dos pacientes que utilizaram regularmente antiinflamatórios não esteroidais (aspirina) para tratamento de artrites desenvolveram úlcera péptica. (FULLER, et al., 1997; JAVIER; PAJARES, 2003).

- HÁBITOS ALIMENTARES

Segundo Zaterka et al (1988) os fatores dietéticos têm sido atribuídos como possíveis participantes na etiopatogenia da úlcera péptica, como exemplo relata-se o consumo de refrigerantes, o café, o álcool, os condimentos, entre outros.

Os estudos sobre o papel da ingestão de bebidas alcoólicas na ocorrência da úlcera péptica são inconclusivos e não sustentados pelos dados epidemiológicos disponíveis, embora

possa ocorrer sintoma dispépticos e hiperemia da mucosa gástrico. Alguns autores sugerem que em baixa concentração há estimulação da secreção ácida. Por outro lado, o consumo moderado a elevado de etanol inibe a referida secreção (CASTRO et al., 1993).

O efeito estimulante do café sobre a secreção ácida e os sintomas dispépticos causados pelo mesmo estão bem demonstrados através de estudos científicos. No entanto, as evidências entre maior consumo de café e incidência de úlcera péptica são conflitantes, pois estudos epidemiológicos não demonstraram correlação entre a ocorrência de úlcera péptica e o consumo de café e de bebidas cafeinadas (CASTRO et al., 1993).

Estudo realizado por Budagovskaia e Salnikova (1997) entre 500 indivíduos, com faixa etária entre 16 a 55 anos de ambos os sexos, que responderam um questionário para caracterização do tipo de alimentação e verificação de possíveis afecções gastrintestinais, fornecem como resultado que a ingestão elevada de carboidratos e gordura animal associados ao baixo consumo de vegetais e frutas desempenham importante papel no desenvolvimento da úlcera duodenal no grupo pesquisado.

O consumo de alimentos condimentados pode ser fator importante no desenvolvimento da úlcera péptica, pois a utilização habitual destas especiarias acarreta transtornos gastrointestinais como a hiperemia na mucosa gástrica, constipação intestinal, contribuindo para a gênese da úlcera péptica (AZEVEDO et al, 1999; CHEMPERER; JELENIEWSKI, 2001).

Inúmeras afecções no estômago estão associadas à dieta alimentar, mais especificamente ao consumo de mandioca. Estudos realizados em 3 cidades no sul da Etiópia demonstrou que 450 indivíduos dos questionários analisados apresentavam problemas gastrointestinais, 50% eram relacionados a distúrbios e dores epigástricas, destes 38,7% relataram distensão abdominal e vômitos (ABUYE; KELBESSA; WOLDE-GEBRIEL, 1998).

Estas afecções, segundo os mesmos autores, no estômago são atribuídas ao consumo elevado da mandioca.

Esta elevada ingestão de alimentos derivados da mandioca contendo glicosídeos cianogênicos, também faz parte da dieta alimentar da população paraense através de inúmeras iguarias como a *maniçoba*, *farinha de mandioca*, *farinha de tapioca*, *tucupi*, entre outras. De que dados na literatura relacionam a base desta dieta alimentar a este tipo de afecção, permitindo especular-se que este hábito de consumo também seja um fator importante para o desenvolvimento da gênese da úlcera péptica nesta população.

1.3 ASPECTOS GERAIS DOS VEGETAIS CONTENDO GLICOSÍDEOS CIANOGENICOS

Mais de 2000 espécies vegetais apresentam em sua composição química glicosídeos cianogênicos. Cerca de 110 famílias botânicas contendo cianogênicos apresentam as maiores concentrações desse metabólito nas folhas, mas o composto também está presente em quantidade considerável nas raízes, sementes e outros tecidos. Ressalte-se que tecidos jovens (brotos) apresentam teores mais elevadas deste composto, bem como, a concentração varia entre as diversas espécies vegetais (NAMBISAN; SUNDARESAN, 1984).

Na ingestão de vegetais que contenham glicosídeos cianogênicos, o pH ácido do estômago possibilita a liberação do ácido cianídrico já que a hidrólise de glicosídeos é favorecida quando no meio ácido (MÍDIO; MARTINS, 2000).

A hidrólise dos glicosídeos no organismo humano pode ser catalisada pelas β -glicosidases oriundas da flora gastrintestinal e através da presença de enzimas endógenas (glicosidases específicas) do vegetal. A liberação das enzimas e, conseqüentemente, o surgimento do ácido resulta a partir de processos mecânicos de preparo de alimentos como a prensagem, moagem, trituração, etc. (KAMALU, 1995).

1.3.1 Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)

1.3.1.1 Taxonomia

A mandioca é uma *Euphorbiaceae* que pertence ao gênero *Manihot*, denominada *Manihot esculenta* Crantz. Tem sido objeto de estudos científicos por sua aplicabilidade em pesquisas laboratoriais, mas principalmente por sua importância socioeconômica. (ANDRADE FILHO; CAMPOLINA; DIAS, 2001).

De acordo com estudos preliminares, o gênero *Manihot* é oriundo do território norte americano e foi trazido, no período colonial para o Brasil, a América Central e o México. (ANDRADE FILHO; CAMPOLINA; DIAS, 2001).

Atualmente, as culturas de mandioca estão espalhadas por todas as regiões de clima tropical. Ainda segundo Carvalho e Pereira (1979), a planta foi levada pelos portugueses da América até o continente africano.

Existe uma grande quantidade de variedades da espécie *Manihot esculenta* Crantz, entre elas grupos de mandiocas mansas, doces ou de mesa e mandiocas bravas, amargas ou tóxicas. Está constatado que as mandiocas bravas são mais tóxicas que as mansas e a única maneira de distingui-las é pelo seu efeito nocivo (ANDRADE FILHO; CAMPOLINA; DIAS, 2001).

1.3.1.2 Descrição botânica

As mandiocas são descritas por Carvalho e Pereira (1979) como plantas herbáceas quando novas, porém quando crescem, ficam lenhosas, subarborescentes ou raramente arbóreas. O sistema radicular, segundo Flores (1998) é superficial, constituído por um número relativamente pequeno de raízes. Afirma a autora que parte deste sistema pode acumular grande quantidade de amido; formando assim, raízes tuberosas ou cônicas ou, mais raramente, cilíndricas e fusiformes.

Na descrição do sistema radicular, a raiz é tuberosa e constituída por uma película suberificada, de coloração branca acinzentada ou marrom – avermelhada; possui uma casca, geralmente branca e espessa, rica em látex, que, segundo Cereda e Mattos (1996) contém o principal agente tóxico da mandioca, o ácido cianídrico.

No cerne da raiz, apresenta um cilindro com certa quantidade do mesmo agente, porém em menor concentração, em relação à acumulada na casca (CEREDA; MATTOS, 1996; CÂMARA; GODOY; J. FILHO, 1984).

O caule não ramificado de vários modos apresenta altura de 1 a 2 metros quando a planta alcança sua maturidade. (CARVALHO; PEREIRA, 1979).

Ainda segundo os autores, no início do desenvolvimento a planta é de coloração verde, posteriormente, torna-se suberificado e assume cor acinzentada (variedade branca) ou marrom (variedade parda).

As folhas apresentam coloração verde, palminérveas, fendidas, podendo ser constituída por 3, 5 ou 7 lobos, mais ou menos estreitos e longos ou estrangulados na parte mediana. Os brotos podem ser verdes ou arroxeados, sendo que as flores estão localizadas em axilas das ramificações. As masculinas localizam-se em posição superior às femininas; estas geralmente em número de duas. Os frutos são cápsulas triloculares e deiscentes. Contém sementes carunculadas de forma ovóide e elíptica, coloração marrom-acinzentada com manchas mais escuras, lembrando muito a semente de mamona em tamanho reduzido; apresentam tegumento consistente, endosperma e embrião (CÂMARA; GODOY; J. FILHO, 1984).

1.3.1.3 Descrição das características químicas e nutricionais da mandioca

O vegetal apresenta uma composição química complexa, que inclui enzimas, proteínas, aminoácidos, carboidratos, fenóis, etc. Estes elementos estão distribuídos em quantidade

variável nas diversas partes da planta, como também entre as diferentes variedades do vegetal (FUKUDA, 1982; NAMPOOTHIRI; PANDEY, 1999).

Um dos principais componentes da mandioca é o glicosídeos cianogênicos do qual o ácido cianídrico é liberado por ação de ácidos ou enzimas (linamarases) presentes tanto na casca branca quanto na polpa (EL-DASH; MAZZARI; GERMANI, 1994).

Segundo Fukuda (1982) e Cereda e Mattos (1996) o papel que este ácido desempenha na planta ainda é objeto de estudos ainda não conclusivos. Uma das possíveis funções deste ácido pode estar relacionada à proteção contra doenças e pragas. Esta afirmativa fundamenta-se pela grande resistência da mandioca em solos ácidos, arenosos e por suportar climas diversificados. Sua rusticidade lhe confere resistência a vários tipos de pragas e doenças, que, por outro lado, são frequentes em plantas sob as mesmas condições.

