

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

MARIA REGINA MORTATTI MIYAHARA

ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DE *Ipomoea imperati*

(Vahl) Griseb (CONVOLVULACEAE).

BAURU- 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO

MARIA REGINA MORTATTI MIYAHARA

ATIVIDADE ANTIULCEROGÊNICA DE *Ipomoea imperati*
(Vahl) Griseb (CONVOLVULACEAE)

Dissertação apresentada à Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da Universidade do Sagrado Coração, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de mestre no Programa de Mestrado em Biologia Oral.

Orientador(a): Profa. Dra. Ana Claudia Bensusaski de Paula Zurrón.

BAURU- 2008

**"Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa,
nunca tem medo e nunca se arrepende."**

(Leonardo da Vinci)

Dedico este trabalho aos meus pais,
Otávio e Olga, ao meu marido,
Carlos e aos meus filhos Daniela e
Gabriel

Coisas que os olhos não viram, nem os ouvidos ouviram, nem o coração humano imaginou, tais são os bens que Deus tem preparado para aqueles que O amam! (I Cor 2,9)

Agradeço a Deus pela vida e pela saúde. Obrigada por me manter sempre forte e com muita FÉ

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, Dra. Ana Cláudia Bensusaski de Paula Zurron pelas idéias, orientações e sugestões que tornaram possível a realização deste trabalho. Pelos ensinamentos durante os anos de mestrado, por ouvir e respeitar minhas sugestões; e principalmente pela paciência. Muito obrigada Ana.

Agradeço carinhosamente aos meus pais, Otávio e Olga, pelo amor incondicional, pela dedicação, pelos ensinamentos e pelo apoio em todos os momentos da minha vida. Amo vocês.

Ao meu marido, Carlos, pelo apoio e dedicação em todos os momentos, em especial nesta conquista. Amo você.

Agradeço aos meus filhos Daniela e Gabriel por estarem sempre comigo em todos os momentos, vocês são muito especiais. Amo muito vocês.

Agradeço a minha sogra Mitiko, e ao meu sogro Tadashi pelo apoio durante o mestrado, e por me ajudarem sempre quando eu precisei.

Agradeço ao Dr. Sergio Catanzaro Guimarães pelo apoio durante esses dois anos e pelas sugestões dadas em minha banca de qualificação.

Agradeço a Dra. Silvana Pasetto pelos ensinamentos, pela ajuda na fase final, e pela participação na minha banca de qualificação.

Agradeço a todos os professores do Mestrado, que tanto nos ensinaram, e tiveram paciência nos primeiros seminários.

À coordenação do curso de Pós-Graduação em Biologia Oral, e seu corpo docente pela contribuição na minha formação.

A amiga Aline, pela ajuda nesses dois anos, pelo companheirismo e pelo seu constante otimismo.

Aos amigos Fabrício, Renato, Tiemi, André, e Júlio, pela amizade, pelos momentos de descontração,

A todos os amigos do Departamento que de uma maneira ou outra contribuíram para este trabalho.

ÍNDICE

Resumo	7
Summary	9
I-Introdução	15
1.1. A patologia da úlcera gástrica	15
1.2. O estômago	18
1.3. Regulação da Secreção Ácida	21
1.4. O processo de formação da úlcera gástrica	24
1.5. Propriedades farmacológicas de <i>Ipomoea imperati</i>	28
II Objetivos:	31
III. Materiais e Métodos	32
3.1. Planta utilizada	32
3.2. Extração das frações isoladas de <i>Ipomoea imperati</i>	33
3.3. Animais	34
3.4. Avaliação da atividade preventiva de <i>Ipomoea imperati</i>	34
3.4.1. Úlcera induzida pelo etanol: Efeito preventivo de formação de úlcera gástrica (MORIMOTO <i>et al.</i> , 1991).	34
3.5. Avaliação da atividade cicatrizante de <i>Ipomoea imperati</i>	34
3.5.1. Úlcera induzida por ácido acético em ratos (TAKAGI <i>et al.</i> , 1969).	34
3.6. Análise Morfológica	35
3.7. Análise estatística	36
IV. Resultados	37
4.1. Estudo in vivo da atividade anti-ulcerogênica de <i>Ipomoea imperati</i> : úlcera induzida por etanol em ratos.	37
4.2. Estudo da atividade cicatrizante de <i>Ipomoea imperati</i> : úlcera crônica induzida pelo ácido acético.	41
V. Discussão	47
VI. Conclusões	56
VII. Referências Bibliográficas	57

Resumo

Ipomoea imperati (Convolvulaceae) é usada na medicina tradicional para o tratamento da inflamação, inchaço e feridas, bem como para tratar dor pós- parto e para problemas do estômago. *I. imperati*, apresenta compostos químicos como alcalóides indólicos e resinas glicosídicas, que são os componentes biológicos comumente ativos na família Convolvulaceae. Em estudos anteriores, *I. imperati* inibiu a inflamação tópica e sistêmica de maneira concentração-dependente, bloqueando significativamente a atividade da enzima fosfolipase A₂ obtida da peçonha de abelha. Este trabalho avaliou a atividade anti-ulcerogênica de *I. imperati* em modelos animais de úlcera aguda e crônica. Também foi realizado um estudo histológico para visualização do efeito preventivo e cicatrizante da espécie *Ipomoea imperati* em modelo de úlceras gástricas. Em nosso estudo, *I. imperati* (200 mg/Kg) preveniu a formação de lesões gástricas induzidas pelo etanol em 77,2 % (p<0,05) quando comparado com o controle negativo tween 80. O controle positivo lansoprazol preveniu em 85,6% a formação dessas lesões induzidas pelo etanol via oral (p<0,05). Com o estudo histológico confirma-se que, a administração oral de *Ipomoea imperati* uma hora antes do agente ulcerogênico, preveniu a formação de úlceras gástricas conservando as características de citoproteção da mucosa gástrica e garantindo a integridade de glândulas e fossetas gástricas da camada mucosa. Ainda foi avaliada a atividade cicatrizante de *I. imperati* (200mg/kg, v.o.) no modelo de úlcera crônica induzida por ácido acético. *I. imperati* cicatrizou 70% das lesões crônicas induzidas pelo ácido acético em tratamento realizado por via oral no período de 14 dias (p<0,05). Já o controle positivo cimetidina cicatrizou 78,8% dessas lesões crônicas da mucosa gástrica de roedores (p<0,05). A análise histológica

confirmou esses resultados recuperando a camada mucosa (glândulas e fossetas gástricas e epitélio de revestimento superficial) lesada pelo ácido acético, bem como a camada muscular da mucosa. Assim, foi possível observar em experimentos *in vivo* que a espécie em estudo *Ipomoea imperati* apresenta atividade preventiva e cicatrizante da mucosa gástrica, sendo este efeito muito próximo aos efeitos obtidos com as drogas antiulcerogênicas tradicionalmente usadas no mercado, como lansoprazol e cimetidina. Esses dados são confirmados através do estudo morfológico realizado em nossos laboratórios, onde *I. imperati* preservou as características dos tecidos da mucosa gástrica de roedores.

Palavras Chaves: *Ipomoea imperati*, ratos, úlcera gástrica, cicatrização, plantas medicinais.

Summary

Ipomoea imperati (Convolvulaceae) is used in traditional medicine for the treatment of inflammation, swelling and wounds, as well as to treat pains after childbirth and for stomach problems. *I. imperati* showed that indole alkaloids and resin glycosides are the most common biologically active constituents in the Convolvulaceae.

In previous studies, *I. imperati* inhibited the topical and systemic inflammation in a concentration-dependent manner. *I. imperati* had a significant inhibitory activity against phospholipase A₂ enzyme from bee venom. This work evaluates the antiulcerogenic activity of *I. imperati* in acute and chronic gastric lesions. A histological study was also carried out to evaluate the preventive and healing actions of *I. imperati* in gastric ulcer model. In our study, *Ipomoea imperati* (200 mg/Kg⁻¹, p.o.) prevented the formation of gastric lesions in 77,2 % (p<0.05) when compared with the negative control tween 80. The positive control, lansoprazole, prevented in 85,6% the gastric lesions formation induced by ethanol (p<0.05). Therefore, the oral administration of *Ipomoea imperati* one hour before the ulcerogenic agent prevented the ulcer formation, conserving the citoprotection characteristics of the gastric mucosa and assuring the integrity of gastric glands and gastric fossets. The healing activity of *I. imperati* (200mg/kg⁻¹, p.o.) evaluated in chronic ulcer experiments induced by the acetic acid, was 70% (p<0.05). The positive control, cimetidine, healed 78,8% of the gastric lesions (p<0.05). The histological analysis confirmed the recovery of the mucosal layer (gastric glands, gastric fossets and surface epithelium) and the muscle mucosal layer harmed by the acetic acid.

It was observed that *in vivo* experiments confirmed the preventive and healing activities of *I. imperati* in the gastric mucosa, being these effects similar to commonly used antiulcerogenic drugs such as lansoprazole and cimetidine. The results are confirmed by the morphological study carried out in our laboratory, where *I. imperati* preserved the characteristics of the gastric mucosal tissue of rats.

Key words: *Ipomoea imperati*, rats, gastric ulcer, healing, medicinal plants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Esquema fisiopatológico atual da úlcera péptica-----17

Figura 2: Anatomia do estômago-----19

Figura 3: Distribuição anatômica das camadas musculares e localização das células do estômago-----20

Figura 4: Esquema de secreção ácida-----20

Figura 5: Folhas da espécie em estudo *Ipomoea imperati* (Convolvulaceae)-----32

Figura 6: Apresentação da placa cromatográfica das frações do extrato apolar que foi fracionado, são 8 frações no total: F1; F2/4; F5; F6; F7; F8; F9, FF. As duas aplicações (primeira e a última) são do extrato bruto e as frações intermediárias são respectivamente as frações isoladas. As frações F2/4, F5 e a F6 são muito parecidas e foram usadas nos ensaios biológicos-----33

Figura 7: Efeito preventivo de *Ipomoea imperati* (200mg/Kg, v.o.) e do controle positivo lansoprazol (v.o) em modelo de ulceração aguda etanol em ratos. Os resultados estão apresentados como média e erro padrão da média de 7 animais em cada grupo. ANOVA $F_{(2, 18)} = 3,20$ para ILU (mm).

Teste de Dunnett's: * $p < 0,05$ -----38

Figura 8: Foto mostrando ulceração aguda por etanol em ratos. Em (A), o pré-tratamento com o controle negativo tween, não previniu a ação do agente lesivo etanol. Notar intensa hemorragia na porção glandular do estômago de ratos. Em (B) os animais foram pré-tratados com 200 mg/Kg de *Ipomoea imperati* antes do agente lesivo etanol. Notar que *I. imperati* previne a formação de úlceras hemorrágicas na porção glandular do estômago de roedores-----39

Figura 9: Aspecto morfológico de erosão na mucosa oxíntica de ratos tratados com Tween 80 (A) e com (B) *Ipomoea imperati* (200 mg/Kg) 1 hora antes da indução de úlcera gástrica por etanol. Na Figura 5 A, o epitélio superficial (SE) e camada mucosa (CM) estão destruídas. Na Figura 5 B, epitélio superficial está desarranjado mas junto com a camada mucosa, permanecem íntegros. LP= lâmina própria, GG= glândulas gástricas, CMM= camada muscular da mucosa, SM= camada submucosa. Hematoxilina e eosina, Aumento 400X-----40

Figura 10: Efeito cicatrizante de *Ipomoea imperati* (200mg/Kg) e do controle positivo cimetidina (via oral) em modelo de úlcera crônica induzida por ácido acético em ratos. Os resultados estão apresentados como média e erro padrão da média de 7 animais em cada grupo. ANOVA $F_{(2, 18)} = 2,84$ para ILU (mm²). Teste de Dunnett's: ** $p < 0,05$ -----43

Figura 11: Foto mostrando ulceração crônica por ácido acético em ratos. Em (A), após o processo de indução de úlcera, os animais foram tratados com o controle negativo tween. Em (B) os animais foram tratados no mesmo período com 200 mg/Kg de *Ipomoea imperat*. Notar a redução da extensão da lesão, cicatrizada com o tratamento de *I. imperati*-----44

Figura 12: Aspecto morfológico de úlcera gástrica observada após 14 dias da injeção de ácido acético na parede do estômago de ratos tratados com Tween (A) e (B). Na Figura 12 A epitélio superficial (ES), camada mucosa (CM), e muscular da mucosa (CMM) estão destruídos, mostrando uma úlcera crônica. Na figura 12 B, a mesma lesão em maior aumento mostra tecido de granulação em evolução (tecido conjuntivo desorganizado), células inflamatórias, vasos sanguíneos e restos de tecido necrótico no canto superior direito.

Tricômio de Masson. Aumento 400X-----45

Figura 13 A e B: Foto mostrando a cicatrização de úlceras gástricas pelo tratamento diário de *I. imperati* (200mg/Kg) em 14 dias. É possível notar que a camada mucosa (CM) com o epitélio de revestimento superficial (ES) e também a camada muscular da mucosa (CMM) encontram-se íntegros, recuperando as características funcionais da mucosa gástrica. LP= lâmina própria, GG= glândulas gástricas, CMM= camada muscular da mucosa, SM= camada submucosa.

Tricômio de Masson. Aumento de 400X-----46

LISTA DE ABREVIATURAS

ILU= índice de lesão ulcerativa

EGF= fator de crescimento epidermal

ECL= célula enterocromafin “like”

DAINES= drogas anti-inflamatórias não esteroidais

M₁ R= receptor muscarínico colinérgico

H₂ R= receptor histaminérgico

CCK₂R= subtipo de receptor de gastrina

Células G= células liberadoras do hormônio gastrina

Células D= células liberadoras do hormônio somatostatina

H Na⁺K⁺ ATPase = bomba sódio potássio ATPase

AMPcíclico= adenosina monofosfato (esterificado nas posições 3´ e 5` da molécula de ribose)

SNC= sistema nervoso central

PGE₂= prostaglandina E₂

TGI= tratogastrointestinal

COX= enzima ciclooxigenase

XO= enzima xantina oxidase

MPO= mieloperoxidase

PMN= polimorfonucleares

ES= epitélio superficial

CM= camada mucosa

GG= glândulas gástricas

FG= fosseta gástricas

CMM= camada muscular da mucosa

LP= lâmina própria

SM= camada submucosa

I-Introdução

1.1. A patologia da úlcera gástrica

A úlcera gástrica é uma doença que afeta considerável número de pessoas globalmente. As lesões ulcerosas aguda ou crônica da mucosa gastroduodenal refletem a perda de equilíbrio dinâmico entre os elementos de defesa e de agressão da mucosa, que atuam de modo antagônico (CHINZON & ZATERKA; 1996). Sabe-se que atualmente a infecção por *Helicobacter pylori* é considerada uma das causas mais significativas da formação da úlcera péptica (KUSHIMA *et al.*, 2005). Ainda esses autores relatam que esta bactéria está presente tanto na mucosa de indivíduos portadores de lesões gástricas, como também na mucosa de indivíduos saudáveis, os quais podem ou não desenvolver esta patologia. Assim, a presença de *H. pylori*, as alterações na secreção ácida e a diminuição da citoproteção da mucosa gástrica, são considerados os principais responsáveis pela formação e desenvolvimento das úlceras pépticas e também geram uma dificuldade de cicatrização da lesão já instalada.