TABELA I - Composição química (%) da raiz da mandioca

<i>COMPONENTES</i>	<i>%</i>
Umidade	70,25
Amido	21,45
Açúcares	5,13
Proteínas	1,12
Gordura	0,41
Fibra	1,11
Cinza	0,54

Fonte: El-Dash et al., 1984.

1.3.1.4 Glicosídeos cianogênicos da mandioca

Em 1906, foi isolada a linamarina, sendo então, atribuída a esta substância a responsabilidade pela toxicidade da mandioca. Somente em 1968, porém, constatou-se que a linamarina e lotaustralina constituíam o elemento cianogênico da mandioca. Estudos

demonstraram que estes glicosídeos cianogênicos encontram-se em teores de 93% e 7%, respectivamente na planta (CARVALHO; PEREIRA, 1979).

Existe uma reação catalisada pela enzima linamarase presente na mandioca a partir do contato dela com os glicosídeos cianogênicos após ruptura da estrutura celular da planta, o que promove a hidrólise da mesma liberando, assim, o ácido cianídrico (KAMALU, 1995).

É interessante notar que embora essa reação possa não ocorrer na planta, as condições existentes em organismos, tanto humanos como animal fazem com que enzimas, presentes no trato digestivo, efetivem a citada reação com os glicosídeos. Desta reação, podem advir sintomas de intoxicação dependendo da quantidade de alimento ingerido (FLORES, 1998; GALVÃO, 1996; BION, et al., 1997).

Existe uma estimativa que se diferencia o tipo de mandioca quanto a sua toxicidade, de acordo com Carvalho e Pereira (1979) e Flores (1998), existem as mandiocas mansas que apresentam menos de 50ppm de HCN na raiz; as tóxicas moderadas com teor de 50 a 100 ppm e as perigosamente tóxicas que possuem HCN acima de 100 ppm na raiz tuberosa desprovida de casca.

Os autores ainda ressaltam que as raízes desprovidas de suas cascas apresentam concentrações de ácido cianídrico que variam de 15 a 400 ppm (calculado como *mg* de HCN por Kg de peso fresco). Porém já foram obtidas amostras com teores de 10 ppm e 2000 ppm, sendo que os teores médios está na faixa de 30 a 150 ppm.

A diferença de toxicidade entre cultivares de mandioca mansas e bravas é mais bem representada pelos teores de glicosídeos cianogênicos das partes internas das raízes tuberosas, demonstrado na Tabela II. A Tabela III representa os teores desse ácido em relação aos procedimentos aplicados para eliminação desta substância. (ALBUQUERQUE, 1969; CARVALHO; PEREIRA, 1979).

TABELA II – Distribuição de HCN (%) nas diferentes partes do vegetal.

<i>Partes da Planta</i>	<i>Mandioca Doce(%)</i>	<i>Mandioca Amarga(%)</i>
Folhas adultas	0,0162	0,0410
Caule verde	0,0144	0,0240
Porção interna do lenho	0,0430	0,1130
Medula	0,0072	0,0027
Raiz fresca (parte interna da casca)	0,0197	0,0530

Fonte: Albuquerque, 1969.

TABELA III – Perdas de compostos cianogênicos durante o processamento de raiz de mandioca.

<i>Processo</i>	<i>Perda de Ácido Cianídrico (%)</i>
Fervura	25-75
Secagem:	
➤ Solar	40-50
➤ Mecânica	40-50
Branqueamento e secagem solar	50
Esmagamento e secagem solar	95-98
Branqueamento a vapor	17
Fritura	13

Fonte: Cardoso, 1999.

1.4 GLICOSÍDEOS CIANOGENICOS: COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Os glicosídeos cianogênicos são constituídos por uma porção glicídica e uma aglicona. Segundo Mídio e Martins (2000), estes compostos são definidos como substâncias de origem vegetal que por hidrólise, em presença de um catalisador, desdobram-se em açúcar e HCN.

Os glicosídeos são formados por uma ligação semiacetal entre os grupos reduzidos do açúcar e a hidroxila alcoólica ou fenólica da aglicona, sendo que a aglicona pode apresentar um grupo alquila, arilalquila ou arila, o qual define as características dos glicosídeos. Quando este grupo é representado por hidroxinitrilas (cianidrinas), pode-se classificar esse composto como glicosídeo cianogênico. Estes, quando presentes em plantas são derivados β - glicosídeos de α -hidroxinitrilas; quanto à facilidade de hidrólise, é uma característica importante dos glicosídeos, nesta reação química libera-se o açúcar e a cianidrina, que por sua vez, degrada-se a ácido cianídrico, que é o responsável pela toxicidade do composto (MÍDIO; MARTINS, 2000).

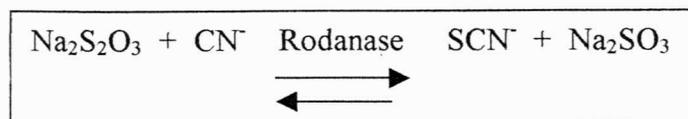
1.5 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DO ÁCIDO CIANÍDRICO

1.5.1 Toxicocinética

A absorção do ácido cianídrico ocorre principalmente por via inalatória e pelo trato gastrointestinal. Pela primeira, o ácido é rapidamente absorvido através dos capilares alveolares que o conduz até o sangue, onde se liga à hemoglobina (BURTIS; ASHWOOD, 1998; KLASSEN, 2003).

A absorção pela via cutânea, mesmo com a pele íntegra, também pode levar a intoxicação, principalmente quando grandes áreas são expostas ao cianeto. Diferente da via inalatória e oral, os sinais e sintomas apresentados são tardios. A distribuição do cianeto se processa rapidamente pelos tecidos, ligando-se as proteínas plasmáticas na taxa de 60% (PARKINSON, 1996).

A biotransformação do ácido cianídrico é catalisada pela enzima mitocondrial rodanase (EC 2.8.1.1), originando o tiocianato. Tal reação é limitada pelo fornecimento endógeno de tiosulfato (KLASSEN, 2003).

ESQUEMA I: Reação de biotransformação do cianeto

A meia-vida biológica do cianeto no organismo humano varia entre 20 a 60 minutos e as concentrações eritrocitárias são quatro ou mais vezes superiores as séricas, em função de sua concentração nos eritrócitos (OLUWOLE; SOWUNMI, 2002).

O tempo de excreção sob a forma de tiocianato é em torno de 20 horas, com *clearance* aproximado de 160 mL/min⁻¹ (SCHVASTSMAN, 2002).

1.5.2 Toxicodinâmica

O mecanismo de ação principal do cianeto é a capacidade de inibir enzimas possuidoras de metais em suas estruturas, especialmente o ferro. Dentre elas, destaca-se a citocromo-oxidase que se processa de forma instantânea, originando um complexo chamado citocromo-oxidase-CN. (PARKINSON, 1996; CEREDA ; MATTOS, 1996).

A formação do complexo citocromo-oxidase – CN resulta na inibição da respiração celular, desencadeando uma hipóxia citotóxica. O processo de fosforilação oxidativa também é afetado pelo íon cianeto (STRAYER, 1996).

1.5.3 Manifestações clínicas da intoxicação aguda e crônica por cianeto.

- **INTOXICAÇÃO AGUDA**

A maioria das pessoas com exposição aguda ao cianeto geralmente morrem imediatamente, pois a utilização do oxigênio tecidual é inibida, apresentando um estágio de estimulação do sistema nervoso central com hiperemia e cefaléia, convulsões hipóxicas, parada respiratória seguida de morte (KLASSEN, 2003).

• INTOXICAÇÃO CRÔNICA

Estudos realizados por Soto-Blanco et.al (2001) utilizando cobaias (ratos) que receberam pequenas doses ou mais de cianeto por longo período de tempo objetivando caracterizar possíveis manifestações da intoxicação dentre elas: o desenvolvimento de diabetes pancreático, o hipotireoidismo e doenças neurológicas revelaram que a administração crônica do cianeto promoveu lesões neuropatológicas nos ratos, sem afetar o metabolismo da glândula do pâncreas e da tireóide.

Diversos estudos têm associado à ingestão de glicosídeos cianogênicos, presente em alguns alimentos, à ocorrência de danos ao sistema nervoso central e trato gastrointestinal, porém, mesmo assim, os relatos da intoxicação crônica ao ácido cianídrico e seus derivados são raros na literatura especializada (BANEAMAYAMBU et al., 1997; MLINGI et al., 1998; PADMAJA, 1995).