Nos últimos 20 anos, o estudo de doenças relacionadas à úlcera péptica e duodenal tem aumentado significativamente devido a utilização de várias técnicas, que têm possibilitado o estudo mais detalhado da mucosa gástrica (BRZOZOWSKI, 2003).

De acordo com Repello & Llesuy (2002), a etiologia das úlceras gastroduodenais também ocorreram devido à presença de uma bactéria, *Helicobacter pylori* e também por vários outros agentes agressivos como secreção ácida, estresse, fumo, drogas antiinflamatórias não esteroidais, deficiência de nutrientes e pepsina. Esses mesmos autores relatam que agentes protetores da mucosa como bicarbonato, muco, fluxo sanguíneo, regeneração celular, e ainda agentes endógenos como prostaglandinas e fator de crescimento epidermal (EGF) devem modular a proteção da úlcera gástrica.

A mucosa gástrica exposta à agentes ulcerogênicos necrotizantes como aspirina, indometacina, ácidos biliares, álcool e isquemia, desenvolve características morfológicas, alterações ultra-estruturais e funcionais que refletem em injúrias. As lesões agudas da mucosa gástrica estão associadas com: 1) ruptura da camada e superfície hidrofóbica da membrana, 2) injúria e esfoliação da superfície do epitélio com perda da barreira e função elétrica, 3) injúria profunda na camada mucosa incluindo célula endotelial microvascular, zona de proliferação celular, célula parietal e principal. Danos do endotélio microvascular levam a uma parada da microcirculação, cessando oxigênio e transporte de nutrientes. Todos esses eventos resultam na formação de erosão e ulceração da mucosa. A diferença entre erosão e úlcera é que a erosão se implanta na mucosa, enquanto a úlcera penetra na camada muscular da mucosa (JONES & EMERSON, 1999).

Experimentos *in vivo* sugerem que a gastrina e a acetilcolina estimulam a célula enterocromafin “like” (ECL), a liberar histamina. ECL tem um “único maquinário” para controlar a síntese e a estocagem de histamina sob diferentes condições fisiológicas. A ativação de seus receptores causa influxo de cálcio seguido por liberação da histamina estocada (PRINZ et al., 2003).

Um pequeno desequilíbrio entre os mecanismos agressores da mucosa e os mecanismos protetores poderá causar uma lesão (Figura 4). Assim, o desenvolvimento de uma terapêutica adequada para o tratamento das úlceras pépticas tornou-se de vital importância (SOUZA-BRITO E NUNES, 1997).

As úlceras pépticas são o resultado da associação de fatores agressores endógenos (ácido, pepsina e bile) e de fatores exógenos predisponentes, relacionados a condições de vida (estresse, fumo, álcool, uso contínuo de drogas antiinflamatórias não esteroidais (DAINES), ingestão de determinados alimentos e a presença de

Helicobacter pylori, como também a predisposição genética, que reduziriam a defesa da mucosa gástrica (HIRSCHWITZ, 1995; BRUNTON, 1996; WOLFE & SANCHS, 2000; WALLACE, 2000).

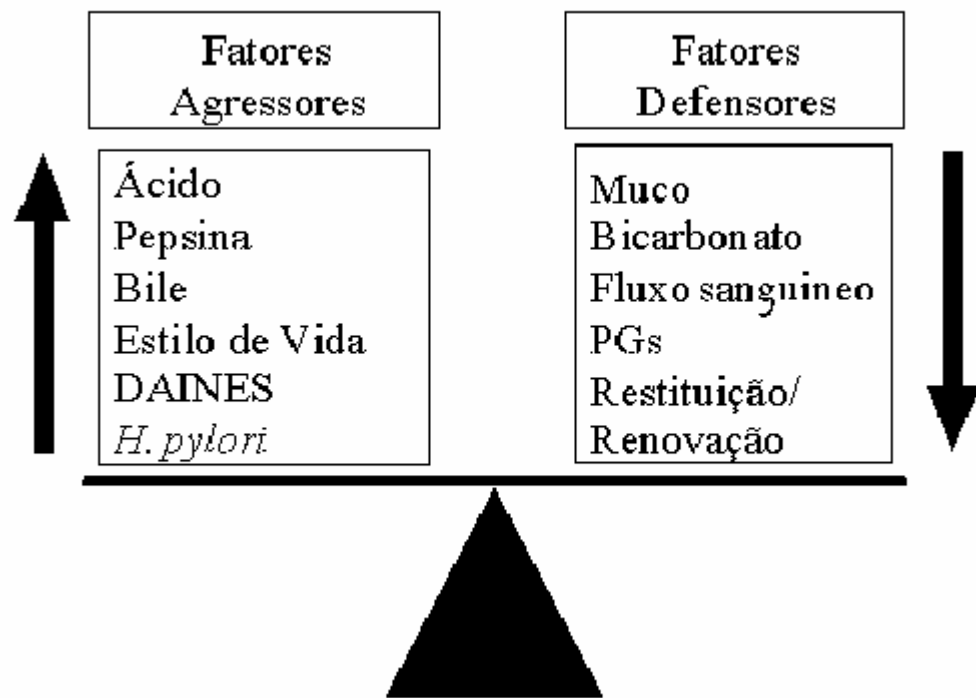


Figura 1: Esquema fisiopatológico atual da úlcera péptica.

As drogas utilizadas atualmente não são 100% eficazes na remissão de úlceras. Entre as inúmeras drogas empregadas temos: antiácidos, anticolinérgicos, antagonistas do receptor H-2 para histamina e inibidores de bomba de próton. Embora, sejam atualmente, raramente utilizados, alguns procedimentos cirúrgicos, como a vagotomia, ainda são indicados para alguns casos da patologia (SOUZABRITO, 1997).

O desenvolvimento de potentes drogas anti-secretoras, como antagonistas do receptor de histamina e inibidores da bomba de prótons, resultam na formação de

bicarbonato de sódio, que é secretado na superfície das células epiteliais na cavidade gástrica (TSUKIMI et al., 2001).

1.2. O estômago

O trato gastrointestinal (TGI) tem uma conformação adequada para obtenção de nutrientes e manutenção do bom funcionamento das células (KUTCHAI, 1996). Apresenta uma grande superfície de absorção e uma variedade de glândulas produtoras de sucos digestivos com capacidade de quebrar os nutrientes em moléculas suficientemente pequenas para, após completa digestão na superfície da mucosa, serem absorvidas pelo intestino delgado.

O estômago, um dos segmentos proximais do TGI, circundado por várias camadas de músculo liso e revestido por uma mucosa, está dividido em quatro regiões anatômicas: cárdia, fundo, corpo e antro (Figura 1). Este órgão está envolvido na digestão de proteínas e possui depressões e glândulas em toda sua extensão, sendo a superfície (Figura 2) constituída por células epiteliais secretoras de muco e os sulcos, por células parietais, principais, enterocromafins-like (ECL) e células G, produtoras de gastrina (KUTCHAI, 1996).

O mesmo autor relata que as células parietais, secretoras de ácido, e as células principais, de pepsinogênio, estão localizadas primariamente no fundo e no corpo, enquanto que as células de gastrina estão no antro. O suco gástrico normal é uma mistura da secreção parietal (ácido e fator intrínseco) e secreções não parietais (muco, bicarbonato, Na⁺, K⁺ e pepsinogênio).

As células parietais secretam ácido por três vias: parácrina, quando estimuladas pela histamina produzida pela ECL; endócrina, estimuladas pela gastrina produzida pelas células G do antro; e neural, estimuladas pela acetilcolina liberada nas terminações nervosas eferentes do vago e do sistema nervoso entérico. Histamina,

gastrina e acetilcolina possuem seus respectivos receptores localizados na membrana basolateral das células parietais. Gastrina e acetilcolina têm receptores na membrana das células ECL e também estimulam a secreção ácida indiretamente, através da liberação de histamina (YAO & FORTE, 2003) (Figura 3).

Os mesmos autores relatam que a secreção ácida envolve basicamente uma elevação inicial de cálcio intracelular e/ou AMPc, seguido pela ativação da cascata de proteína kinase AMPc dependente, que leva à translocação e inserção da bomba de próton (H, K-ATPase) dentro da membrana apical das células parietais.

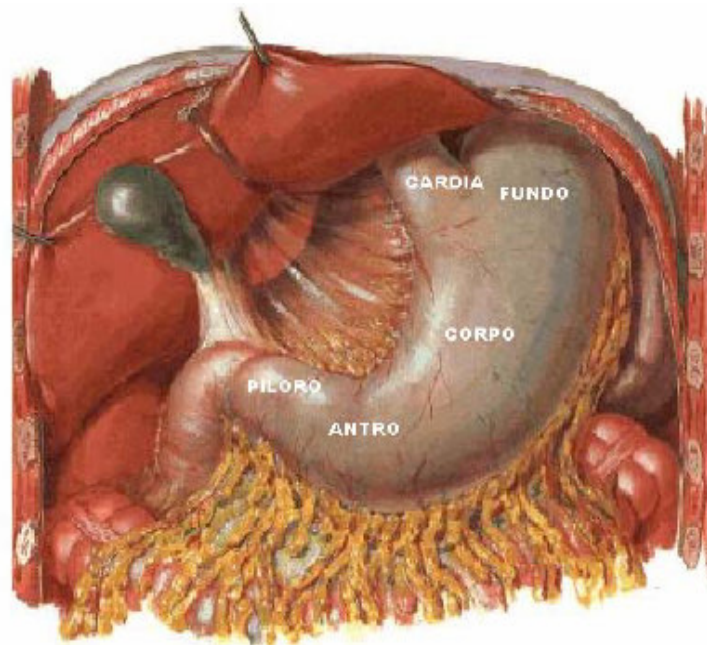


Figura 2: Anatomia do estômago (Retirado de Hansen & Koeppen, 2003, Artmed)

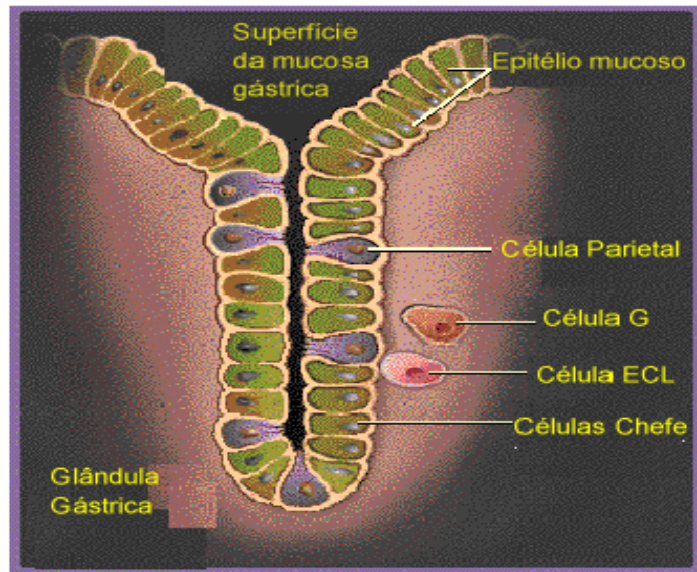


Figura 3: Distribuição anatômica das camadas musculares e localização das células do estômago (Retirado de Hansen & Koeppen, 2003, Artmed).

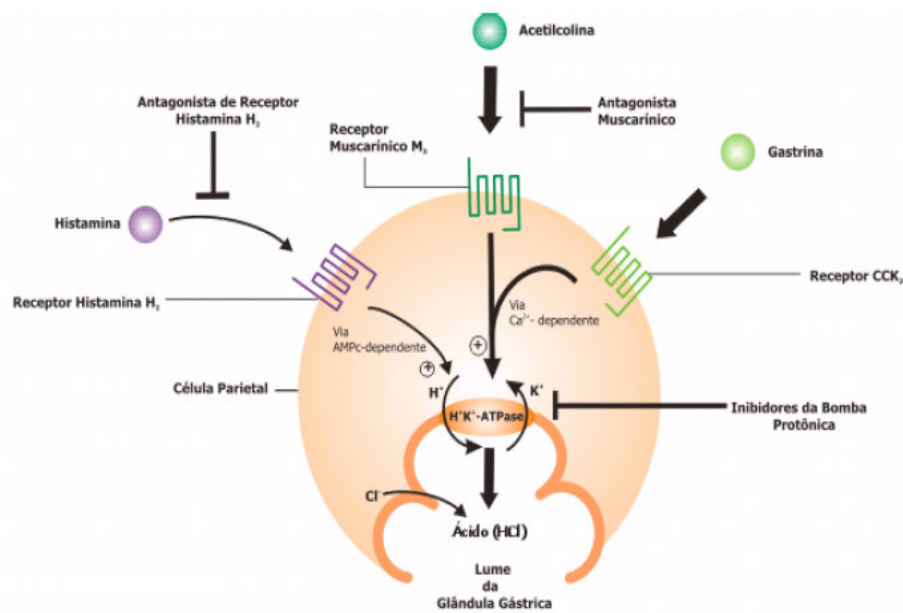


Figura 4: Representação esquemática da secreção ácida gástrica. Adaptado de Olbe *et al.*, 2003

1.3. Regulação da Secreção Ácida

Com relação à secreção ácida, a via neural estimula diretamente células parietais e células G no antro, responsáveis pela liberação de gastrina, bem como células ECL presente na glândula oxíntica, promovendo a liberação de histamina. A estimulação direta e indireta da célula parietal é mediada principalmente por três receptores: muscarínico colinérgico (M_1R), histaminérgico (H_2R) e receptor de gastrina/CCK-B (CCK_2R). Desses três receptores, entretanto, o H_2R parece ser o receptor chave na secreção ácida gástrica, pois antagonistas de H_2R não inibem somente a secreção ácida estimulada pela histamina, mas também a secreção ácida estimulada por gastrina e acetilcolina (AIHARA *et al.*, 2003).

Os mesmos autores relatam que a ativação de receptores de histamina resulta num aumento dos níveis intracelulares de AMPc, o qual age como segundo mensageiro para a transferência do sinal na etapa final da secreção ácida. Por outro lado, a estimulação do receptor muscarínico M_1 , pela acetilcolina, ou do receptor CCK_2R pela gastrina, resulta num sinal mediado pelo aumento intracelular de íons cálcio livre.

Embora a histamina tenha sido reconhecida como um potente secretagogo da secreção ácida desde 1920, o seu papel fisiológico no estômago é novamente tema de debates; também a acetilcolina e gastrina são de grande importância na estimulação da produção ácida gástrica (BAROCELLI & BALLOBENI 2003).

Ligantes colinérgicos não somente estimulam a liberação de histamina a partir das células ECL, como também estimulam diretamente a célula parietal por ativação do receptor M_1 na superfície celular. Por essa razão, um antagonista do receptor M_1 pode inibir completamente, tanto direta quanto indiretamente, a secreção ácida visto que as vias de estimulação da célula parietal não são distintas (WILKES *et al.*, 1991). A

inibição da ativação do receptor de histamina H₂ é um meio efetivo e seguro de regular a secreção ácida gástrica.

Vários estudos mostram também o envolvimento de hormônios gastrointestinais como gastrina na patofisiologia das úlceras gástricas (Dockray, 1999), a participação do peptídeo somatostatina e do fator de crescimento epidermal (EGF) na cicatrização do processo ulcerogênico (TARNAWSKI *et al.*, 2001).