Os efeitos tóxicos resultantes da exposição aos resíduos de glicosídeos cianogênicos, ácido cianídrico e do tiocianato, podem ser representados podem acarretar sério risco a vida dos indivíduos expostos, enquanto que a exposição a baixas concentrações por longo período de tempo poderá acarretar o aparecimento de bócio, neuropatia periférica (Doença de Konzo) (FIGURA 01), diabete pancreática e afecções gastrointestinais (BANEAMAYAMBU et al, 1997; OLUWOLE, 2002; SREEJA, 2003).

FIGURA: 01



Fonte: www.nutrition.uu.se/.../group97/cassava/konzo3.jpg

1.5.4 Tratamento das intoxicações

As intoxicações agudas possibilitam uma terapia específica, mas nos casos crônicos oferecem dificuldades no estabelecimento de um tratamento adequado em decorrência de fatores inespecíficos como a variação da dose durante um período indeterminado, a frequência do uso e as vias de exposição (RANG; DALE, RITTER, 2001; SCHVASTSMAN, 2002).

Para a remoção do íon cianeto do organismo humano na intoxicação aguda o principal mecanismo é a conversão através da enzima mitocondrial rodanase (EC 2.8.1.1), para tiocianato, e para acelerar a desintoxicação, administra-se via intravenosa de tiosulfato de sódio (5mL de uma solução aquosa a 25%), e o tiocianato formado é prontamente excretado na urina (KLASSEN, 2003).

Segundo o mesmo autor, outro tratamento consiste na administração de substâncias como nitrito, que oxidam a hemoglobina em metemoglobina. O nitrito de amila é geralmente administrado por inalação, enquanto uma solução de nitrito de sódio tem administração intravenosa (10mL de uma solução a 3%).

A metemoglobina, por sua vez, compete com a citocromo-oxidase pelo íon cianeto. A ação da massa favorece a metemoglobina em relação à enzima citocromo-oxidase, formando daí a cianometemoglobina, e a referida enzima é restaurada. (RANG; DALE, RITTER, 2001; SCHVASTSMAN, 2002).

O 4-dimetil-aminofenol, por outro lado, também oxida a hemoglobina em metemoglobina, pode ser usado em uma dose intravenosa de 3mg/kg. Quanto aos compostos de cobalto têm uma afinidade pelo cianeto, e o EDTA atualmente está sendo usado em alguns países para tratar a intoxicação por cianeto em seres humanos (KLASSEN, 2003).

1.6 DETERMINAÇÃO DE GLICOSÍDEOS CIANOGENICOS EM FLUÍDOS BIOLÓGICOS

Para determinação do tiocianato em fluídos biológicos, diversos métodos têm sido utilizados, entre eles a cromatografia gasosa por captura de elétrons/detecção de fotoionização, CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), cromatografia de troca iônica, dentre outras (BERENGUER et al, 2002; BURTIS; ASHWOOD, 1996; CURTIS;GRAYLESS;FALL, 2002).

Métodos espectrofotométricos têm sido descritos e largamente utilizados para determinação do íon tiocianato em amostras de urina, usando a reação de Pettigrew e Fell (1972). O procedimento para análise é simples e eficiente, sendo que a resposta linear apresenta alta reprodutibilidade (acima de 16mg SCN/L) (GALVÃO et al, 1996; NAMBISAN ; SUNDARESAN, 1984; SIQUEIRA et al, 1996; TOMINAGA ; MÍDIO, 1991).

2. JUSTIFICATIVA

A etiopatogenia da úlcera péptica está associada principalmente à presença da bactéria *Helicobacter pylori*, mas outros fatores genéticos e ambientais, por apresentarem em si um número grande de variantes, contribuem para a gênese da patologia (ANDREOLLO et al, 1999; EL - BARRAWY; MORAD; GABER, 1997).

O hábito alimentar também é um fator relevante para o desenvolvimento de afecções no trato gastrintestinal, e ao se considerar que a população paraense apresenta característica peculiar referente ao consumo de derivados da mandioca, como a *farinha*, o *tucupi*, a *tapioca* entre outras iguarias; é de relevante importância avaliar o hábito alimentar com a referida afecção do trato gastrintestinal.

3. OBJETIVO

Determinar os teores de tiocianato urinário em portadores de úlcera péptica considerando-se a presença de *Helicobacter pylori* e comparando com indivíduos sadios a fim de avaliar a colaboração da ingestão elevada de derivados do ácido cianídrico na ocorrência da patologia e a eficiência nos processos de remoção desses compostos utilizados na culinária paraense.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 CASUÍSTICA

As concentrações de tiocianato urinário foram determinadas em 100 voluntários participantes do estudo, assim distribuídos: 100 indivíduos sem achados clínicos sugestivos de úlcera péptica, e 22 participantes com achados clínicos sugestivos de úlcera péptica e confirmado posteriormente por Endoscopia Digestiva Alta (Esofagogastroduodenoscopia).

Foram selecionados participantes de ambos os sexos com idade variando de 18 a 60 anos, os quais foram considerados motivos de exclusão do ensaio o hábito de fumar, a presença de patologias concomitante, bem como aqueles faziam uso de qualquer medicamento.

Os participantes foram recrutados aleatoriamente na cidade de Belém, Pará, no período que compreende entre Janeiro/2000 – Fevereiro/2001. Aqueles que apresentavam achados clínicos sugestivos de afecção do trato gastrointestinal foram encaminhados ao Hospital João de Barros Barreto para avaliação clínica e posteriormente ao setor de Endoscopia para a realização do referido exame.

Um questionário informativo foi aplicado aos participantes do estudo com vistas a caracterização do hábito alimentar (ANEXO 01). Em relação à ingestão de derivados de mandioca foram classificados em 03 grupos, assim descritos (OKAFOR; OKOROWKWO; MADUAGWU, 2002).

- a) Grupo com reduzida ingestão de derivados do ácido cianídrico
- b) Grupo com moderada ingestão de derivados do ácido cianídrico
- c) Grupo com elevada ingestão de derivados do ácido cianídrico

Os indivíduos do *grupo a* ingeriam de forma reduzida os produtos derivados da mandioca (ocasionalmente).

O *grupo b* apresentava ingestão moderada, isto é, duas a três vezes por semana consumiam iguarias regionais, tais como *maniçoba*, *tacacá*, *farinha de mandioca*, *tapioca* etc., todas derivadas da mandioca.

Os indivíduos do *grupo c*, que apresentavam hábito alimentar de consumo diário associado a exposição ocupacional (cultivo, processamento, preparo e comércio) envolvendo o produto estudado, e estavam por assim ser, diretamente expostos ou em contato com o agente tóxico e, conseqüentemente, apresentavam uma ingestão acentuada.

4.2 AMOSTRAS

Uma amostra de urina (5 a 10mL) foi fornecida por cada participante do ensaio. Desta, uma alíquota foi destinada a determinação do tiocianato urinário e outra para a determinação da creatinina urinária. O tempo decorrido entre a coleta e a análise foi inferior a 3 dias. As amostras foram mantidas sob refrigeração a -4°C .

4.3 MATERIAL

4.3.1 Equipamentos e acessórios

- Espectrofotômetro – 6405 UV/Vis – JENWAY®;
- Agitador tipo Vórtex®;
- Sistema de evaporação em Banho-Maria (Hemoquímica)®
- Micropipetas automáticas com volume regulável
- Medidor de pH (*Digimed*)®
- Balança Analítica (*Acculab*)®.

4.3.2 Vidraria

Foi utilizada vidraria comum de laboratório, tratada inicialmente com solução de hipoclorito de sódio a 5%, posteriormente lavada com detergente neutro em água corrente e finalmente com água deionizada.

4.3.3 Reagentes e Solventes

- Ácido Clorídrico (HCl) 0,5M; - MERCK[®]
- Solução de Óxido de Arsênio (As_2O_3) - MERCK[®] a 2% - 20g/L em 0,1M NaOH - MERCK[®], titulado com HCl 0,1M - MERCK[®]; $f=1,00$;
- Água de Bromo 0,5% v/v; - MERCK[®]
- Reagente de p-fenilenodiamina (p-PDA) 2g/L em HCl 0.5M. - MERCK[®]
- Reagente de Piridina - MERCK[®] - Misturar 6 volumes de piridina com 1 volume de ácido clorídrico (HCl) concentrado e 4 volumes de água deionizada.
- Solução Cromogênica - O reagente de p-fenilenodiamina (p-PDA) e o reagente de Piridina são misturados na proporção de 1:3 imediatamente antes da análise.
- Solução Padrão de Tiocianato de Potássio - 200mg/mL - MERCK[®]
- Soluções de Trabalho - Efetuaram-se diluições da solução estoque de tiocianato de potássio em água deionizada para obtenção das soluções de trabalho nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0mg/L.
- Florisil 60-100 MESH - MERCK[®] e Gel de Sílica - MERCK[®] (1:1)
- Kit de Creatinina - LABTEST DIAGNOSTICA S.A.[®]

4.3.4 Calibradores

No preparo dos calibradores, alíquotas de 125; 250; 500 e 1.000 μ L da solução estoque de tiocianato foram transferidas para frascos de vidro âmbar aos quais adicionou-se 50mL de urina para obtenção de concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0mg/L.