A gastrina é o secretagogo responsável pela secreção ácida gástrica, a qual é liberada em resposta à produtos da digestão como aminoácidos. Sua inibição é promovida pela somatostatina (produzida pelas células D) quando o pH cai abaixo de 3 no antro. O ácido aplicado diretamente à célula G inibe a secreção de gastrina; já na célula D, o mesmo procedimento estimula a secreção de somatostatina, o que consequentemente inibe a liberação de gastrina (ZAVROS *et al.*, 2002).

Vale salientar também que a gastrina é liberada em resposta aos produtos da digestão como aminoácidos; os quais estimulam a secreção ácida gástrica e a produção de membros da família do EGF, que promovem o crescimento de células epiteliais superficiais (DOCKRAY, 1999).

A somatostatina é um polipeptídeo secretado pelas células D presentes na região do antro e do fundo do estômago, além do pâncreas, que também contribui na proteção da mucosa gástrica inibindo a função secretória de gastrina pelas células G. As atividades biológicas da somatostatina no trato gastrointestinal, incluem a inibição da secreção de ácido clorídrico e de pepsina no estômago (ZAKI *et al.*, 2002).

A terapêutica da secreção ácida gástrica tem avançado nos últimos anos, devido ao aumento da especificidade de fármacos envolvidos na inibição da secreção ácida gástrica (SACHS, 2003). A úlcera péptica, o refluxo gastro-esofágico e o sangramento na parte superior do estômago são condições que aumentam a demanda no cuidado à

saúde. A supressão de ácido é uma terapia comum nessas situações. Estudos de custo comparando os diversos supressores de ácido incluem benefícios econômicos prevenindo complicações (ERSTAD, 2003).

Agentes farmacológicos, como antagonistas de receptor H₂ e inibidores da bomba de prótons, são frequentemente utilizados no tratamento de doenças relacionadas à acidez tais como úlcera gastroduodenal e esofagite de refluxo. O aumento da compreensão do mecanismo preciso da secreção ácida gástrica no receptor, enzimas e sistema de transdução de sinal citoplasmático, possibilita o desenvolvimento de uma efetiva farmacoterapia antissecretora (AIHARA *et al.*, 2003).

O ácido gástrico é secretado pelas células parietais em resposta à influência do Sistema Nervoso Central (SNC) e por regulação mucosa, através de receptores de membrana. A ativação desses receptores gera mudanças em segundos mensageiros, os quais determinam a atividade da bomba de prótons gástrica, a H⁺, K⁺-ATPase. A regulação nervosa ocorre principalmente por modulação da atividade de uma variedade de núcleos no hipotálamo via neurotransmissores e peptídeos, como resposta a estímulos alimentares (HIRSCHOWITZ *et al.*, 1995).

Ainda esses autores relataram que o controle da secreção ácida na mucosa gástrica se dá por ativação de receptores de acetilcolina, histamina e gastrina, os quais possuem caráter ativador da secreção; assim como também receptores para o fator de crescimento epidermal (EGF) e prostaglandinas (PGE₂) com função inibitória.

Fatores de crescimento, como o EGF, são polipeptídios que se ligam à receptores celulares e estimulam elementos celulares importantes da cicatrização de úlceras como angiogênese, granulação e re-epitelização tecidual (SZABO & VINCZE, 2000). O EGF é um polipeptídeo com 53 aminoácidos sintetizado em glândulas salivares, rim, glândula duodenal de Brnner's, pâncreas, fígado e glândulas mamárias de

lactantes. Grande quantidade de EGF têm sido encontrado no lúmen do trato gastrointestinal (ELLIOT *et al.*, 2000).

O receptor de EGF está presente em células parietais de mamíferos. Estudos demonstraram que o EGF inibe seletivamente a resposta histamínica de glândulas gástricas de coelhos, com conseqüente redução da secreção ácida gástrica, contribuindo como importante fator no processo de cicatrização natural (HIRSCHOWITZ *et al.*, 1995).

As prostaglandinas, especialmente as PGE₂, são geradas na mucosa gástrica via atividade da enzima ciclooxigenase (COX). Elas são consideradas potente vasodilatadora e hiperalgésica, sendo capaz de inibir parcialmente a secreção de ácido clorídrico e garantir, em grande parte, a manutenção do fluxo sanguíneo para esta mucosa; a vasodilatação garante também, em grande parte, a produção e secreção de muco e bicarbonato (WALLACE *et al.*, 2000).

Paula e colaboradores em 2005 descreveram que ratos desnutridos (que se alimentam com dieta contendo uma quantidade menor de proteína do que o normal), apresentam menor susceptibilidade à ulceração aguda da mucosa gástrica, devido a uma maior produção de fatores citoprotetores da mucosa gástrica como muco e prostaglandina E₂.

1.4. O processo de formação da úlcera gástrica

Sabe-se que o etanol é um potente agente causador de úlceras gástricas, isto porque o contato direto deste agente com a mucosa gástrica, solubiliza o muco protetor deixando assim, a mucosa gástrica indefesa à ação hidrolítica e proteolítica do ácido clorídrico e da pepsina, respectivamente. O etanol pode induzir ainda um aumento na secreção do ácido gástrico e por contato direto, alterar a rede de vascularização local e romper vasos sanguíneos que irrigam a mucosa gástrica desencadeando um processo

necrotizante no tecido. Deste modo, a hipersecreção gástrica juntamente com a fragilidade da rede vascular e a dissolução da camada muco protetora da mucosa gástrica constituem os principais fatores envolvidos na instalação de uma úlcera induzida pelo etanol (PANDOLFINO *et al.*, 2000).

Paula *et al.* em 2005, também relataram que os extensos danos causados pelo etanol na mucosa gástrica estão correlacionados com a degranulação de mastócitos, os quais são responsáveis pela liberação de neuropeptídios e mediadores inflamatórios, incluindo histamina e leucotrienos. Ainda, a indução de úlceras por etanol não é prevenida por agentes anti-secretórios como a cimetidina, mas sim por agentes que aumentam os fatores defensivos da mucosa gástrica como as prostaglandinas E2.

Pacheco *et al.*, 2006 relataram que o etanol é considerado um agente irritante da mucosa gástrica, o qual destrói a camada de muco e bicarbonato, que atuam na proteção da mucosa gástrica contra o ácido clorídrico e outros agentes agressores. O etanol atua bloqueando a citoproteção gástrica por precipitação de proteínas, liberação de radicais livres e redução da concentração de compostos sulfidrilas nas células da mucosa.

O processo ulcerogênico está relacionado ao estresse oxidativo e este é considerado um desequilíbrio entre os mecanismos de defesa do organismo (moléculas antioxidantes naturais como a glutathione), em relação ao número de substâncias oxidantes produzidas pelo agente indutor de lesão ou ainda por alterações bioquímicas do próprio organismo. Este fato causa prejuízo na fisiologia do trato-gastrointestinal (TGI) e favorece a formação de doenças como gastrite e úlceras gástricas (LIH-BRODY *et al.*, 1996).

Além de mecanismos secretórios e citoprotetores, tem sido destacada a participação dos radicais livres de oxigênio gerados no processo de oxidação, que na mucosa gastroduodenal causam lesões pépticas. Os radicais livres são moléculas que

agridem a membrana lipídica (peroxidação lipídica), ácidos nucléicos, enzimas e receptores; ocasionando alterações na estrutura, além de alterações na atividade celular (ANDREOLI, 2000).

La Casa *et al.*, (2000), relatam que o processo de peroxidação lipídica resulta no aumento da atividade da enzima Xantino-Oxidase (XO) que, por sua vez induz aumento da produção e da liberação de radicais livres. Isto traz como consequência também a ativação dos leucócitos polimorfonucleares (PMN), que migram para o espaço intersticial e com isso promovem a liberação de mais radicais livres, ocasionando consequentemente inflamação e lesão do tecido (MOTILVA *et al.*, 1996).

Também Villegas *et al.*, (2001) relataram a importância da enzima mieloperoxidase (MPO), enzima que serve como marcador enzimático de leucócitos e permite a quantificação da ocorrência do processo inflamatório no tecido lesado. Além disso, tem sido sugerido que os radicais livres gerados por neutrófilos devem favorecer a formação de lesões crônicas induzidas pela administração de ácido acético (ITO *et al.*, 1998).

Sabe-se que a cimetidina, quando administrada em ratos submetidos à ulceração por ácido acético, inibe a saída de secreção ácida e diminui o tamanho das lesões devido a uma estimulação de fatores de crescimento como o fator de crescimento epidermal (EGF) (TARNAWSKI *et al.*, 2001). Ainda a cimetidina é considerada uma droga amplamente usada como agente anti-secretório gástrico na prevenção e tratamento de úlceras gástricas (DIAS *et al.*, 2000).

A ulceração gástrica crônica induzida por ácido acético é uma lesão necrótica profunda, a qual envolve toda a mucosa gástrica, penetrando através da camada muscular da mucosa. A cicatrização da mucosa é um processo dinâmico de preenchimento de defeitos da mucosa com proliferação e migração de células epiteliais

e tecido conectivo resultando na reconstrução da arquitetura da mucosa (TARNAWSKI *et al.*, 1995).

Componentes que auxiliam não apenas no processo de cicatrização das lesões gastroduodenais, como também contribuem com a qualidade da cicatrização destas lesões, estão sob investigação. A úlcera crônica por ácido acético, aparenta ser intratável quando comparada com as úlceras vistas clinicamente. Este fato se deve por ser uma lesão persistente durando mais de 150 dias (sem intervenção adicional), por favorecer o aparecimento de hemorragias e por aumentar as margens da lesão durante a cicatrização (ITO *et al.*, 1994).

Fatores de crescimento, como o EGF, são fatores de crescimento que se ligam à receptores celulares de membrana do tipo tirosina quinase, os quais estimulam elementos celulares importantes da cicatrização de úlceras como angiogênese, granulação e re-epitelização tecidual (SZABO & VINCZE, 2000).

Paula *et al.*, 2008a mostram que o EGF, um fator cicatricial recentemente descoberto na mucosa gástrica, está presente no estômago de roedores tratados com um óleo essencial obtido das cascas de uma planta bastante comum na Amazônia, a espécie *Croton cajucara* Benth, conhecida popularmente como “sacaca”. Este estudo fornece um novo mecanismo de ação antiulcerogênico da planta, já que mecanismos citoprotetores em roedores, foram evidenciados por HIRUMA-LIMA e colaboradores no ano de 2002.

Também Toma *et al.*, 2004 demonstraram que o EGF foi encontrado no estômago de roedores tratados com alcalóides obtidos de *Senecio brasiliensis*, e que os mesmos têm o papel de favorecer a cicatrização de úlceras gástricas.

Muitos produtos farmacêuticos têm sido usados no tratamento de úlcera gastroduodenal e doença péptica. Muitas vezes, esse tratamento não cicatriza as lesões

gástricas com qualidade e conseqüentemente a recidiva dessas lesões é considerado um fator comum (TOMA *et al.*, 2002). Assim, a terapia de úlceras gástricas e duodenais continua sendo um importante objetivo da pesquisa nesta área.

1.5. Propriedades farmacológicas de *Ipomoea imperati*

Em anos recentes, têm crescido o interesse do uso terapêutico de produtos naturais, especialmente aqueles derivados de plantas (RATES, 2001). Na medicina tradicional, várias plantas têm sido usadas para o tratamento de desordens do trato gastrointestinal, incluindo úlceras gástrica e péptica (SINGH & MAJUMDAR, 1999).

Hiruma-Lima *et al.*, 2002 relataram que muitos produtos farmacêuticos são usados para o tratamento de úlceras gástricas, como anti-ácidos, inibidores da bomba protônica ou bloqueadores de receptores H₂. Muitas dessas drogas já conhecidas comercialmente apresentam efeitos colaterais indesejáveis, sendo assim existe uma necessidade de novos estudos de substâncias naturais potencialmente ativas com menos efeitos adversos para uso no tratamento de úlceras gástricas.

Diferentes agentes terapêuticos, incluindo produtos extraídos de plantas, são usados para inibir a secreção ácida gástrica ou aumentar os mecanismos defensivos da mucosa produzindo muco, estabilizando a células epiteliais superficiais ou interferindo com a síntese de prostaglandinas (LEWIS & HANSON, 1991). Os mesmos autores relatam que plantas são consideradas fontes de novas drogas e tem produzido resultados promissores para o tratamento de úlceras gástricas.

Na medicina tradicional, por exemplo, várias plantas medicinais têm sido usada para tratar desordens do trato gastrointestinal (GRACIOSO *et al.*, 2000; HIRUMA-LIMA *et al.*, 2002; TOMA *et al.*, 2003, PAULA *et al.*; 2006). Isto é uma importante razão para investigar o efeito antiulcerogênico de plantas medicinais com uso tradicional na doença gástrica.

A família Convolvulaceae é composta por aproximadamente 59 gêneros e 1800 espécies (LIMA & BRAZ-FILHO, 1997). Nesta família está classificado o gênero *Ipomoea*, que se destaca por ser constituído de 600 a 700 espécies, as quais ocorrem principalmente no Continente Americano. Deste número, apenas 34 espécies foram estudadas sob o ponto de vista químico e/ou farmacológico.

Os mesmos autores relatam que terpenóides, alcalóides, flavonóides, lignanas são compostos químicos comumente encontrados no gênero *Ipomoea*. Este gênero é caracterizado pela ocorrência de resinas glicosídicas, constituída principalmente por glicolipídeos (Hernandez-Carlos & Pereda-Miranda 1999; MacLeod *et al.*, 1997), e por alcalóides do tipo indolizidínicos (JENETT-SIEMS *et al.*, 1998).

De acordo com La valva & Sabato (1983), a espécie de planta *I. imperati* aparece em muitas praias do Oceano Atlântico. O formato das folhas desta planta e a coloração das flores são usadas como subsídios essenciais na identificação das espécies (JOLY, 1970).

Alguns estudos farmacológicos do gênero *Ipomoea* comprovaram várias atividades biológicas: antimicrobiana, analgésica, espasmogênica, hipotensiva, inseticida, psicomimética e anticâncer (BIEBER *et al.*, 1986). Estudos da espécie *Ipomoea pes-caprae* mostraram que seus compostos biologicamente ativos exercem atividade anti-inflamatória e analgésica (DE SOUZA *et al.*, 2000; PONGPRAYOON *et al.*, 1991a, 1991b, 1992a, 1992b). Além disso, os extratos resinosos de variadas espécies de plantas da família Convolvulaceae também têm sido usados para fins medicinais (SINGH & STACEY, 1973).

A espécie em estudo pertencente à mesma família, *Ipomoea imperati*, é usada na medicina popular para o tratamento de inflamações, feridas e como diurético (FOSBERG & SACHET, 1977). Ainda, estudos científicos comprovaram a atividade

analgésica e antiinflamatória do extrato dessa espécie de planta mostrando resultados significativos com minimização de efeitos tóxicos (PAULA *et al.*, 2008b, PAULA *et al.*, 2003).

A família Convolvulaceae é rica em ácidos graxos glicosilados. Foram isoladas sete resinas glicosiladas de *I. imperati* do tipo éster, portadoras de estruturas intramoleculares cíclicas sem, no entanto, realizarem estudos de possíveis atividades biológicas. Sabe-se, no entanto, que essas resinas foram obtidas de uma fração apolar do extrato bruto da planta em estudo (NODA *et al.*, 1994).

Desta forma, devido às variedades biológicas descritas para o gênero *Ipomoea*, à possibilidade de isolamento de uma grande variedade de estruturas químicas, aos efeitos analgésico e antiinflamatório descritos para *Ipomoea imperati*, o objetivo deste estudo foi verificar a atividade anti-ulcerogênica de *I. imperati* em modelos de úlcera aguda induzida pelo etanol e em modelo de úlcera crônica induzida por ácido acético. Também foi realizado um estudo histológico para visualização do efeito preventivo e cicatrizante das lesões gástricas por parte de *Ipomoea imperati*.

II Objetivos:

O objetivo deste trabalho foi verificar a atividade anti-ulcerogênica de *Ipomoea imperati* em modelos de úlcera aguda induzida pelo etanol e em modelo de úlcera crônica induzida por ácido acético. Também foi realizado um estudo histológico para visualização do efeito preventivo e cicatrizante das lesões gástricas por parte de *Ipomoea imperati*.

III. Materiais e Métodos

3.1. Planta utilizada

As folhas de *I. imperati* foram coletadas por A.C.B. Paula na praia de Boracéia, SP, Brasil (Figura 5). A espécie *I. imperati* foi identificada pelo Prof. Dr. José Rubnes Pirani (Universidade de São Paulo) e Profa. Dra. Rosângela Simões Bianchini (Instituto Botânico de São Paulo), e está depositada no mesmo Instituto Botânico de São Paulo com o número de voucher SP 35184.



Figura 5: Foto da espécie em estudo *Ipomoea imperati* (Convolvulaceae) coletada na praia de Boracéia, litoral sul do estado de São Paulo.

3.2. Extração das frações isoladas de *Ipomoea imperati*

As folhas de *I. imperati* (5Kg) foram extraídas com metanol 40%, filtradas e o solvente evaporado à vácuo. Uma partição com água:diclorometano (1:1, v/v) separou fração polar (80g) e apolar (65g), onde esta última mais ativa, foi fracionada em coluna cromatográfica e usada nos experimentos (figura 6).

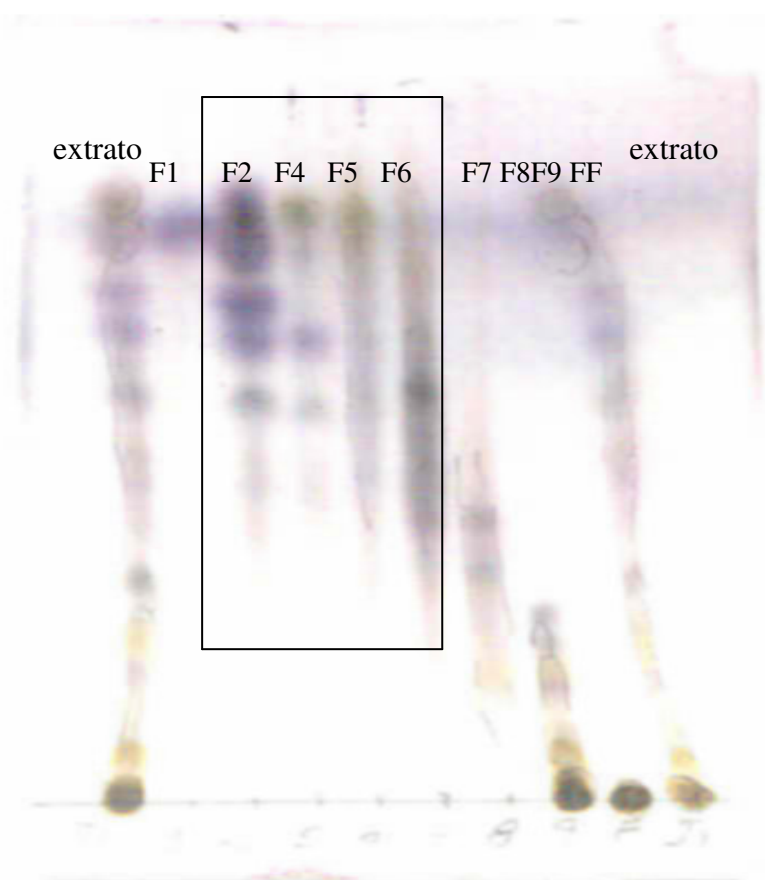


Figura 6: Apresentação da placa cromatográfica das frações do extrato apolar que foi fracionado, são 8 frações no total: F1; F2/4; F5; F6; F7; F8; F9, FF.

As duas aplicações (primeira e a última) são do extrato bruto e as frações intermediárias são respectivamente as frações isoladas. As frações F2/4, F5 e a F6 são muito parecidas e foram usadas nos ensaios biológicos.

3.3. Animais

Foram utilizados como animais de experimentação ratos Wistar (200-300g) e esses tiveram acesso *ad libitum* à água e NUVILAB. Todos os experimentos só foram realizados após a aprovação do Comitê de Ética em experimentação animal (Olfert *et al.*, 1993) da Universidade do Sagrado Coração (USC)-Bauru-SP.

3.4. Avaliação da atividade preventiva de *Ipomoea imperati*

3.4.1. Úlcera induzida pelo etanol: Efeito preventivo de formação de úlcera gástrica (MORIMOTO *et al.*, 1991).

Ratos sob jejum de 24 horas receberam 200mg/Kg de *I. imperati*, lanzoprazol (30mg/Kg) e Tween 80 à 12% (10ml/Kg) por via oral. Após 1h deste tratamento foi administrado 1ml de etanol 99,5% para induzir a úlcera gástrica. Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical 1h após o tratamento do agente ulcerogênico. Em seguida os estômagos foram removidos e abertos no sentido da maior curvatura, para determinação dos danos das lesões gástricas. Com o auxílio de um paquímetro digital Digimatic (Mitutoyo Corporation, Japan) essas lesões foram medidas em mm.

3.5. Avaliação da atividade cicatrizante de *Ipomoea imperati*

3.5.1. Úlcera induzida por ácido acético em ratos (TAKAGI *et al.*, 1969).

Animais sob jejum de 24h foram anestesiados com ketamina e copazine, e receberam 0,05 ml de uma solução de ácido acético 30% na camada subserosa da porção glandular de seus estômagos. Após 2 dias, foram iniciados os tratamentos, por via oral (uma vez ao dia) das amostras de *Ipomoea imperati* (200mg/kg), cimetidina (100mg/Kg) e Tween 80 à 12% por 14 dias consecutivos. Um dia após a última administração das drogas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e os

estômagos removidos e abertos no sentido da maior curvatura para determinação das lesões gástricas. As lesões foram determinadas através da medida do comprimento e da largura das mesmas, com o auxílio de um paquímetro digital Digimatic (Mitutoyo Corporation, Japan) sendo seu resultado expresso em mm².

A fórmula (2) usada para indicar o índice de cicatrização ou índice de cura foi:

$$(\%) \text{ de cura} = \frac{\text{área controle} - \text{área tratado}}{\text{área controle}} \quad (2)$$

3.6. Análise Morfológica

Após o sacrifício dos animais submetidos à úlcera induzida etanol e ácido acético; as amostras dos estômagos coletadas foram imersas em paraformaldeído 10% por 48 horas, lavadas em tampão PBS (3x por 10 min), desidratadas em série crescente de álcool, diafanizadas com xilol e embebidas em Paraplast à 59 °C. Cortes com 8 µm de espessura, obtidos em micrótomo semi-automático (RM 2155 Leica) foram coletados em lâminas previamente preparadas com albumina. Posteriormente os cortes das peças foram corados com hematoxilina e eosina para o experimento de indução de úlcera aguda por etanol e por Tricômio de Masson em experimentos de úlcera crônica induzida por ácido acético (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2005). As imagens foram analisadas e capturadas por um fotomicroscópio (Zeiss) acoplado a uma câmera digital (Leica DFC 280), para verificar a ação antiulcerogênica de *Ipomoea imperati*.

3.7. Análise estatística

Os dados estão apresentados como média e erro padrão da média de acordo com teste de análise de variância (ANOVA) seguido por teste de comparação múltipla de 2 vias Dunnett's. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

IV. Resultados

4.1. Estudo in vivo da atividade anti-ulcerogênica de *Ipomoea imperati*: úlcera induzida por etanol em ratos.

Em experimentos de úlcera induzida por etanol, foi possível verificar que *Ipomoea imperati* (200 mg/Kg) previniu a formação de lesões gástricas em 77,2 % ($p<0,05$) quando comparado com o controle negativo. Lanzoprazol usados como controle positivo neste modelo experimental, previniu a formação de úlceras em 85,6%, ($p<0,05$) (Figuras 7).

Na figura 8 (A), o pré-tratamento com o controle negativo tween, não previniu a ação do agente lesivo etanol. É possível notar intensa hemorragia na porção glandular do estômago de ratos. Na figura 8 (B) os animais foram pré-tratados com 200 mg/Kg de *Ipomoea imperati* antes do agente lesivo etanol. Aqui, é possível notar que *I. imperati* previne a formação de úlceras hemorrágicas na porção glandular do estômago de roedores.

Na figura 9 a avaliação morfológica complementa os dados de farmacologia de indução de úlcera gástrica por etanol. É possível notar que em (A) o agente ulcerogênico etanol danificou toda a camada mucosa do estômago de roedores, incluindo o revestimento epitelial produtor de muco gástrico, a lâmina própria, e glândulas gástricas. Em (B), a administração oral de *Ipomoea imperati* (200mg/Kg) uma hora antes do agente ulcerogênico etanol, previniu a formação de úlceras no estômago dos animais. Desta forma, conservou-se as características de citoproteção da mucosa gástrica e garantiu-se a integridade da camada mucosa.

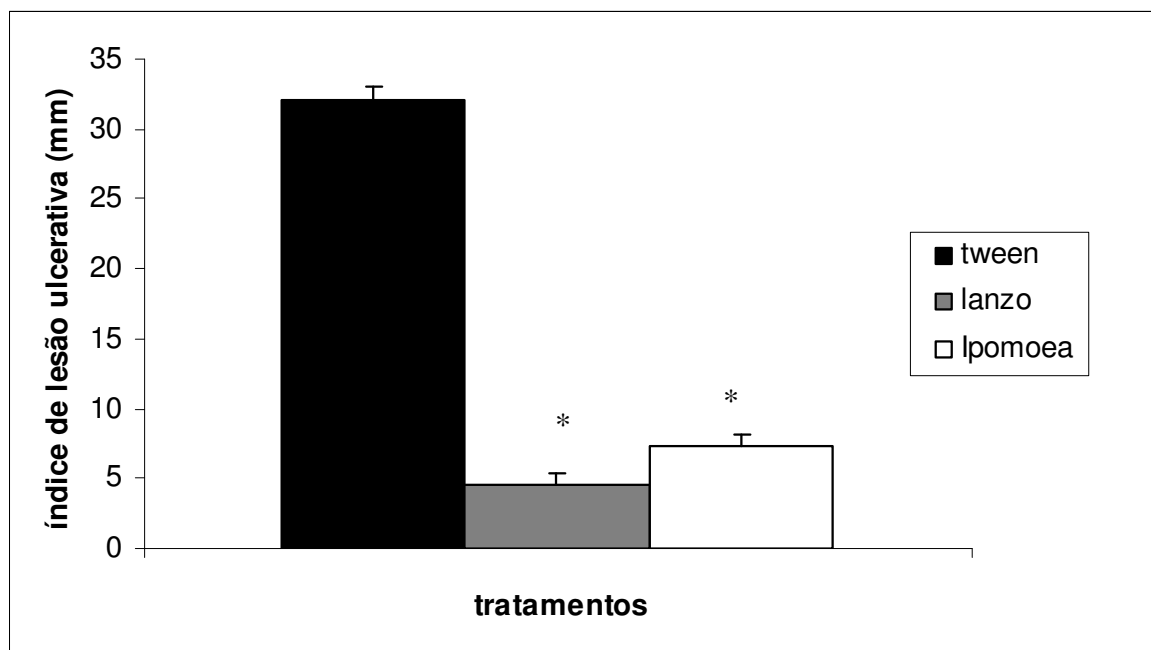


Figura 7: Efeito preventivo de *Ipomoea imperati* (200mg/Kg, v.o.) e do controle positivo lanzoprazol (v.o) em modelo de ulceração aguda etanol em ratos. Os resultados estão apresentados como média e erro padrão da média de 7 animais em cada grupo. ANOVA F (2, 18)= 3,20 para ILU (mm). Teste de Dunnett's: * p<0,05

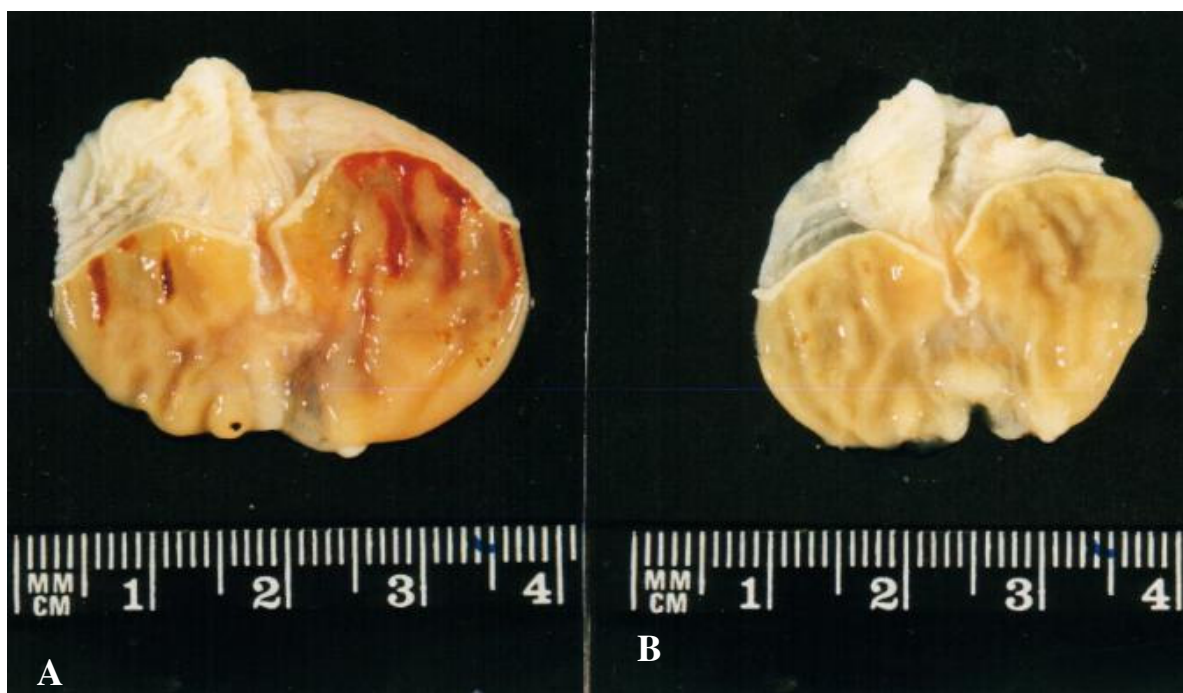


Figura 8: Foto mostrando ulceração aguda por etanol em ratos. Em (A), o pré-tratamento com o controle negativo twen, não previniu a ação do agente lesivo etanol. Notar intensa hemorragia na porção glandular do estômago de ratos. Em (B) os animais foram pré-tratados com 200 mg/Kg de *Ipomoea imperati* antes do agente lesivo etanol. Notar que *I. imperati* previne a formação de úlceras hemorrágicas na porção glandular do estômago de roedores.