Nota: Os calibradores foram mantidos a -4°C .

4.4 MÉTODOS

4.4.1 Acondicionamento da coluna para cromatografia

A coluna cromatográfica foi preparada com uma mistura de Florisil 60-100 MESH (1): gel de sílica (1), de modo a preencher um espaço de 2,5cm desta. A seguir, processou-se a lavagem com 20mL de ácido clorídrico (0,5M) e 10mL de água deionizada durante 3 dias consecutivos, com dez lavagens diárias. O fluxo da coluna foi padronizado em 16 gotas/minuto.

A coluna cromatográfica foi submetida à lavagem com 10mL de água deionizada e em seguida com 10mL de Ácido Clorídrico (0,5M), entre cada eluição de amostra.

4.4.2 Procedimento analítico para determinação de tiocianato urinário

O tiocianato é previamente separado da matriz biológica por extração sólido-líquido, onde os grupos funcionais ciclo-hexil da sílica permitem a passagem sem restrições do tiocianato. A uma alíquota de 1mL de urina adicionou-se 5mL de ácido clorídrico (0,5M), aplicada sobre a coluna cromatográfica (Florisil/Gel de Sílica) que foi lavada com 4mL de ácido clorídrico (0,5M) até completar o volume de 10mL.

A uma porção de 1mL do eluato adicionou-se 0,2mL de Água de Bromo (0,5%), 0,5mL de solução de Óxido de Arsênio e 2mL de solução Cromogênica; agitou-se em Vórtex

por 30 segundos. O complexo amarelado formado foi submetido à leitura em espectrofotômetro a 452nm.

4.4.3 Limite de detecção

O limite de detecção considerado a menor concentração do analito que pode ser diferenciada do ruído da linha de base foi determinado a partir de diluições sucessivas da solução de trabalho de tiocianato em concentrações de: 0,0125; 0,0250; 0,0500; 0,1000; 0,5000 e 1,0000mg/L. Os ensaios foram realizados em duplicata durante cinco dias.

4.4.4 Curva de calibração

A curva de calibração foi elaborada a partir de diluições contendo tiocianato em concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; e 4,0mg/L, submetidos à determinação da referida substância conforme descrito em 4.5.2. As relações entre as absorbâncias encontradas e as respectivas concentrações estão na Tabela IV. Efetuou-se a regressão linear para obtenção da equação da reta e do coeficiente de correlação. Os ensaios foram realizados em triplicata durante cinco dias.

4.4.5 Precisão

Para avaliação da precisão do método analítico empregaram-se as diluições contendo tiocianato em concentrações de 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0mg/L as quais foram submetidas à determinação de íon conforme 4.5.2. Os ensaios foram realizados em quintuplicata durante quatro dias consecutivos. No estudo da precisão foram considerados os coeficientes de variação intra e inter-ensaios.

4.4.6 Recuperação da coluna cromatográfica

Para a recuperação da coluna cromatográfica, alíquotas contendo 0,5; 1,0; 2,0 e 4,0mg/L tiocianato foram adicionados a *pool* da amostra de urina. A seguir efetuou-se a determinação de tiocianato nas amostras adicionadas conforme 4.5.2. Os ensaios foram realizados por vários dias consecutivos, durante todo período de análise das amostras.

4.4.7 Procedimento analítico para determinação da creatinina urinária

Para a dosagem de creatinina urinária foi empregado o KIT-LABTEST[®].

4.4.8 Procedimentos de endoscopia digestiva alta

Os exames de esofagogastroduodenoscopia (Endoscopia Digestiva Alta) foram realizados no Hospital Universitário João de Barros Barreto sob coordenação da médica endoscopista Marileide Carneiro Lotti, pelo método utilizado pelo referido hospital, sendo que após constatação de úlcera péptica, era realizada a biópsia para posterior análise para identificação da presença da bactéria *Helicobacter pylori*.

4.4.9 Avaliação estatística dos resultados

Para os testes estatísticos foi utilizado os Teste *t* de *student* e ANOVA para correlacionar os valores de tiocianato urinários em portadores de úlcera péptica, sendo considerado 5% de significância estatística.

4.4.10 Parecer de ética

Todos os participantes estavam cientes do desenvolvimento da pesquisa de acordo com o termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 02) (ANEXO 03), que foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (ANEXO 03).

5 RESULTADOS

5.1 LIMITE DE DETECÇÃO

O limite de detecção do método conforme 4.5.3 apresentou valor de 0,0125mg/L

5.2 CURVA DE CALIBRAÇÃO

A curva de calibração do tiocianato urinário elaborado conforme 4.5.4, foi obtida a partir das relações das absorvâncias nas diversas concentrações das substâncias conforme Tabela IV. A equação da reta foi $y = 0,03159x + 0,1019$ e o coeficiente de correlação igual a 0,9947.

TABELA IV – Valores das absorvâncias de tiocianato nas referidas concentrações.

Concentração de Tiocianato urinário mg/L	n	X ± D.P
0,5	10	0,065 ± 0,02
1,0	10	0,141 ± 0,05
2,0	10	0,254 ± 0,07
4,0	10	0,430 ± 0,06

n = número de determinações realizadas.

5.3 PRECISÃO

Os valores da precisão intra-ensaios nas amostras de urina contendo diversas concentrações de tiocianato urinário obtidos conforme 4.5.5, encontram-se descritos nas Tabelas VI e VII respectivamente.

TABELA V – Valores da Precisão intra-ensaios, obtidos a partir da análise das amostras de urina.

Concentração de Tiocianato mg/L	n	X ± D.P	C.V %
0,5	20	0,0574 ± 0,005	9,90
1,0	20	0,1018 ± 0,009	9,11
2,0	20	0,2854 ± 0,039	13,72
4,0	20	0,4850 ± 0,106	21,91

n = número de determinações realizadas.

TABELA VI – Valores da Precisão inter-ensaio, obtidos a partir da análise das amostras de urina.

Concentração de Tiocianato mg/L	n	X ± D.P	C.V %
0,5	20	0,065 ± 0,02	38,71
1,0	20	0,141 ± 0,05	34,84
2,0	20	0,254 ± 0,07	30,57
4,0	20	0,430 ± 0,06	16,02

n = número de determinações realizadas.

5.4 Recuperação

Os valores da recuperação da coluna, contendo diversas concentrações de tiocianato, obtidos conforme 4.5.6, são apresentados na Tabela VII.

TABELA VII – Valores obtidos na recuperação do Tiocianato na coluna.

Concentração de Tiocianato mg/L	n	% Recuperação	C.V %
1,0	6	71,294 ± 19,193	26,92
2,0	6	79,313 ± 19,673	24,80
4,0	6	81,47 ± 14,680	17,93

n = número de determinações realizadas.

TABELA VIII – Resultados da determinação de tiocianato em indivíduos sem úlcera péptica

Grupo	n	Tiocianato X±D.P	Menor e maior Tiocianato Urinário mg/L
Baixa ingestão	20	0.7619±0,4859	0.1810/2.008
Média ingestão	34	0.9258±0.5701	0.3210/2.6170
Elevada ingestão	46	1.2467±0.8236	0.2010/4.8540

n = número de determinações realizadas.

ANOVA= $p > 0,05$

TABELA IX – Resultados da determinação de tiocianato urinário em indivíduos com úlcera péptica.

Presença da Bactéria	n	Tiocianato X±D.P	Intervalo de concentração – mg/L
<i>H.pylori</i> (Positivo)	13	0.4913±0.3841	0,0040/1,0830
<i>H.pylori</i> (Negativo)	09	0.2463±0.2922	0,0125/0.8870

n = número de determinações realizadas.

Teste “t” = $p > 0,05$

6. DISCUSSÃO

Os alimentos são substâncias essenciais para o desenvolvimento das funções fisiológicas e bioquímicas do organismo, oferecendo a estes, nutrientes plásticos, energéticos e biorreguladores para a manutenção da vida. Porém nem sempre produzem efeitos benéficos, pois podem conter agentes tóxicos e causar efeitos nocivos, imediatos ou tardios, às populações (TAIPINA et al, 2002).

Segundo Mídio (2000), os agentes tóxicos presentes nos alimentos podem ser classificados em: naturalmente presentes como os nitratos, nitritos, glicoalcalóides, oxalatos e os glicosídeos cianogênicos; os contaminantes diretos como as micotoxinas, compostos *N* – nitrosos, aditivos intencionais e os contaminantes indiretos representados pelos promotores do crescimento animal, antibióticos, praguicidas entre outros.

Dentre os agentes tóxicos naturalmente presentes nos alimentos, ressalta-se os glicosídeos cianogênicos, que se apresentam como fator importante na gênese de algumas doenças em decorrência do elevado consumo de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) por determinadas populações (OLUWOLE, 2002).