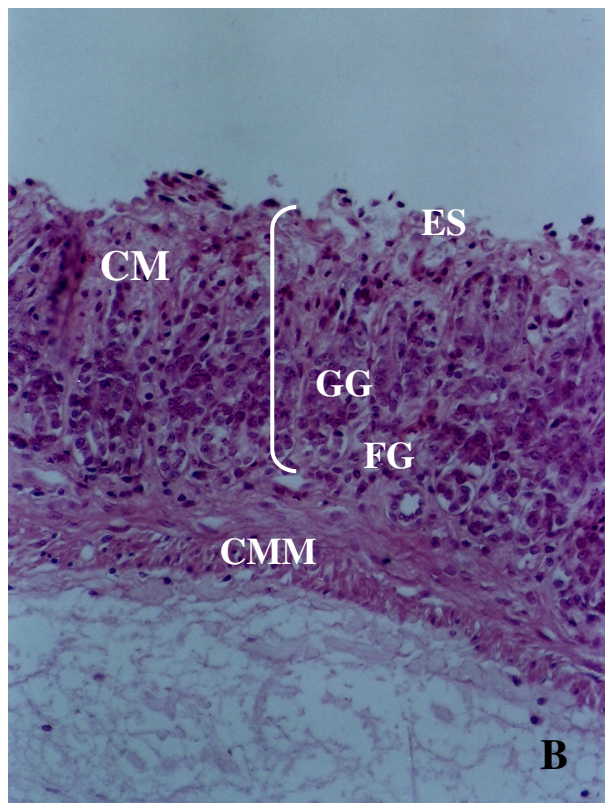
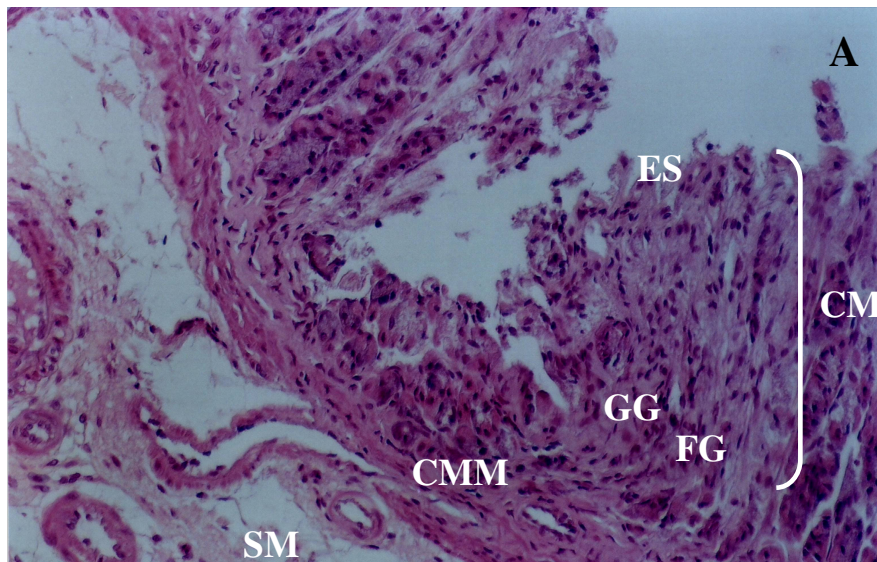


Figura 9: Aspecto morfológico de erosão na mucosa oxíntica de ratos tratados com Tween 80 (A) e com (B) *Ipomoea imperati* (200 mg/Kg) 1 hora antes da indução de úlcera gástrica por etanol. Na Figura 9 A, o epitélio superficial (ES) e camada mucosa (CM) estão destruídas. Na Figura 9 B, epitélio superficial está desarranjado mas junto com a camada mucosa, permanecem íntegros. FG= fossetas gástricas, GG= glândulas gástricas, CMM= camada muscular da mucosa, SM= camada submucosa. Hematoxilina e eosina, 400X.

4.2. Estudo da atividade cicatrizante de *Ipomoea imperati*: úlcera crônica induzida pelo ácido acético.

A seguir, também foi avaliada a ação curativa de *Ipomoea imperati* em experimento de ulceração crônica induzida por ácido acético 30%, na mucosa gástrica de roedores. Após a indução da úlcera, esperou-se 24 horas para o início do tratamento diário com *Ipomoea imperati* (via oral), durante 14 dias consecutivos.

A atividade curativa de *Ipomoea imperati* (200 mg/Kg) mostrou que a espécie em estudo cicatrizou em torno de 70% as lesões induzidas pelo ácido acético de maneira significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao controle negativo tween. Cimetidina usada como controle positivo mostrou uma atividade cicatrizante da ordem de 78,8% ($p < 0,05$); resultado semelhante ao registrado por *Ipomoea imperati* (Figura 10).

A figura 11 mostra a ulceração crônica por ácido acético em ratos. Em (A), após o processo de indução de úlcera, os animais foram tratados com o controle negativo tween. É possível notar extensa lesão. Em (B) os animais foram tratados no mesmo período com 200 mg/Kg de *Ipomoea imperati*. Aqui é possível verificar a redução da extensão da lesão, cicatrizada com o tratamento de *I. imperati*.

Na figura 12 (A) onde há a evidência de lesão gástrica, o tratamento por 14 dias foi realizado somente com o controle negativo tween. É possível notar que houve destruição da camada mucosa de roedores perdendo suas características funcionais. Nesta lesão estão incluídos o epitélio produtor de muco gástrico, a lâmina própria, a camada submucosa e a camada muscular da mucosa. Em (B), onde a figura 12 A está aumentada, nota-se capilares sanguíneos, tecido conjuntivo desorganizado, células inflamatórias, assim como também tecido de granulação, dando início ao processo de reparação. Ainda no canto superior desta figura, ocorre a presença de tecido necrótico, relatando a severidade da lesão causada pelo ácido acético. Nesta figura, há tecido que está se reorganizando, isto é, um tecido de granulação que tem várias fases de

diferenciação, este está em evolução, já existe vasos sanguíneos e os fibroblastos do tecido conjuntivo secretando colágeno (corado em azul).

Na figura 13 (A e B), as lesões gástricas induzidas pelo ácido acético foram cicatrizadas pelo tratamento diário de *I. imperati* (200mg/Kg) em 14 dias. É possível notar que a camada mucosa (epitélio de revestimento superficial, glândulas e fossetas gástricas, lâmina própria e camada submucosa) encontram-se íntegros, recuperando as características funcionais da mucosa gástrica.

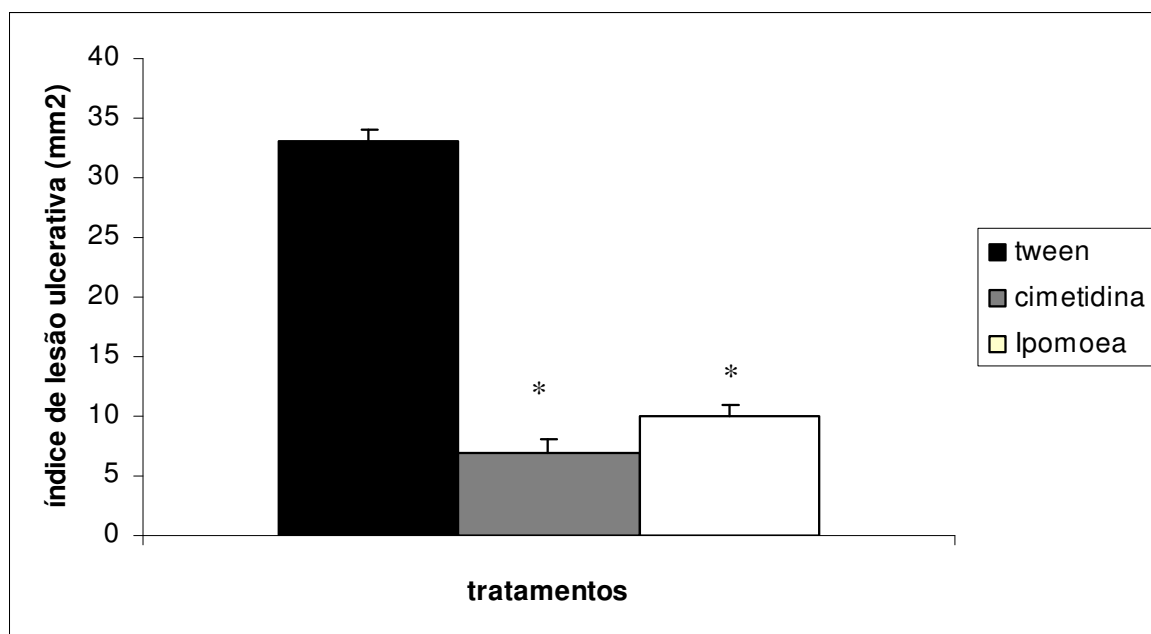


Figura 10: Efeito cicatrizante de *Ipomoea imperati* (200mg/Kg) e do controle positivo cimetidina (via oral) em modelo de úlcera crônica induzida por ácido acético em ratos. Os resultados estão apresentados como média e erro padrão da média de 7 animais em cada grupo. ANOVA $F(2, 18) = 2,84$ para ILU (mm²). Teste de Dunnett's: ** $p < 0,05$.

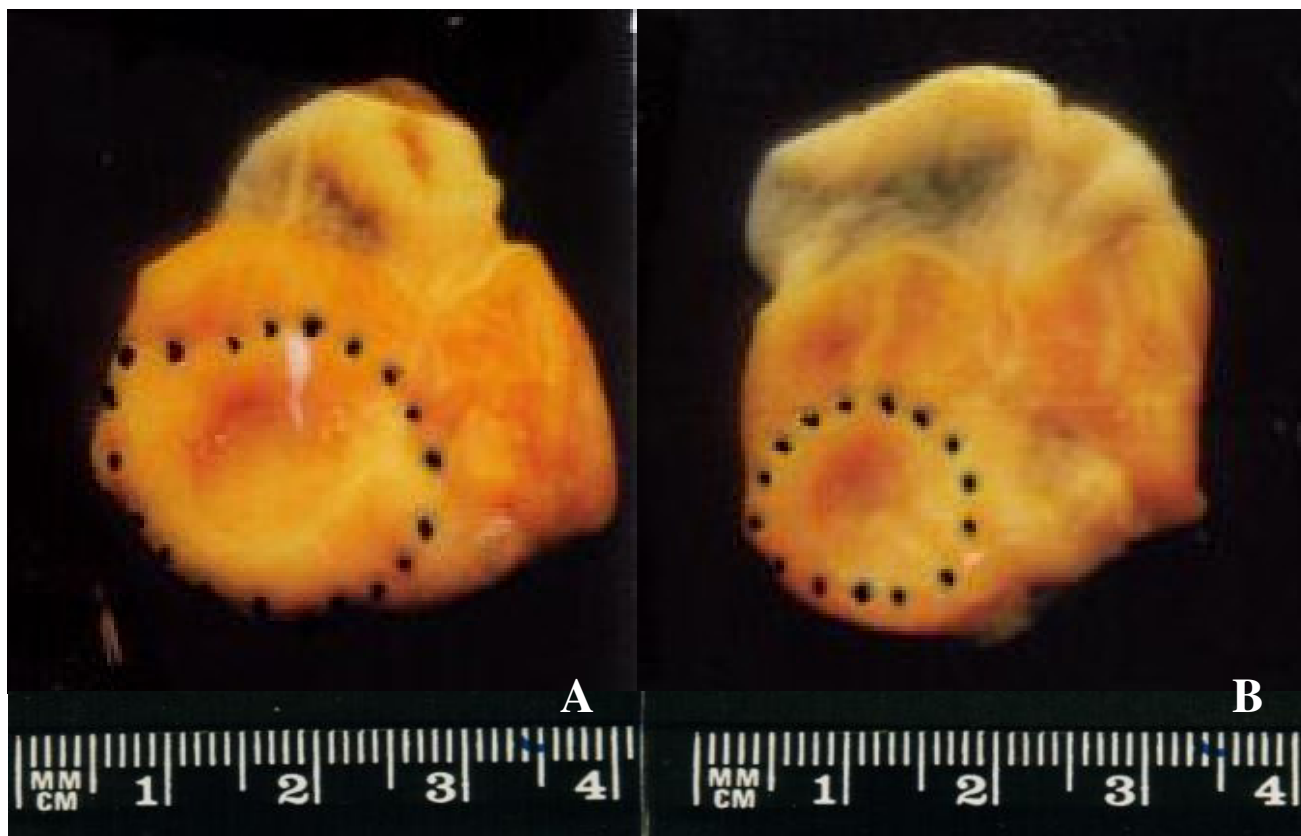


Figura 11: Foto mostrando ulceração crônica por ácido acético em ratos. Em (A), após o processo de indução de úlcera, os animais foram tratados com o controle negativo tween. Em (B) os animais foram tratados no mesmo período com 200 mg/Kg de *Ipomoea imperat*. Notar a redução da extensão da lesão, cicatrizada com o tratamento de *I. imperati*.

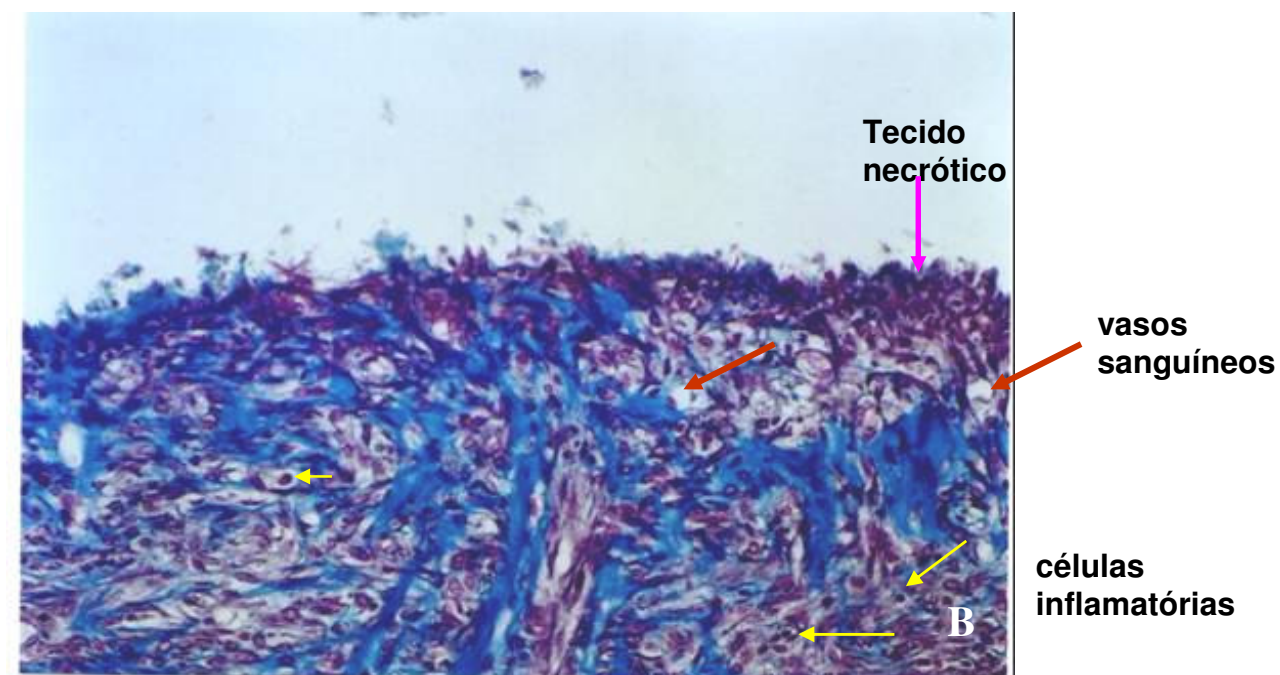
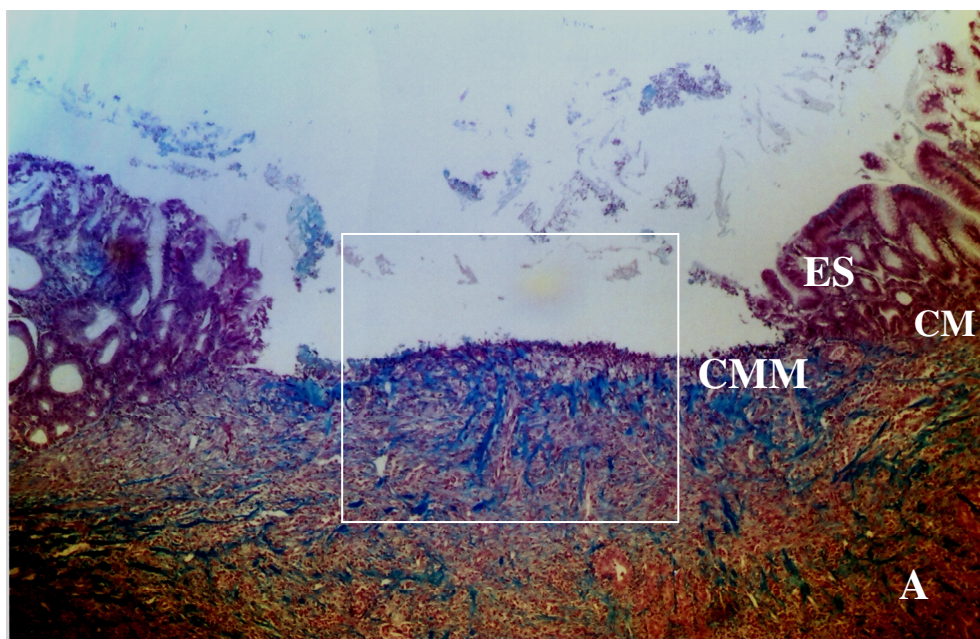


Figura 12: Aspecto morfológico de úlcera gástrica observada após 14 dias da injeção de ácido acético na parede do estômago de ratos tratados com Tween (A) e (B). Na Figura 12 (A) epitélio superficial (ES), camada mucosa (CM), e muscular da mucosa (CMM) estão destruídos, mostrando uma úlcera crônica. Na figura 12 B, a mesma lesão em maior aumento mostra tecido de granulação em evolução (tecido conjuntivo desorganizado), células inflamatórias, vasos sanguíneos e restos de tecido necrótico no canto superior direito. Tricômio de Masson. 400X.

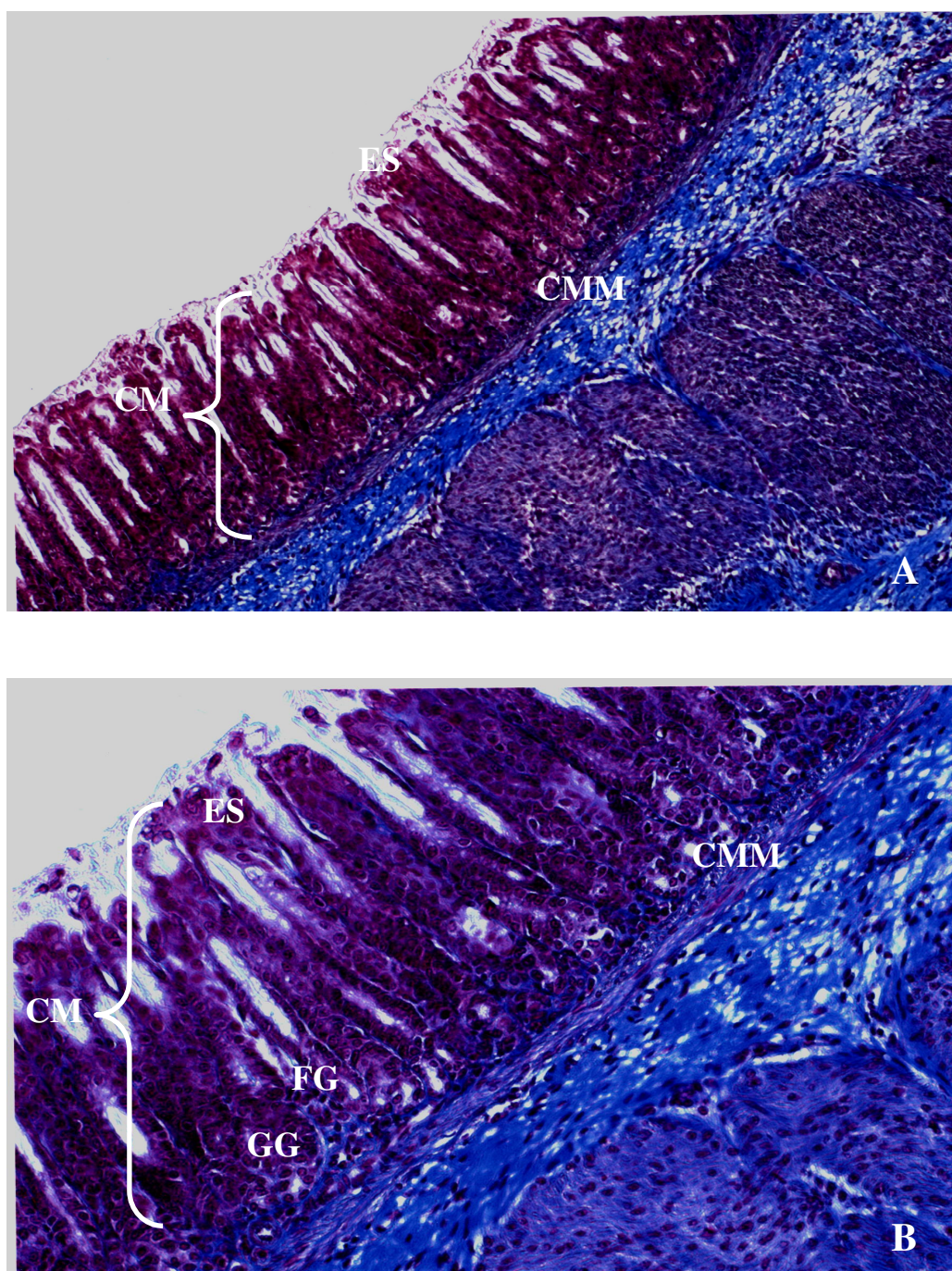


Figura 13 A e B: Foto mostrando a cicatrização de úlceras g sticas pelo tratamento diário de *I. imperati* (200mg/Kg) em 14 dias.   possível notar que a camada mucosa (CM) com o epitélio de revestimento superficial (ES) e também a camada muscular da mucosa (CMM) encontram-se íntegros, recuperando as características funcionais da mucosa g stica. FG= fossetas g sticas, GG= glândulas g sticas, CMM= camada muscular da mucosa. Tricômio de Masson. 400 X.

V. Discussão

A úlcera péptica acomete cerca de 10% da população mundial e é causada por um desbalanço entre os mecanismos protetores e agressores da mucosa. A úlcera é resultado da associação de diversos fatores agressores endógenos (ácido, pepsina e bile), fatores exógenos predisponentes às condições de vida (estresse, fumo, álcool, uso contínuo de drogas anti-inflamatórias não esteróides, ingestão de determinados alimentos, a presença da bactéria *Helicobacter pylori*) e a predisposição genética. Atualmente, a terapêutica usada no tratamento das lesões são: antiácidos, anticolinérgicos, antagonistas de receptores H₂ para histamina, inibidores da bomba de próton, antibióticos e mais raramente alguns procedimentos cirúrgicos. O emprego de uma ou mais destas drogas ou procedimento cirúrgico, pode ocasionar alguns efeitos colaterais e não obrigatoriamente é eficaz.

Na verdade, procedimentos cirúrgicos no tratamento da úlcera péptica foram substituídos por intervenções farmacológicas (utilização de antagonistas de receptor H₂ e de inibidores de bomba protônica) consideradas estratégias eficazes contra desordens gástricas (BRZOZOWSKI, 2003). Entretanto, esses agentes farmacêuticos não são completamente efetivos e podem provocar efeitos adversos (ALPER, 1993). Extratos e princípios ativos de planta serviriam como um guia para o desenvolvimento de novas drogas antiulcerogênicas (GONZALES *et al.*, 2000).

Adicionalmente, o estômago tem uma série de barreiras para que a sua função primordial de digestão não acabe por lesá-lo. A camada mucosa é uma das principais barreiras que isolam as células do lúmen, onde ocorrem as variações de pH, conteúdo osmótico e calórico da refeição. Assim, na camada mucosa podem ser observados quatro tipos de proteção. O primeiro constituído pelos fatores secretados para o lúmen tais como: fosfolipídios de superfície ativa, bicarbonato, ácidos, muco, prostaglandinas

e outras substâncias antibacterianas como a lactoferrina. O segundo tipo de proteção é constituído pelo próprio epitélio que funciona contra a difusão passiva de substâncias e dispõe de um sistema eficaz de reparo rápido, que envolve a produção de fatores tróficos como, por exemplo, o fator de crescimento epidermal (EGF), garantindo a integridade da mucosa. A proteção dada pela ação conjunta de aferência nervosa sensitiva e a microcirculação das camadas mucosa e submucosa, determinam o terceiro nível de proteção. Desta forma, qualquer modificação do meio desencadeia respostas como: o aumento de fluxo sanguíneo na região para facilitar a ação reparadora dos fatores de crescimento e garantir um aporte nutritivo necessário para que as células desempenhem corretamente suas funções (GONZALES et al., 2000).

O quarto tipo de defesa é constituído pelo sistema imunológico da mucosa, que inclui a participação das células de alerta como mastócitos e macrófagos que, por sua vez, mobilizam todo sistema imunológico celular para uma resposta inflamatória de proteção (WALLACE, 1996, ROBERT, 1979).

Em experimentos de úlcera induzida por etanol, foi possível verificar que *Ipomoea imperati* na doses de 200 mg/Kg previniu a formação de lesões gástricas em 77,2 % ($p < 0,05$) quando comparado ao controle negativo. Lanzoprazol usado como controle positivo neste modelo experimental, previniu a formação de úlceras em 85,6%, $p < 0,05$ (Figura 7).

Na figura 8 (A), o pré-tratamento com o controle negativo tween, não previniu a ação do agente lesivo etanol. É possível notar intensa hemorragia na porção glandular do estômago de ratos. Na figura 8 (B) os animais foram pré-tratados com 200 mg/Kg de *Ipomoea imperati* uma hora antes do agente lesivo etanol. Aqui, é possível notar que *I. imperati* previne a formação de úlceras hemorrágicas na porção glandular do estômago de roedores.

Na figura 9, a avaliação morfológica complementa os dados de farmacologia de indução de úlcera gástrica por etanol. É possível notar que em (A) o agente ulcerogênico etanol danificou todo o revestimento epitelial produtor de muco gástrico, assim como também lâmina própria, glândulas e fossetas gástricas pertencentes à camada mucosa do estômago de roedores. Em (B), a administração oral de *Ipomoea imperati* (200mg/Kg) uma hora antes do agente ulcerogênico etanol, previniu a formação de úlceras no estômago dos animais. Desta forma, conservou-se as características de citoproteção da mucosa gástrica e garantiu-se a integridade de glândulas e fossetas gástricas da camada mucosa.

A administração do etanol causa edema no tecido, hemorragia subepitelial, esfoliação celular e infiltração de células inflamatórias que podem contribuir para a indução dos danos na mucosa e geração de espécies reativas de oxigênio (KOUNTOURAS *et al.*, 2001). O etanol atua ainda destruindo a camada de muco e bicarbonato com consequente bloqueio da citoproteção gástrica por precipitar proteínas, liberando radicais livres e reduzindo compostos sulfidrilas e prostaglandinas nas células da mucosa (Pacheco *et al.*, 2006); além de causar a degranulação de mastócitos, o que leva à liberação de mediadores inflamatórios como a histamina e leucotrienos (PAULA *et al.*, 2005).

Também é relatado que o etanol em contato direto com a mucosa gástrica, solubiliza o muco protetor deixando assim, a mucosa gástrica indefesa à ação hidrolítica e proteolítica do ácido clorídrico e da pepsina, respectivamente. Esta substância pode induzir ainda, um aumento da secreção do ácido gástrico e por contato direto, alterar a rede de vascularização local e romper vasos sanguíneos que irrigam a mucosa gástrica desencadeando processos necrotizantes no tecido (MIZUI & DOUTEUCHI, 1983; LEWIS & HANSON, 1991; TABATA *et al.*, 1996; EVANS, 1996). Deste modo, a

hipersecreção gástrica juntamente com a fragilidade da rede vascular e a dissolução da camada muco-protetora da mucosa gástrica constituem os principais fatores envolvidos na instalação da úlcera induzida pelo etanol (MIZUI & DOUTEUCHI, 1983; OATES & HAKKINEN, 1988; LEWIS & HANSON, 1991; TABATA *et al.*, 1996; EVANS, 1996, PANDOLFINO *et al.*, 2000).

A síntese de muco fortalece a barreira protetora contra agentes lesivos, o qual tem uma importante função na proteção gástrica. A camada de muco em forma de gel, oferece uma barreira contra a pepsina luminal protegendo a mucosa da digestão proteolítica (ALLEN & FLEMSTROM, 2005).

Pacheco *et al.*, em 2006 relataram que o etanol é considerado um agente irritante da mucosa gástrica, o qual destrói a camada de muco e bicarbonato, que atuaria na proteção da mucosa gástrica contra o ácido clorídrico e outros agentes agressores. O etanol atua bloqueando a citoproteção gástrica por precipitação de proteínas; também age direto no epitélio gástrico causando peroxidação lipídica. O uso do etanol induz estresse oxidativo com liberação de radicais livres e redução da concentração de compostos sulfidrilas nas células da mucosa.

Assim, as úlceras gástricas são mais recorrentes, em consequência do fato de a mucosa gástrica estar em contato direto com o ácido e a pepsina e submetida à ação de agentes externos ingeridos. Por décadas, admitiu-se que as úlceras eram causadas apenas pelo excesso de secreção ácida. Sabe-se hoje que muitos dos pacientes que apresentam úlceras não têm alteração na secreção gástrica de ácido (WALLACE, 1996). Posteriormente, passou-se a admitir que essa patologia estaria associada à colonização do estômago por *Helicobacter pylori* (BRUTON *et al.*, 1996). Contudo, foram identificadas na população pessoas saudáveis colonizadas pela bactéria, que não desenvolviam as úlceras e indivíduos acometidos pela patologia sem a presença dessa

bactéria. Por outro lado, os testes de urease para *H. pylori* são mascarados pelo uso dos inibidores de bomba de próton. Desse modo, pode ser que a maioria dos pacientes com a úlcera péptica estejam colonizados com a bactéria, visto que os inibidores são prescritos e utilizados antes dos testes para detectar a presença da bactéria (OLIVEIRA, 2003).