O conhecimento dos efeitos nocivos do vegetal limita seu emprego na alimentação humana e na nutrição animal, pela possibilidade de danos à saúde e perdas econômicas, como redução do peso, aumento da infertilidade e abortos espontâneos em animais de criação, dentre outros (KAMALU, 1995).

Pela importância econômica e nutricional, a mandioca desempenha papel fundamental na culinária do amazônida e a presença dos glicosídeos cianogênicos nestes vegetais merece uma avaliação criteriosa no estabelecimento da relação risco/benefício oriundo do uso deste vegetal.

Estudos demonstraram que 80% dos glicosídeos cianogênicos presentes na mandioca são representados pela linamarina, cujos teores médios variam de 15 a 400 ppm nas diversas partes do vegetal (CEREDA e MATTOS, 1996).

As técnicas de processamento para remoção dos glicosídeos cianogênicos da mandioca se baseiam na dissolução em água ou na volatilização, envolvendo processos como a maceração, embebição em água, fervura, torrefação ou fermentação das raízes, ou ainda, uma combinação destes (CEREDA e MATTOS, 1996).

Aparentemente, a maior parte do ácido cianídrico é eliminada, contudo é de se esperar a presença de resíduos destes em concentrações suficientes para acarretar o aparecimento de efeitos nocivos em humanos, fato comprovado em diversos relatos da literatura, soma-se à presença de pequena quantidade de linamarina que não sofreu hidrólise, sendo ingerido com os alimentos e que pode por ação de bactérias presentes no trato gastrointestinal liberar o ácido cianídrico (BANEJA – MAYAMBU et al, 1997; OLUWOLE, 2002).

A exposição resultante aos resíduos dos glicosídeos cianogênicos, ácido cianídrico e do tiocianato, podem ser agudos ou crônicos. Na exposição aguda podem acarretar sério risco a vida dos indivíduos expostos, enquanto que em baixas concentrações por longo período de tempo poderá acarretar o aparecimento de bócio, neuropatia periférica (Doença de Konzo), diabetes pancreática e afecções gastrintestinais (BANEJA – MAYAMBU et al, 1997; OLUWOLE, 2002; SREEJA, 2003).

O bócio se desenvolve em regiões com baixo consumo de iodo e elevada ingestão de alimentos contendo o tiocianato resultante da biotransformação do ácido cianídrico que exacerba a ocorrência da referida patologia, uma vez que o composto altera o metabolismo da glândula tireóide, dificultando a retenção de iodo (MATHANGI et al, 2000).

Estudo realizado por Sreeja (2003) evidenciou que os glicosídeos cianogênicos (linamarina) presentes na mandioca podem acarretar danos às células neurais, os quais foram

comprovados em estudo *in vitro* utilizando culturas de células incubadas com diferentes concentrações destes compostos as quais apresentaram alterações relacionadas ao transporte de glicose.

Os glicosídeos cianogênicos (linamarina) inibem a enzima Na⁺K⁺ATPase, ocasionando desequilíbrio eletrolítico na célula, fato exacerbado pelos radicais livres, gerados pelos ciclos de hipóxia oriundos do ácido cianídrico que levam a peroxidação lipídica e danos à membrana celular (KAMALU, 1995).

Os efeitos neurodegenerativos resultantes da exposição prolongada a dieta alimentar a base de glicosídeos cianogênicos, também podem ser atribuídos a bioativação do cianeto (CN) a cianato (OCN⁻) o qual é conhecido como importante mediador crônico da neurotoxicidade em humanos e animais (TOR – AGBIDYE et al, 1999).

Merece destaque a relação dos níveis de tiocianato com o surgimento de alterações no sistema neuro-motor, conhecida tipicamente na África como doença de Konzo, que está associada a manifestações clínicas neurológicas como: ambliopia, parestesia nos membros inferiores e fraqueza muscular (OLUWOLE, 2002).

Estudos demonstraram relação entre a diabete pancreática e o consumo de mandioca, em decorrência da ingestão deficiente de proteínas, criando condições para o armazenamento de cianeto no organismo, conseqüentemente, desenvolve-se um quadro de fibrose pancreática, patologia freqüente principalmente na Índia, Indonésia e na África (MATHANGI et al, 2000; RANIVONTSOARIVONY et al, 2001).

Estudo realizado por Lewis e Aderoju (1978), entre nigerianos com úlcera duodenais, objetivando identificar a possível etiopatogenia desta enfermidade, identificaram a dieta alimentar, como um dos fatores relevantes na gênese desta patologia, devido ao elevado consumo de preparações a base de mandioca pela população daquele país, considerando assim, que os componentes deste vegetal contêm substâncias com potencial ulcerogênico.

Estudo realizado em Burundi, na África, cuja população tem como principal fonte de alimentação a mandioca, avaliaram os possíveis efeitos tóxicos resultantes do consumo elevado deste alimento, os resultados deste estudo indicaram elevada incidência de úlcera péptica principalmente duodenal, com perfurações em alguns casos (CLEAVE, 200-?).

Dentre outros fatores ambientais de interesse na gênese da úlcera péptica destaca-se a alteração na equação “agressão ácida x defesa da mucosa”, particularmente importante pelo efeito tamponante de alguns alimentos sobre a secreção ácida do estômago que atuam como mecanismo de defesa. Entretanto, certos alimentos, como a batata, batata doce e a mandioca durante seu processamento acabam reduzindo ou removendo componentes nutricionais que atuam na neutralização da acidez gástrica (CLEAVE, 200-?).

As proteínas atuam como substâncias neutralizantes da acidez gástrica, desempenhando um papel de citoproteção, porém alguns alimentos como a mandioca remove cerca de 60% da proteína constituinte tornando o alimento com baixo valor nutricional (CLEAVE, 200-?).

Neste estudo, para a determinação dos teores de tiocianato foi realizada a padronização do método analítico, onde estabeleceu-se a linearidade, estabilidade do cromógeno, a precisão intra e interensaio e o limite de detecção, sendo que os resultados obtidos permitiram concluir que o método demonstrou aplicabilidade na determinação da concentração do composto nas amostras de indivíduos sem exposição ocupacional ao cianeto.

O grupo de indivíduos selecionado para o estudo que não apresentavam úlcera mostrou-se adequados ao objetivo do trabalho, de acordo com informações obtidas no questionário quanto à ausência de sinais e sintomas associado à patologia gastrointestinal.

A determinação do tiocianato neste grupo apresentou valores médios de 0.7619 ± 0.4859 mg SCN-/L, 0.9258 ± 0.5701 mg SCN-/L e 1.2467 ± 0.8236 mg SCN-/L naqueles com baixa, moderada e elevada ingestão de glicosídeos cianogênicos respectivamente.

O emprego de teste estatístico paramétrico (ANOVA) para comparação dos teores urinários médios de tiocianato, nos grupos acima descritos não apresentou diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

A comparação dos dados obtidos neste estudo, com os de Galvão *et al* (1996) que avaliaram os níveis de tiocianato urinário em crianças de 0 a 4 anos que utilizavam uma multimistura contendo mandioca como forma de suplemento alimentar cujos resultados apresentaram valor médio de 2.723 ± 1.723 mg SCN-/L de urina em grupos que não utilizavam a multimistura, e de 4.827 ± 2.902 mg SCN-/L de urina naqueles que a utilizavam demonstra que os teores de tiocianato urinário obtido neste estudo são inferiores, mesmo no grupo com elevada ingestão de vegetais contendo glicosídeos cianogênicos. Tal fato pode estar associado às diferenças das condições ambientais, o hábito alimentar, as características da população, havendo variação de uma região geográfica para outra a exposição não ocupacional (SIQUEIRA *et al*, 1996).

Por outro lado, apenas 2,17% do grupo com elevada ingestão de glicosídeos cianogênicos apresentaram valores acima do IBMP (Índice Biológico Máximo Permitido) que é de 4.0mg/L presente na NR7, sendo que nos grupos com baixa e moderada ingestão todos ficaram a baixo dos valores estipulados pela legislação situando-se próximo aos valores considerados de referência para população sem exposição ocupacional ao cianeto e seus derivados (CLEAVE, 200-?).

Portanto, os resultados deste estudo demonstraram que os métodos empregados na culinária paraense para a remoção do ácido cianídrico nas preparações de alimentos a base de mandioca são efetivos.

Estudo realizado por Okafor, Okorowkwo e Maduagwu (2002) em indivíduos que desempenhavam atividades no processamento de vegetais contendo glicosídeos cianogênicos, apresentaram teores médios de tiocianato urinário de 1.88 ± 0.31 mg/L SCN-/L e de $0.86 \pm$

0.26mg/L SCN-/L, considerando-se a elevada ingestão de vegetais (mais de 2 vezes ao dia) e baixa ingestão destes vegetais (uso ocasional). Tais dados são semelhantes aos obtidos neste estudo, indicando assim, padrões semelhantes de exposição aos referidos compostos, independentes do preparo dos alimentos, por fermentação, como utilizado na Nigéria, onde o estudo foi conduzido ou por maceração e fervura, conforme realizado no Brasil.