Deste modo, o consenso na literatura atual, relata que a úlcera é resultado da associação de fatores agressores endógenos (ácido, pepsina e bile) e a fatores protetores da mucosa gástrica como muco, prostagladinas, fator de crescimento epidermal, fluxo sanguíneo e o hormônio somatostatina (HIRSCHWITZ, 1995, BRUNTON, 1996, WOLFE & SANCHS, 2000, WALLACE 2000).

Um pequeno desequilíbrio entre os mecanismos agressores da mucosa e os mecanismos protetores poderá causar uma lesão e no Brasil são milhares de centenas de casos com alta morbidade (WALLACE & GRANGER, 1996). Sendo assim, o desenvolvimento de uma terapêutica adequada para o tratamento das úlceras pépticas tornou-se importante (SOUZA-BRITO & NUNES, 1997).

As drogas utilizadas atualmente não são 100% eficazes na remissão de úlceras. Assim faz-se necessário a obtenção de novos medicamentos obtidos de plantas medicinais como alternativa terapêutica, a qual deve ser eficaz com minimização de efeitos adversos. Estudos desenvolvidos pela Organização Mundial de Saúde demonstram que 85% da população em países em desenvolvimento fazem uso de plantas medicinais, ou seus derivados, no tratamento das patologias gastrintestinais (GRACIOSO, 2002).

Na medicina tradicional, por exemplo, várias plantas medicinais têm sido usada para tratar desordens do trato gastrointestinal (GRACIOSO *et al.*, 2000; HIRUMA-LIMA *et al.*, 2002; TOMA *et al.*, 2004, PAULA *et al.*; 2006, 2008). Isto é uma

importante razão para investigar o efeito antiulcerogênico de plantas medicinais com uso tradicional na doença gástrica.

Também as indústrias farmacêuticas têm mostrado grande interesse no estudo de plantas que apresentam atividade farmacológica, visando à identificação de novas estruturas moleculares com atividades biológicas (Hamburger & Hostettman, 1991), visto que, a natureza é um dos melhores laboratórios de moléculas com potenciais efeitos medicinais (SOUZA-BRITO, 1996).

De acordo com Lih-Brody *et al* (1996), o processo ulcerogênico está também relacionado ao estresse oxidativo e este é considerado um desequilíbrio entre os mecanismos de defesa do organismo (moléculas antioxidantes naturais como a glutatona), em relação ao número de substâncias oxidantes produzidas pelo agente indutor de lesão ou ainda por alterações bioquímicas do próprio organismo.

Radicais livres derivados do oxigênio representam importante papel na patogênese de injúria aguda da mucosa gástrica por isquemia-reperusão, estresse, drogas antiinflamatórias e etanol em ratos. Os radicais livres gerados por neutrófilos podem ser fatores importantes no atraso da cicatrização de úlcera gástrica crônica induzida por ácido acético (HAMAISHI *et al*, 2006).

Durante a realização do experimento de indução de úlcera crônica por ácido acético em estômagos de ratos, o qual permite avaliar uma possível atividade curativa sobre uma lesão já estabelecida (Takagi *et al.*, 1969), observou-se que *Ipomoea imperati* na dose de 200 mg/Kg, foi eficaz em reduzir 70% das lesões induzidas por este agente lesivo de maneira significativa ($p < 0,05$) quando comparado ao controle negativo tween (Figura 10). Cimetidina usada como controle positivo mostrou uma atividade cicatrizante da ordem de 78,8% ($p < 0,05$; figura 10).

É bem conhecido que em muitos modelos de úlcera, as lesões são muito pequenas e diferentes histologicamente da úlcera péptica crônica humana, com relação a patomorfologia e características de cura (BROZOZOWSKI, 2003). Um dos únicos modelos reais de úlcera péptica para avaliar o processo de cicatrização é o modelo introduzido por Takagi *et al.*, (1969), que é o modelo de úlcera induzido pelo ácido acético em ratos.

Neste modelo, houve uma cicatrização significativa quando se utilizou a fração apolar de *Ipomoea imperati*, apresentando resultado semelhante a aquele obtido com a droga padrão cimetidina. A cimetidina é um antagonista de receptores H2 comumente utilizado na terapêutica e age como inibidor competitivo da histamina com seu receptor, é altamente seletivo e não interage com receptores H1 (BRUTON, 1996).

Também vale salientar que esse processo de cura é acompanhado de aumento de fluxo sanguíneo gástrico na área da úlcera e de aumento significativo de gastrina plasmática e citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β (BROZOZOWSKI *et al.*, 2001). Os mesmos autores relatam que com a progressão do processo curativo da úlcera, o fluxo sanguíneo na margem da úlcera e os elevados níveis de TNF- α , IL-1 β e gastrina decaem gradualmente.

A figura 11 mostra a foto da ulceração crônica induzida por ácido acético em ratos. Em (A), após o processo de indução de úlcera, os animais foram tratados com o controle negativo tween. É possível notar extensa lesão com danos que atingem camadas mais profundas da mucosa gástrica. Em (B) os animais foram tratados no mesmo período com 200 mg/Kg de *Ipomoea imperati*. Aqui é possível verificar a redução da extensão da lesão, cicatrizada com o tratamento de *I. imperati*.

No modelo de úlcera gástrica crônica induzida por ácido acético a lesão apresenta aspecto necrótico e profundo, envolvendo toda mucosa gástrica e penetrando na camada muscular da mucosa (TARNAWSKI *et al.*, 1995).

Na figura 12 (A) onde há a evidência de lesões gástricas, o tratamento por 14 dias foi realizado somente com o controle negativo tween. É possível notar que tanto o epitélio produtor de muco gástrico, glândulas e fossetas gástricas pertencentes à camada mucosa, apresentam-se destruídos, perdendo as características funcionais da mucosa gástrica. Neste caso, a lesão atingiu até a camada muscular da mucosa, mostrando a severidade da lesão.

Na figura 12 (B), onde a figura 12 A está aumentada, nota-se capilares sanguíneos, tecido conjuntivo desorganizado, células inflamatórias, assim como também tecido de granulação, dando início ao processo de reparação. Ainda no canto superior desta figura, ocorre a presença de tecido necrótico, relatando a severidade da lesão causada pelo ácido acético.

Na figura 13 (A e B), as lesões gástricas induzidas pelo ácido acético foram cicatrizadas pelo tratamento diário de *Ipomoea imperati* (200mg/Kg) e pelo controle positivo cimetidina (30mg/Kg) em 14 dias. É possível notar que o epitélio de revestimento superficial, glândulas e fossetas gástricas pertencentes à camada mucosa, camada submucosa e também a camada muscular da mucosa encontram-se íntegras, recuperando as características funcionais da mucosa gástrica.

No período inicial de cura da úlcera, ocorre uma supressão notável da acidez gástrica e expressão de fatores de crescimento como EGF e TGF- α , os quais controlam a proliferação celular, apresentam atividade anti-secretória (KONTUREK *et al.*, 1992) e são indutores do aumento da síntese de proteínas na área de lesão (SZABO & VINCZE, 2000). A cura da úlcera é um processo de reconstrução da arquitetura da mucosa que

envolve a migração e a proliferação de células epiteliais e inflamatórias. Aqui a síntese e a degradação de moléculas da matriz extracelular e componentes do tecido conectivo, assim como também a síntese de fatores de crescimento e citocinas contribuem para a cicatrização da mucosa gástrica (TARNAWSKI *et al.*, 1995).

Na região de cicatrização, as glândulas gástricas dilatam e as células epiteliais que sublinham essas glândulas expressam o fator de crescimento epidermal (EGF) que é um dos principais fatores mitóticos que influenciam a proliferação das células epiteliais para reconstrução da mucosa e que aceleram a cicatrização de úlceras crônicas (KONTUREK *et al.*, 1998). Vários estudos demonstram que o EGF aumenta a regeneração epitelial com deposição de colágeno, inibição de secreção ácida e estímulo da síntese de prostaglandinas (KITAZAWA *et al.*, 1990).

Desta forma, a espécie em estudo *Ipomoea imperati* apresenta atividade preventiva e cicatrizante da mucosa gástrica, sendo este efeito muito próximo aos efeitos obtidos com as drogas antiulcerogênicas tradicionalmente usadas no mercado, como lansoprazol e cimetidina. Esses dados são confirmados através do estudo morfológico realizado em nosso laboratório, onde *I. imperati* preservou as características dos tecidos da mucosa gástrica de roedores, recuperando tanto o epitélio de revestimento superficial como a camada mucosa gástrica. Desta forma, *Ipomoea imperati* possui evidências científicas que comprovam sua eficácia como agente anti-ulcerogênico.

VI. Conclusões

Foi possível observar em experimentos *in vivo* que a espécie em estudo *Ipomoea imperati* apresenta atividade preventiva e cicatrizante da mucosa gástrica, sendo este efeito muito próximo aos efeitos obtidos com as drogas antiulcerogênicas tradicionalmente usadas no mercado, como lansoprazol e cimetidina. Esses dados são confirmados através do estudo morfológico realizado em nosso laboratório, onde *I. imperati* preservou as características dos tecidos da mucosa gástrica de roedores, recuperando tanto o epitélio de revestimento superficial como a camada mucosa gástrica. Desta forma, *Ipomoea imperati* possui evidências científicas que comprovam sua eficácia como agente anti-ulcerogênico.

VII. Referências Bibliográficas

- AIHARA, T.; FUJISHITA, T.; KANATANI, K.; FURUTANI, K.; NAKAMURA, E.; TAKETO, M.M.; MATSUI, M.; CHEN, D. & OKABE S. (2003) Impaired gastric secretion and lack of trophic responses to hypergastrinemia in M3 muscarinic receptor knockout mice. *Gastroenterol.* 125(6):1774-84.
- ALLEN, A. & FLEMSTROM, G. (2005) Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *Am. J Physiol Cell.* 288: C1-C19.
- ALPER, J. (1993) New bind for ulcer bacterium. *Science* 262(5141) :181-7.
- ANDREOLI, T.E. (2000) Free radicals and oxidative stress. *Am J Med.* 108: 650-651.
- BAROCELLI, E. & BALLABENI, V. (2003) Histamine in the control of gastric acid secretion: a topic review. *Pharmacol Res.* 47(4): 299-304.
- BIEBER, L.W.; DA SILVA FILHO, A.A.; CORREA LIMA, R.M.O.; CHIAPPETA, A.A.; DO NASCIMENTO, S.C.; DE SOUZA, I.A.; DE MELLO, J.F. & VEITH, H.J. (1986) Anticancer and antimicrobial glycosides from *Ipomoea bahiensis*. *Phytochemistry*, 25(5): 1077-1081.
- BRZOZOWSKI, T. (2003) Experimental production of peptic ulcer, gastric damage and câncer models and their use in pathophysiological studies and pharmacological treatment- Polish achievements. *J. Physiol. Pharmacol.* 54:99-126.
- BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, P.C.; KONTUREK, S.J.(2001) Classic NSAID and selective cyclooxygenase (COX-1) and (COX-2) inhibitors in healing of chronic gastric ulcers. *Microsc Res Tech* 53: 343-353.
- BRUNTON, L.L. Agents for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers. In: Goodman and Gilman's- The Pharmacological basis of Therapeutics, Ed. By. J.G. Hardman, L.E. Limbird, P.B. Molinoff, R.W. Ruddon and A.G. Gilman, 9th edition. Int. Edition, McGraw-Hill, New York, p 663-691, 1996.

- CHINZON, D. & ZATERKA, S. (1996) Existe lugar para o estudo dos mecanismos de defesa da mucosa gástrica na era dos inibidores da bomba de prótons e *Helicobacter pylori*. *Arquivo de Gastroenterologia* 33(4): 185-186.
- DE SOUZA, M.M.; MADEIRA, A.; BERTI, C.; KROGH, R.; YUNES, R.A. & CECHINEL, V.(2000) Antinociceptive properties of the methanolic extract obtained from *Ipomoea pes-caprae* (L.) R. Br . *J. Ethnopharmacol.*, 69 (1): 85-90.
- DIAS, P.C.; FLOGIO, M.A.; POSSENTI, A.; CARVALHO, J.E. (2000) Antiulcerogenic activity of crude hidroalcoholic extract of *Rosamarinus officinalis* L. *J Ethnopharmacol* 69(1):57-62.
- DOCKRAY, G.I. (1999) Gastrin and gastric epithelial physiology. *J Physiol*: 518: 315-324.
- ELLIOT, S.N.; WALLACE, J.L.; MCKNIGHT W.; GALL, D.G.; HARDIN, J.A.; OLSON, M.; BURET, A. (2000) Bacterial colonization and healing of gastric ulcers: the effects of epidermal growth factor. *Gastrointes. Liver. Physiol.* 278: G 105.
- ERSTAD, B.L. (2003) The cost of enhanced acid suppression. *Pharmacotherapy* 23(10 Pt 2):94S-100S.
- EVANS, F. (1996) The gastro-intestinal tract. In: Selection, Preparation and pharmacological Evaluation of Plant Material. Ed.E.M. Williamson, D.T. Okpako and F.J. Evans. John Wiley and Sons, LTD., ChicHEster, p25-45
- FOSBERG, F.R. & SACHET, M.H. (1977) Convolvulaceae. In: Flora of Micronesia 3. Smithsonian Contribution Botanic 36, Caracas, Venezuela.

- GONZALES, E.; IGLESIAS, I.; CARRETERO, E.; VILLAR, A. (2000) Gastric cytoprotection of bolivian medicinal plants. *J.Ethnopharmacol* 70: 329-333.
- GRACIOSO, J.S.; HIRUMA-LIMA, C.A.; SOUZA BRITO, A.R.M (2000) Antiulcerogenic effect of a hydroalcoholic extract and its organic fractions of *Neurolaena lobata* (L.) R.Br. *Phytomedicine* 7: 283-289.
- GRACIOSO, J.S.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C.A.; SOUZA BRITO, A.R. (2002) Effects of tea from *Turnera ulmifolia* L. on mouse gastric mucosa support the Turneraceae as a new source of antiulcerogenic drugs. *Biol Pharm Bull.* 25(4): 487-91.
- HAMAISHI K.; KOJIMA R.; ITO M. (2006) Anti-ulcer Effect of Tea Catechin in Rats. *Biol. Pharm. Bull.* 29 (11): 2206-2213.
- HAMBURGER, M. & HOSTETTMAN, K. (1991) Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry* 30: 3864-74.
- HANSEN, J.T. & KOEPPEN, B.M. Atlas de Fisiologia Humana de Netter. Ed Artmed, 2003.
- HERNANDEZ-CARLOS, B.; BYE, R. & PEREDA-MIRANDA, R. (1999) Orizabins V-VIII, tetrassacharide glycolipids from the Mexican scammony root (*Ipomoea orizabensis*). *J. Nat. Prod.*, 62(8): 1096-1100.
- HIRSCHOWITZ, B. I.; KEELING, D.; LEWIN, M.; OKABE, S.; PARSONS, M.; SEWING, K.; WALLMARK, B. and SACHS, G. (1995) Pharmacological aspects of acid secretion. *Dig Dis Science* 40: 3s-23s.
- HIRUMA-LIMA, C.A.; GRACIOSO, J.S.; BIGHETTI, E.J.B.; GRASSI-KASSISSE, D.M.; NUNES, D.S.; SOUZA BRITO, A.R.M. (2002) Effect of essential oil obtained from *Croton cajucara* Benth on gastric ulcer healing and protective factors of the gastric mucosa. *Phytomedicine* 9: 523-529.