Os mesmos autores caracterizaram um aumento de até 10% na atividade enzimática da aspartato aminotransferase, enquanto que a alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, proteínas totais e creatinina apresentaram valores na faixa de normalidade para população em geral.

A bactéria *H. pylori* é considerada atualmente um agente patogênico e virulento nas principais doenças cloridropépticas, tendo importante papel na gênese da úlcera péptica, esta coloniza especificamente a mucosa e as microvilosidades gástricas das células epiteliais (EISING e SILVA, 2002).

Os mecanismos moleculares que intermediam a inflamação e as doenças ulcerativas em resposta à infecção pela bactéria não estão totalmente compreendidos, porém sua erradicação leva à cura da doença ulcerosa e também à redução na taxa de recrudescência. Além do *H. pylori*, outros fatores ambientais (álcool, fumo, dieta, etc.) e genéticos (grupos sanguíneo, complexo principal de histocompatibilidade, etc.) estão interrelacionados na etiologia dessa doença (MAGALHÃES, 2000).

Os indivíduos portadores de úlcera péptica, diagnosticada por endoscopia digestiva alta (esofagogastroduodenoscopia), com biópsia positiva para a bactéria *H.pylori*, apresentaram teores de tiocianato médios de 0.4913 ± 0.3841 mg SCN-/L, enquanto que naqueles com biópsia negativa para a bactéria foram obtidos teores médios de 0.2463 ± 0.2922 mg SCN-/L.

O emprego de testes estatísticos paramétricos *t student* comparando com os teores médios de tiocianato em pacientes com úlcera péptica, considerando a presença de *H.pylori*, não demonstrou diferença estatística significativa ($p>0.05$), portanto, a ingestão de glicosídeos cianogênicos não interferiu no crescimento da bactéria no trato gastrintestinal.

Não são disponíveis dados na literatura que avaliem o crescimento do *Helicobacter pylori* na presença do ácido cianídrico e seus derivados.

O emprego de teste estatístico paramétrico, comparando os teores médios de tiocianato em indivíduos com úlcera péptica e aqueles sem manifestações clínicas de patologia, apresentou diferença estatística significativa apenas no grupo com elevada ingestão de glicosídeos cianogênicos ($p<0,05$), sem manifestações da patologia, portanto pode-se inferir que no grupo populacional estudado os glicosídeos cianogênicos não desempenham efeito ulcerogênico.

Como milhões de indivíduos ingerem em grande escala os produtos derivados da mandioca que também desempenha importante papel econômico nestas populações, investigações detalhadas devem ser conduzidas a fim de estimar o risco real desta forma de exposição humana sobre outros sistemas do organismo.

7. CONCLUSÃO

- Os métodos empregados na culinária paraense para remoção do ácido cianídrico dos alimentos a base de mandioca são efetivos.
- Os teores médios de tiocianato urinário foram semelhantes em indivíduos com úlcera péptica na presença e na ausência da bactéria *Helicobacter pylori*, portanto o crescimento desta bactéria não estava associada a ingestão de glicosídeos cianogênicos.
- No grupo populacional estudado os glicosídeos cianogênicos não apresentaram efeito ulcerogênico.

8 BIBLIOGRAFIA

ABUYE, C; KELBESSA, U; WOLDE-GEBRIEL, S. Health effects of cassava consumption in south. Ethiopia. *East. Afr. Med J. Addis Ababa*. V., 75, n. 3, p. 166-170, 1998, Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 17/04/2003.

ALBUQUERQUE, M., *A Mandioca na Amazônia*. Belém: SUDAM, 1969. p. 128

ANDRADE FILHO, A. de; CAMPOLINA, Délio; DIAS, M. Borges. *Toxicologia na Prática Clínica*. Belo Horizonte: Fólum, 2001.

ANDREOLLO, N. Adami et al. A incidência de “*Helicobacter pylori*” em pacientes submetidos a gastrectomia para tratamento da úlcera péptica. *Gastroenterologia Endoscopia Digestiva*. v. 18, n. 5, p.183-188, set/out. 1999.

ANDREOLLO, N. Adami. *Contribuição à etiopatogenia do ccr do coto gástrico: estudo experimental*. Campinas, 1994. 173f. Tese (Doutorado em Livre Docência) - Universidade de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. Campinas, 1994.

ARCE SONCO, Glendu. Factores de riesgo en pacientes con hemorragia digestiva por ulcera peptica. *Arequipa*. 52 p. sept. 1997. Disponível em: <<http://www.bireme.br>> Acesso em: 17/03/2003.

AZEVEDO, L.F et al. Diet and gastric câncer in Portugal – a multivariate model. *Eur. J Cancer Prev. Feb*. v.8, n.1 p. 41-48, 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 21/10/2001.

AYRES, M. AYRES, M. J, AYRES, D. L, SANTOS, A. S. Bioestat 2.0 – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá Ministério de Ciências e Tecnologia – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 2000.

BANEA-MAYAMBU, J. P, et al. Geographical and seasonal association between linamarin and cyanide exposure from cassava and the upper motor neurone disease konzo in former Zaire. *Trop Med Int Health. Republic Congo*. V. 2 ,n. 12, p. 1143-1151, Dec.1997. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 17/04/2000

BALLESTEROS AMOZORRUTIA, Mario Arturo. Ulcera péptica y helicobacter pylori: resultados y consecuencias de su erradicacion. *Rev. Gastroenterol. Méx.* V.65, sup.2, p.41-49, oct./dec.2000. Disponível em : <<http://bases.bireme.br>. Acesso em : 02/09/2003

BERENGUER-NAVARRO, V; et al. Chromatographic determination of cyanoglycosides prunasin and amygdalin in plant extracts using a porous graphitic carbon column.. *Agric Food Chem.* Colômbia : Universidad de Cordoba,. Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2002. Disponível em: < www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi > Acesso em 15/02/2002.

BERROTARAN, A. et al. Prevalência de helicobacter pylori en estômago y placa dental de una muestra da la población en Venezuela. *Acta odontol.venez.*, v. 39 ,n.2, p. 35-41, 2001. Disponível em :< <http://www.scielo.br/scielo.Php>> Acesso em 11/08/2002.

BION, Francisca Martins et.al. Uso de uma multimistura como suplementação alimentar: estudo em ratos. *Revista Latinoamericana de Nutrição.* v. 47, n.3, p. 242-247, 1997

BUDAGOVSKAIA, V.N; SALNIKOVA, G.M. Role of alimentary factor in the gênesis and recurrences of peptic ulcer. *Vopr Pitan.* V.3, p. 54-59, may/june. 1997. Disponível em : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> > Acesso em 15/02/2003.

BURTIS, A. Carl; ASHWOOD, Edward R. *Fundamentos da Química Clínica.* 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

CÂMARA, G. M. S.; GODOY, O. P., J FILHO, M. *Tecnologia da reprodução, pré-processamento e transformação Agroindustrial.* São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia. Coordenadoria da Indústria e Comércio, 1984.

CARVALHO, D. A.; PEREIRA, S.C. O Proálcool e a resolução na cultura da mandioca. *Informe Agropecuário* . Minas Gerais: Empresa de pesquisa Agropecuária de Minas Gerais. Sistema Estadual de Pesquisa Agropecuária: EPaNIG, ESAL, UFMG, UFV , v. 5, n. 59/60, p. 31 , 82, nov/dez. 1979.

CASTRO L.P.; COELHO, L.G.V. ; NOGUEIRA, C.E.D. Úlcera péptica gastroduodenal. In: DANI, R.; CASTRO, L.P. *Gastroenterologia Clínica.* 3..ed. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1993. p. 498-552.

CEREDA, M.P.; MATTOS, M.C.Y. Linamarin – the toxic compound of cassava. *J.venom. anim. toxins.* 1996. Disponível em : <http://www.scielo.br/sielo.php?> Acesso em 11/02/2003

CHEHTER, L.; MANCUSO, F.J.N.; FERREIRA, J.P.A. Recorrência da infecção por *H pylori* em portadores de úlcera péptica submetidos à erradicação da bactéria. *GED Gastroenterol.endosc. dig.* V. 18, n. 4, p. 139-142, jul./ago.1999.

CHEMPEREK, E.; JELENIEWSKI, M. Digestive system diseases and style of nutrition among secondary school students. *Pol Mercuriusz Lek.* v. 10, n.57, p. 153-155, mar 2001.

Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em 19/02/2003.

CORTI, Rodolfo et al. Aspectos genéticos de la enfermedad ulcerosa gastroduodenal. *Prensa Méd. argent.* V.73, n.15, p. 642-645, oct.1986. Disponível em : <<http://bases.bireme.br>.

Acesso em : 08/11/2003

CURTIS, A. J.; GRAYLESS, C.C.; FALL, R. Simultaneous determination of cyanide and carbonyls in cyanogenic plants by gas chromatography-electron capture/photoionization detection. *Analyst*, v.127, n.11, p.1446-1449, 2002. Disponível em:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi> > Acesso em 15/02/2003.

DIETZ, J. et al. Intestinal metaplasia in distal esophagus and correlation with symptoms of gastroesophageal reflux disease. *Dis Esophagus*. Rio Grande do Sul. v. 16 , n. 1, p. 29-32, 2003, Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 08/08/2003.

DUNN, B. E; COHEN, H; BLASER, M. J. Helicobacter pylori. *Clinical Microbiology Reviews* v. 10, p. 720-741, 1977.

EISIG, J. N. et al. A. Therapeutic efficacy of ranitidine bismuth citrate with clarithromycin for seven days in the eradication of Helicobacter pylori in Brazilian peptic ulcer patients. *Rev.Hosp. Clin. Faculd. Méd. . São Paulo.*, v. 121 , n. 1, p. 15-18, Jan. 2003, Disponível em: <<http://www.bireme.br>> Acesso em : 08/05/2003.

EISIG, J, N.; SILVA, Fernando Marcuz. Helicobacter pylori. *Revista Brasileira de Medicina*. v.59, n. 6, p.439-443, jun.2002. Disponível em: <<http://www.cibersaude.com.br/revistas.asp>. Acesso em: 08/11/2003.

EL - BARRAWY, M.A; MORAD, I.M; GABER, M. Role of Helicobacter pylori in the genesis of gastric ulcerations among smokers and nonsmokers. V. 3, n. 2, p. 316-321, 1997. Disponível em: <http://www.emro.who.int/Publications/EMHJ/0302/16.htm> Acesso: 14/09/2003.

EL-DASH, A.; MAZZARI, M.R.; GERMANI R. *Tecnologia de farinhas mistas – Uso de farinhas mistas de trigo mandioca na produção de pães*. Brasília: I EMBRAPA SPI, 1994. p. 15

FARIAS, R. et al. Detention of Helicobacter pylori by polymerase reaction in bile samples from gallbladder and stones. *Acta Gastroenterol. Latinoam*. Buenos Aires, v. 29, n.4, p.251-253, 1999, Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 18/09/2000.

FLORES, C. I. Ortega. *Caracterização Química e Avaliação da Biodisponibilidade do β - Caroteno e da Proteína da Folha de Mandioca (Manihot esculenta Crantz) Desidratada*. 1998. 160 f. Tese (Doutorado Ciências em Farmacêuticas) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêutica., São Paulo, 1998.

FRIEDMAN, L.S; PETERSON, W.L. Úlcera Péptica e distúrbios relacionados. In: Harrison TR. *Medicina Interna*. Rio de Janeiro, McGraw, p.1699-1721, 1998.

FUKUDA, C. *Bacteriose da Mandioca (Xanthomonas Campestris pv manihotis): Resistência varietal e alguns possíveis fatores pré-infeccionados de resistência do hospedeiro*. Viçosa, MG, 1982, p. 4-6.

FULLER, R et al. . Lesão gastroduodenal assintomática em portadores de osteoartrose / Gastrointestinal damage in osteoarthritis patients. *Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. Univ. Sao Paulo*, v. 52, n.2, p. 47-50, mar./ abr. 1997.

GALVÃO, João Ferreira et.al. *Teor de Tiocianato urinário em crianças de 0 a 4 anos que utilizam alimentação alternativa (multimistura)*. Manaus: UFAM, v. 4/5, n. 1/ 2 p. 95-110, 1996.

GRAHAM, D. Y. The changing epidemiology of GERD: geogafhy and Helicobacter pylori. *Am.J.Gastroenterol.* Texas. N.7, p. 1462-1470. Jul. 1998 . Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 17/04/2000.

ISHII T.; KUYAMA, Y. Smoking, alcohol and peptic ulcer in the elderly. *Nippon Rinsho* v. 60, n. 8, p. 1644-1647, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em 17/03/2003

JAVIER, P. G.; PAJARES, J.M. Helicobacter pylori Infection and Perforated peptic ulcer pravalence of the infection and role of antimicrobial treatmente. *Rev. Helicobacter.*, v.8 , n. 3, p. 159-167, jun. 2003.

KAMALU, B.P. The adverse effects of long-term cassava (*Manihot esculenta Crantz*) consumption. *Int. J. Food Sci. Nutr.* V.46,n.1, p.65-93, feb.1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 17/04/2000.

KAWAKAMI, Elizabete et al. Triple therapy with clarithromycin, amoxicillin and omeprazole for *Helicobacter pylori* eradication in children and adolescents. *Arq. Gastroenterol.*, v. 38, n. 3. p. 203-206 ,2001.

KLASSEN, C. D. Agentes tóxicos ambientais não-metálicos. In: GILMAN, Alfred Goodman (Ed.); GOODMAN, Louis S. (Ed.). *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Mcgraw-Hill, 2003. p. 1240-1257.

KUIPERS, E.J; THIJIS, J.C.; FESTEN, H. P.M. The prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, v. 9, n. 2, p. 59-69, 1995. Disponível em: < <http://www.scielo.br/scielo.Php>> Acesso em 11/03/2002.

LARINI, L.; LEPERA J.S.; SALGADO, P. E. de T. A simple method for the colorimetric determination of thiocyanate in urine. *Revista Ciência Farmacêutica*. São Paulo, p. 151-155, 1992 .

LÉON BARUA, Raúl; BERENDSON SEMINARIO, Roberto; BIBER POILLEVARD, Max. Etiopatogenia de la úlcera péptica. *Diagnóstico (Peru)*.v.36,n.5, p.15-20, sep./oct.1997.

LEWIS, E.A.; ADEROJU, E.A. factors in the aetiology of chronic duodenal ulcer in Ibadan. *Trop. Geogr. Med.* V. 30, n. 1, p.75-79, mar.1978. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 22/11/2003.

LOOR SOLÓRZANO, C. Et al. Úlcera péptica: actualización terapéutica / Ulcerapéptica: therapeutic update. *Rev. Cienc.*,v.1, n.2, p. 28-29, may/oct. 1997. Disponível em: <<http://www.bireme.br>> Acesso: 17/03/2003.

LYNCH, D.A. et.al. Serum and gastric luminal epidermal growth factor in *Helicobacter pylori*-associated gastritis and peptic ulcer disease. *Rev. Helicobacter*; v.1, n.4, p. 219-226, 1996, Disponível em: <<http://www.bireme.br>> Acesso em : 08/05/2003.

MAGALHÃES, Antonio Frederico Novaes de. Como diagnosticar e tratar úlcera péptica. *Revista Brasileira de Medicina.* V. 57,n.11, p.1-9, nov. 2000. Disponível em: <<http://www.cibersaude.com.br/revistas.asp>. Acesso em: 08/11/2003.

MALATY, H.M. et.al . *Helicobacter pylori* infection: genetic and environmet influences. A study of twins. *Ann Intern Med. Texas.* V.120, n.12, .982-986, jun. 1994. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 17/04/2000.

MANTOVANI, M. Fatores preditivos do tratamento operatório na úlcera péptica hemorrágica. *Revista da Associação Médica Brasileira.* v. 48 n. 4. p. oct/dec. 2002.

MARTINS, Luisa Caricio et al. Soroprevalência de anticorpos contra o antígeno CagA do *Helicobacter pylori* em pacientes com úlcera gástrica na região Norte do Brasil.

Rev.Soc.Bras.Med.Trop. v.35,n.4, p.1-7, jul./aug.2002. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em 02/12/2003.

MENDES, A. de Faria et.al. Doença ulceropéptica. *Jornal Bras. Med.* v. 83, n.3, p. 62-65, 2002. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em 11/02/2003.

MIDIO, A. F; MARTINS, D. I. *Toxicologia de Alimentos*. São Paulo: Varela, 2000.

MINCIS, M. *Úlcera Péptica Gastroduodenal*. Gastroenterologia e Hepatologia – Diagnóstico e Tratamento, 2.ed.. São Paulo: Lemos Editorial, 2002.

MLINGI, N. et.al. Low cyanide exposure from consumption of cassava in Dar es Salaam, Tanzania. *Nat Toxins*. v.6,n.2, p.67-72, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 17/04/2000.

NAMBISAN, B; SUNDARESAN, S. Spectrophotometric Determination of Cyanoglucosides. *J.Assoc. Off. Anal. Chem.* v. 67, n. 3. p, 641-643, 1984

NAMPOOTHIRI, K.Madhavan; PANDEY, Ashok.. Fermentation and recovery of L-glutamic acid from cassava starch hydrolysate by ion-exchange resin column. *Revista Microbiol.* v.30 n.3, p. 258-264, jul./set, 1999.