- ITO, M.; SEGAMI, T.; INAGUMA, K.; SUZUKI, Y (1994) Cimetidine and omeprazole accelerate gastric ulcer healing by an increase in gastrin secretion. *Eur. J. Pharmacol.* 263: 253-259.
- ITO, M.; SUZUKI, Y.; ISHIHARA, M.; SUZUKI, Y (1998) Anti-ulcer effects of antioxidants: effect of probucol. *Eur J Pharmacol*, 354:189-196.
- JENETT-SIEMS, K.; SCHIMMING, T.; KALOGA, M.; EICH, E.; SIEMS, K.; GUPITA, M.P.; WITTE, L. & HARTMANN, T. (1998) Pyrrolizidine alkaloids of *Ipomoea hederifolia* and related species. *Phytochemistry*, 47(8): 1551-1560.
- JOLY, A.B. (1970) Introdução à taxonomia vegetal. Editora nacional, 634p.
- JONES, N.F. & EMERSON, E.T. (1999) Interposition vein graft configurations for microsurgical revascularization of the ischemic hand. *Tech Hand Up Extrem Surg.* 3(2):121-30.
- JUNQUEIRA, L.C. & CARNEIRO, J. (2005) Histologia Básica. Ed Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 10ª edição, 350p.
- KITAZAWA, T.; KINOSHITA, S.; FUJITA, K.; ARAKI, K.; WATANABE, H.; OHASHI, Y. & MANABE, R. (1990) The mechanism of accelerated corneal epithelial healing by human epidermal growth factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 31(9):1773-8.
- KONTUREK, P.C.;BRZOZOWSKY, T.; KONTUREK, S.J.; TAUT, A.;SLIWOWSKI, Z.; STACHURA, J.; HAHN, E.G. (1998) Activation of genes for growth factors and cyclooxygenases in rat gastric mucosa during recovery from stress damage. *Eur J.Pharmacol* 342: 55-65.
- KOUNTOURAS, J.; CHATZOPOULOS, D.; ZAVOS, C. (2001) Reative oxygen metabolites and upper gastrointestinal diseases. *Hepatogastroenterology* 48: 743-751.

- KUSHIMA, H; HIRUMA-LIMA, C.A.; SANTOS, M.A.; VIANA, E; COELHO-FERREIRA, M; SOUZA BRITO, A.R. (2005) Gastroprotective activity of *Pradosia huberi* on experimentally induced gastric lesions in rodents: Role endogenous sulphhydryls and nitric oxide. *J. Ethnopharmacol.* 101: 61-67.
- KUTCHAI, H.C. Gastrointestinal System. In: **Principles of Physiology**. Ed. By R. M. Berne and M.N. Levy, Mosby-Year Book Inc., St. Louis, USA, pp.437-498.
- LA CASA, C.; VILLEGAS, I.; DE LA LASTRA, C.; MOTILVA, V.; MARTIN CALERO, M.J. (2000) Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J. Ethnopharmacol.* 71:45-53.
- LAVALVA, V. & SABATO, S. (1983) Nomenclature and Typification of *I. imperati* (Convolvulaceae) *Taxon*, 32: 110-138.
- LEWIS, D.A. & HANSON, P.J. (1991) Anti-Ulcer Drugs of Plant Origin in....."Progress in Medicinal Chemistry Vol. 28. Ed. G.P. Ellis and G.B. West. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p.201-231.
- LIH-BRODY, L.; POWELL, S.R.; COLLIER, K.P.; REDDY, G.M.; CERCHIA, R.; KAHN, E and MULLIN, G.E. (1996) Increased oxidative stress and decreased antioxidant defenses in mucosa of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Science* 41:2078-2086.
- LIMA, O.O.A. & BRAZILEIRO FILHO, R. (1997) Dibenzylobutyrolactones lignans and coumarins from *Ipomoea cairica*. *J. Braz. Chem. Society*, 8: 235-238.
- MACLEOD, J.K.; WARD, A. & OELRICHS, P.B. (1997) Structural investigation of resin glycosides from *Ipomoea lonchophylla*. *J. Nat. Prod.*, 60(5): 467-471.

- MIZUI & DOTEUCHI (1993) Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 33: 939-945.
- MORIMOTO, Y., SHIMOHARA, K., OSHIMA, S. & SUKAMOTO, T. (1991) Effects of the new anti-hulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine. *Jpn J Pharmacol* 57: 495-505.
- MOTILVA, V.; MARTIN, M.J.; LUQUE, I; DE LA LASTRA, C. (1996) Role of polymorphonuclear leukocytes and oxygen-derived free radicals on chronic gastric lesions induced by acetic acid in rat. *Gen. Pharmacol.* 27(3): 545-550.
- NODA, N; TAKAHASHI, N.; KAWASAKI, T.; MIYAHARA, K. and YANG, C.R. (1994) Stoloniferins I-VII, Resin glycosides from *Ipomoea stolonifera*. *Phytochemistry* 36: 365-371.
- OATES, P.J. & HAKKINEN, J.P. (1988) Studies on the mechanisms of Ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterol.* 94:10-21.
- OLBE, L.; CARLSSON, F.; LINDBERG, P. (2003) A proton-pump inhibitor expedition: the case histories of omeprazole and esomeprazole. *Nat Rev Drug Discov.* 2(2):132-9.
- OLFERT, E.D.; Cross, B.M.; McWilliam, A.A.(1993) Guide to the Care and Use of Experimental Animals. Canadian Council on Animal Care Co., Ontario, pp. 1-213.
- OLIVEIRA, M.G.M., MONTEIRO, M. G., MACAÚBAS, C., BARBOSA,V. P., CARLINI, E. A. (1991) Pharmacologic and toxicologic effects of two *Maytenus* species in laboratory animals. *J. Ethnopharmacol.* 34:29-41.
- PACHECO, M.T.B.; BIGHETTI, E.; ANTONIO, M.; DE CARVALHO, J.E.; ROSANULI, C.F.; SGARBIERI, V.C. (2006) Efeito de um hidrolisado de proteínas

no soro de leite e de seus peptídios na proteção de lesões ulcerativas da mucosa gástrica de ratos. *Revista de Nutrição*, 19(19): 47-55.

PANDOLFINO, J.E.; HOWDEN, C.W.; KAHRILAS, J.P. (2000) Motility-modifying agents and management of disorders of gastrointestinal motility. *Gastroenterol.* 118: s32-s47

PAULA, A.C.B.; HAYASHI, L.S.S. AND FREITAS, J.C. (2003) Anti-inflammatory and antispasmodic activity of *Ipomoea imperati* (Vahl) Griseb (Convolvulaceae) *Braz. J. Med. Biol. Res.* 36(1):105-112.

PAULA, A.C.B.; GRACIOSO, J.S.; TOMA, W.; BEZERRA, R; SAAD, M.A.J.; DE LUCCA, I.M.S.; CARNEIRO, E.M.; SOUZA BRITO, A.R.M. (2005) Is gastric ulceration different in normal and malnourished rats? *Br. J. Nutr.* 93: 47-52.

PAULA, A.C.B.; TOMA, W.; GRACIOSO, J.S.; DE LUCCA, I.S.; HIRUMA-LIMA, C.A.; CARNEIRO, E.M.; SOUZA BRITO, A.R.M. (2006) The gastroprotective effect of the essential oil of *Croton cajucara* is different in normal and malnourished rats. *Br. J. Nutr.* 96(2) 310-5.

PAULA, A.C.B.; GRACIOSO, J.S.; TOMA, W., HIRUMA-LIMA, C.A.; CARNEIRO, E.M.; SOUZA BRITO, A.R.M. (2008a) The antiulcer effect of *Croton cajucara* Benth in normoproteic and malnourished rats. *Phytomedicine*, in press.

PAULA-ZURRON, A.C.B.; PETRAGLIA, N.M.; AUR, C.R; PEREIRA-MOURA, S. H.; IMAMURA, P.M.; FREITAS, J.C. and CATANZARO-GUIMARÃES, S.A. (2008b) Antinociceptive properties from *Ipomoea imperati* Vahl Griseb (CONVOLVULACEAE) Fitoterapia. submitted.

PRINZ, C.; ZANNER, R.; GRATZL, M. (2003) Physiology of Gastric Enterochromaffin-Like Cells. *Annu.Ver.Physiol.* 65:371-382.

- PONGPRAYOON, U.; BAECKSTROM, P.; JACOBSSON, U.; LINDSTROM, M. & BOHLIN, L.(1991 a) Compounds inhibiting prostaglandin synthesis isolated from *Ipomoea pes-caprae*. *Planta Medica.*, 57(6): 515-518.
- PONGPRAYOON, U.; BOHLIN, L.; SOONTHORNSARATUNE, P. & WASUWAT, S. (1991 b) Antiinflammatory activity of *Ipomoea pes-caprae* (L) R-Br. *Phytother. Res.*, 5(2): 63-66.
- PONGPRAYOON, U.; BAECKSTROM, P.; JACOBSSON, U.; LINDSTROM, M. & BOHLIN, L. (1992 a) Antispasmodic activity of β -damascenone and ϵ -phytol isolated from *Ipomoea pes-caprae*. *Planta Medica.*, 58(1): 19-21.
- PONGPRAYOON, U.; BOHLIN, L.; BAECKSTROM, P.; JACOBSSON, U. & LINDSTROM, M.(1992 b) Inhibition of ethyl phenylpropiolate induced rat ear edema by compounds isolated from *Ipomoea pes-caprae* (L) R-Br. *Phytother. Res.*, 6(2): 104-107.
- RATES, S.M.K. (2001) Plants as source of drugs. *Toxicon* 39: 600-613.
- REPELLO, M.G. & LESUY, S.F. (2002) Atioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 35: 523-534.
- ROBERT, A. (1979) Cytoprotection by prostaglandins. *Gastroenterol* 77: 761-767.
- SACHS, G. (2003) Physiology of the parietal cell and therapeutic implications. *Pharmacotherapy* 23(10 Pt 2):68S-73S.
- SING, S.& MAJUMDAR, D.K.(1999) Evaluation of the gastic antiulcer activity of fixed oil of *Ocimum sanctum* (Holy Brasil). *J. Ethnopharmacol.* 65: 13-19.
- SINGH, S. & STACEY, B.E. (1973) A new β -D-quinovoside from commercial *Ipomoea purga*, *Phytochemistry*, 12: 1701-1705.
- SOUZA BRITO, A.R.M. (1996) How to study the pharmacology of medicinal plants in underdeveloped countries. *J. Ethnopharmacol.* 54: 131-138.

- SOUZA BRITO, A.R.M. & NUNES, D.S. (1997) Ethnopharmacology and sustainable development of new plant-derived drugs. *Ciência e Cultura*, 49 (5-6), 402-408.
- SZABO S. & VINCZE, A. (2000) Growth factors in ulcer healing: lessons from recent studies. *J. Physiol.* 94: 77-81.
- TABATA, M.; TOMOMASA, T.; ITOH, K.; MORIKAWA, A. (1996) Effect of 10% ethanol and sofalcone on prostaglandin E2 content, mucus gel thickness, and experimental ulcers in the stomach of developing rats. *Digestion* 57: 47-53.
- TAKAGI, K.; OKABE, S.; SAZIKI, R. (1969) A new method for the production of chronic gastric ulcer in rats and the effect of several drugs on its healing. *Jpn. J. Pharmacol.* 19: 418-426
- TARNAWSKI, A.; SZABO, I.L.; HUSAIN, S.S.; SOREGHAN, B. (2001) Regeneration of gastric mucosa during ulcer healing is triggered by growth factors and signal transduction pathways. *J. Physiol.* 95: 337-344.
- TARNAWSKI, A.; TANQUE, K.; SANTOS, M.A.; SARFEH, I.J. (1995) Cellular and molecular mechanisms of gastric ulcer healing. Is the quality of mucosal scar affected by treatment? *Scand. J. Gastroenterol.* 30:9-14.
- TOMA, W.; GRACIOSO, J.S.; DE ANDRADE, F.D.; HIRUMA-LIMA, C.A.; VILEGAS, W.; SOUZA BRITO, ARM (2002) Antiulcerogenic activity of four extracts obtained from the bark wood of *Quassia amara* L (Simaroubaceae) *Biol. Pharma. Bull.* 25(9): 1151-1155.
- TOMA, W.; TRIGO, J.R.; BENSUASKI DE PAULA, A.C; MONTEIRO SOUZA BRITO, A.R. (2004) Modulation of gastrin and epidermal growth factor by pyrrolizidine alkaloids obtained from *Senecio brasiliensis* in acute and chronic induced gastric ulcers. *Can. J. of Physiol. Pharmacol.* 82(5): 319-325.

- TSUKIMI, Y.; NAKAI, H.; ITO, H. S.; AMAGASE, K. & OKABE, S.(2001)
Involvement of heat shock proteins in the healing of acetic acid-induced gastric ulcers in rats. *J. Physiol. Pharmacol.* 52(3):391-406.
- VILLEGAS, I.; DE LA LASTRA, C.; LA CASA, C.; MOTILVA, V., MARTIN, M.J.
(2001) Effects of food intake and oxidative stress on intestinal lesions caused by meloxicam and piroxicam in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 414:79-86.
- WALLACE, J.L.& GRANGER, D.N. (1996) The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense. *FASEB J.* 10, 823-57.
- WALLACE, J.L.; McKNIGHT, W.; REUTER, B.K. and VERGNOLE, N. (2000)
NSAID-induced gastric damage in rats: Requirement for inhibition of both cyclooxygenase 1 and 2. *Gastroenterology* 119: 706-714.
- WOLFE, M.M. & SACHS, G. (2000) Acid supression: optmizing therapy for gastroduodenal ulcer healing, gastroesophageal reflux disease and stress-related erosive syndrome. *Gastroenterology*, 118: s9-s31.
- YAO, X.; FORTE, J.G. (2003) Cell Biology of acid secretion by the parietal cell. *Annu. Rev. Physiol.* 65: 103-131.
- ZAKI, M., KODURU, S.; MC CUEN, R.; VUYYURU, L.; SCHUBERT, M.L. (2002) Amylin, released from the gastric fundus, stimulates somatostatin and thus inhibits histamine and acid secretion in mice. *Gastroenterology* 123(1):247-255.
- ZAVROS, Y.; RIEDER, G.; FERGUSON, A.; SAMUELSON, L.C.; MERCHANT, J.L.
(2002) Genetic or chemical hypochlorhydria is associated with inflammation that modulates parietal and G-cell populations in mice. *Gastroenterology* 122:119-133.

Nome do arquivo: versao final da tese para a entrega julho 2008
Pasta: C:\Documents and Settings\Ana Claudia\Os meus
documentos\USC\PG USC\regina
Modelo: C:\Documents and Settings\Ana Claudia\Application
Data\Microsoft\Modelos\Normal.dot
Título: UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO
Assunto:
Autor: Ana Claudia
Palavras-chave:
Comentários:
Data de criação: 15-07-2008 15:54:00
Número de alterações:2
Última gravação: 15-07-2008 15:54:00
Salvo por: Ana Claudia
Tempo total de edição: 3 Minutos
Última impressão: 15-07-2008 15:54:00
Como a última impressão
Número de páginas: 66
Número de palavras: 13.425 (aprox.)
Número de caracteres: 72.499 (aprox.)

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)