OKAFOR, P.N.; OKOROWKWO, C.O.; MADUAGWU, E.N. Occupational and dietary exposures of humans to cyanide poisoning from large-scale cassava processing and ingestion of cassava foods. *Food and Chemical Toxicology*. V. 40, p. 1001-1005, 2002.

OLUWOLE, O.S. ; ONABOLU, A.O. ; SOWUNMI, A. Exposure to cyanide following of cassava food. *Toxicol. Lett.* v. 135, n. 1/2, p. 19-23, Sep. 2002.

PADMAJA, G. Cyanide detoxification in cassava for food and feed uses. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutri.*, v.35, n.4, p.299-339, jul.,1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 18/04/2000.

PARKINSON, A. Clinical Toxicology. In *CASARET AND DOULL'S. The basic science of poisons*. 5.ed. Estados Unidos da América: Pergamos, 1996.

RANG, H.P; DALE, M.M.; RITTER, J.M. *Farmacologia*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RASO, Pedro et.al. Tubo digestivo. Peritônio. In: BRASILEIRO FILHO, Geraldo. *Patologia*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p.586-595. cap.21

RODRÍGUEZ, M; ZURITA, A.B; ANGEL, Miguel. Recidiva de hemorragia por úlcera péptica. Prevalência y fatores de riesgo. *Med. Interna Méx.* v.17, n.1. p. 9-13, ene./feb. 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em 11/02/2003.

SAMPAIO, J. Alves; MORAES, M. Odorico. Câncer Gástrico: relação entre o tipo histológico e consumo de alimentos regionais do Nordeste brasileiro. *Revista de Gastroenterologia e Endoscopia Digestiva 2000*. v. 19, n.6, nov./dez., 2000

SANIOTO, Divo Leonardo; AIRES, Margarida de Mello. Sistema digestivo: secreção. In: AIRES, M. *Fisiologia*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. cap.62

SCHVASTSMAN, Samuel. Intoxicações Exógenas. In: SILVA, P. *Farmacologia*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002. p. 1226-1232. cap.123

SIQUEIRA, M. E. Basto et.al. Valores de Referência de Tiocianato Plasmático e Urinário. *Revista de Farmácia Bioquímica*. São Paulo. Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas,. v. 32, n. 1., p. 21-27, 1996

SOTO-BLANCO, B. Et al. Does prolonged cyanide exposure have a diabetogenic effect? *Vet. Hum. Toxicol.* V.43, n.2, p.106-108, apr. 2001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> Acesso em 11/12/2003

SOUZA, R.C. A; OLIVAL, R. CRAVO.M.A. Metaplasia gástrica em duodeno e infecção pelo *Helicobacter pylori*: correlação com úlcera duodenal. *GED gastroenterol. endosc.dig.* v.19, n. 1, p. 1-10, jan./ fev., 2000. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> Acesso em 11/02/2003.

SREEJA, V. G. NAGAHARA, N. LI, Q. MINANI, M. New aspcts in patogenesis of konzo: neural cell damage dir caused by linamarin contained in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Br. J. Nutr.* v. 2. n. 90. p. 467 – 72. 2003.

STRYER, L. *Bioquímica*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

TAIPINA, M. S. FONTES, M. A. S. COHEN, V. H. Alimentos funcionais nutraceuticos –
Funcional foods. *Hig. Aliment.* v.16. n.100. p.28 – 29. 2002.

TOMINAGA, M. Yumiko; MÍDIO, A. Flávio. Modified Method for the Determination of
Thiocyanate in Urine, By Ion-Exchange Chromatography and Spectrophotometry *Revista
Farmácia Bioquímica*. São Paulo: Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências
Farmacêuticas, v. 27, n. 1. p 100-105, 1991.

TOR-AGBIDYE, J. et al. Bioactivation of cyanide to cyanate in sulfur amino acid deficiency:
relevance to neurological disease in humans subsisting on cassava. *Toxicol. Sci.* v.50,n.2,
p.228-235, aug.1999.

VANDAMME W. et al. Dyspepsia and gastroparesis in chronic renal failure: the role of
Helicobacter pylori. *Clin. Nephrol*, v. 57, n.3, p. 201-207, mar. 2002. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>> Acesso em : 17/03/2003.

ZATERKA, S. et al. Úlcera Duodenal: fascinante desconhecida – Duodenal Ulcer: this
fascinating stranger.. *GED, gastroenterol. endosc.dig* v. 7, n. 3 , jul/set.1988.

WARREN, J. R. Gastric pathology associated with *Helicobacter pylori*. From the benign to
the malignant. *The American Journal of Gastroenterology*. V. 94 , p. 115-165, 1999. supl. 2

ANEXO 01

QUESTIONÁRIO

- () Indivíduos fumantes;
- () Indivíduos com exposição ocupacional ao cianeto;
- () Indivíduos com patologia no trato gastrintestinal;
- () Indivíduos com elevada ingestão de glicosídeos cianogênicos.

1) Nome: _____

2) Idade: _____ Sexo: (M) (F)

3) Hábitos alimentares: (Indicar a frequência a ingestão e glicosídeos cianogênicos).

4) Frequência quanto à exposição ao cianeto:

5) Faz uso de medicamentos ou drogas de abuso? (Sim) (Não)

6) Patologias presentes? (Sim) (Não)

Observações: _____

Assinatura

ANEXO 02

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TIOCIANATO URINÁRIO EM PORTADORES DE ÚLCERA PÉPTICA

Os hábitos alimentares da população paraense envolvem elevada ingestão de derivados da mandioca, como: farinha de mandioca, tucupí, maniçoba, tapioca etc.

A mandioca apresenta em sua composição substâncias nocivas que são removidas através de processos como a fervura e a fermentação. Porém, a mesma é feita em intervalo de tempo variável, e através da fervura inadequada poderá ocorrer uma remoção incompleta, ficando pequena quantidade das mesmas originais que através do consumo, poderão levar ao aparecimento de patologias no organismo.

A pesquisa apresenta o objetivo de avaliar os valores de referência dessas substâncias no organismo de pessoas que apresentam ou não hábito alimentar rico na ingestão de derivados da mandioca, que trabalham no processamento desses alimentos, que apresentam alguma patologia e que tenham alguma relação entre o elevado consumo ou estiveram expostas devido ao processamento da mesma.

As pessoas que participarão da pesquisa, cederão aproximadamente **80 mL** de urina para que possa ser feita a análise, a fim de determinar os valores de referência das substâncias (linamarina e tiocianato) presentes na urina.

No momento da coleta do material (urina) e no decorrer da pesquisa, o sujeito estará isento de qualquer risco à saúde, porém, se eventualmente ocorrer algum dano, provocado comprovadamente pela pesquisa, entrará em contato com Núcleo de Medicina Tropical, endereço: Av. Generalíssimo Deodoro nº 92, sendo que o sujeito da pesquisa será atendido pela Dra. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro.

Os resultados apresentados serão ocultados no que se refere a sua participação, o pesquisador, ou seja, não haverá necessidade de citar nomes, endereços e outras informações prestadas pelo pesquisado.

Assinatura do Pesquisador

ANEXO 03

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO:

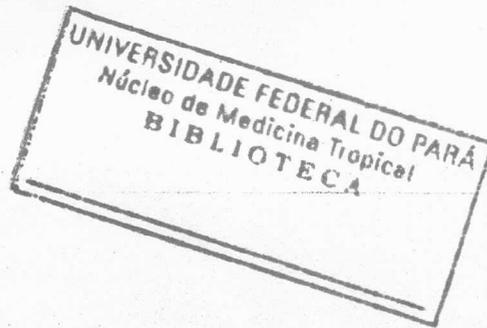
Declaro que li as informações sobre a pesquisa intitulada de **Tiocianato Urinário em Portadores de Úlcera Péptica** e que me sinto perfeitamente esclarecido sobre o conteúdo da mesma, assim como seus riscos e benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame.

Belém, ____ / ____ / ____

Assinatura do Responsável pela pesquisa

Assinatura do Paciente

ANEXO 04



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

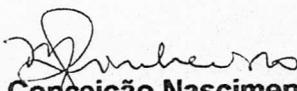
PARECER DE ÉTICA DE PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Protocolo: N.º 024/2000
2. Data de Entrada: 29/12/2000
3. Data do Parecer do Relator: 03/03/2001
4. Projeto de Pesquisa: Valores de Referência da Linamarina e do Tiocianato em Populações com Elevada Ingestão de Glicosídeos Cianogênicos
5. Pesquisador Responsável: Flávia Garcez da Silva
6. Instituição / Unidade: UFPA / Departamento de Farmácia

PARECER

Após análise do projeto em questão, identificamos proposta viável, adequada aos princípios éticos, atendendo as normas da resolução 196/96.

Belém, 14 de Janeiro de 2002


Prof. Maria da Conceição Nascimento Pinheiro
Coordenadora do CEP/NMT/UFPA.

