

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 02/04/2021.

Flávia Bonamin



***Elucidação dos mecanismos de ação do
monoterpeno β -mirceno sobre as úlceras
pépticas***

ORIENTADORA: Profa. Adj. Clélia Akiko Hiruma-Lima

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. Lúcia Regina Machado da Rocha

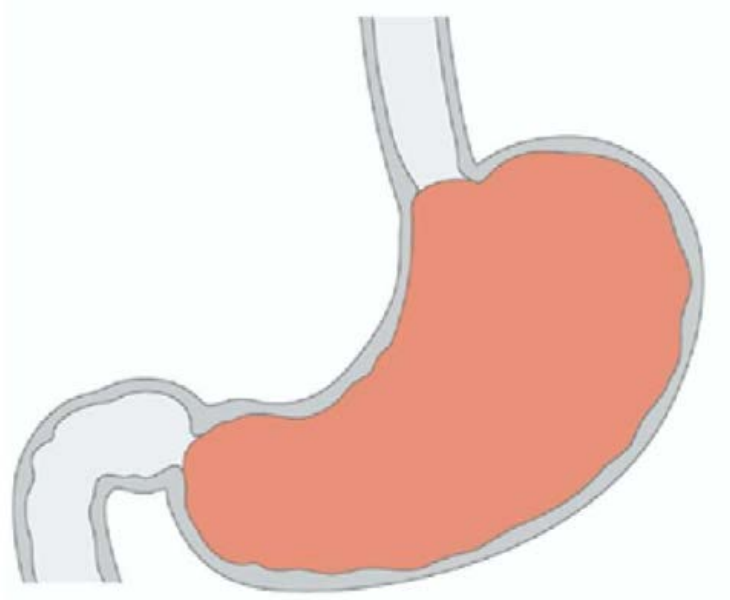
*Tese apresentada ao Departamento de Farmacologia
do Instituto de Biociências de Botucatu como
requisito para a obtenção do Título de Doutor em
Ciências Biológicas (AC: Farmacologia).*

Botucatu/SP
2014

Flávia Bonamin



*Elucidação dos mecanismos de ação do
monoterpeno β -mirceno sobre as úlceras
pépticas*



Botucatu/SP
2014

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE - CRB 8/5651

Bonamin, Flávia.

Elucidação dos mecanismos de ação do monoterpene B-mirceno sobre as
úlceras pépticas / Flávia Bonamin. - Botucatu, 2014

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Clélia Akiko Hiruma-lima

Coorientador: Lúcia Regina Machado da Rocha

Capes: 21006008

1. Terpenos. 2. Úlcera péptica. 3. Plantas medicinais - Uso terapêutico. 4.
Estômago - Secreção.

Palavras-chave: Antissecretório; B-mirceno; Cicatrizante; Monoterpene; Úlcera
péptica.

Flávia Bonamin

Elucidação dos mecanismos de ação do monoterpeno β -mirceno sobre as úlceras pépticas

Tese apresentada ao Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências de Botucatu como requisito para a obtenção do Título de Doutor em Ciências Biológicas (AC: Farmacologia).

Comissão Examinadora:

1º Titular/Presidente: Prof^a. Adj. Clélia Akiko Hiruma-Lima (UNESP/Botucatu)

2º Titular: Prof. Dr. Joel Mesa Hormaza (UNESP/Botucatu)

3º Titular: Prof^a. Dr^a. Cláudia Helena Pellizzon (UNESP/Botucatu)

4º Titular: Prof^a. Dr^a. Elfriede Mariane Bacci (USP)

5º Titular: Prof^a. Dr^a. Alessandra Gambero (USF)

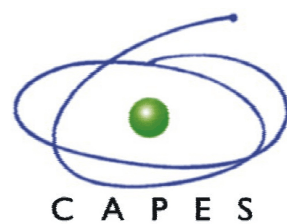
1º Suplente: Prof^a. Dr^a. Mirela Barros Dias (UNESP/Botucatu)

2º Suplente: Prof. Dr. Marcos José Salvador (UNICAMP)

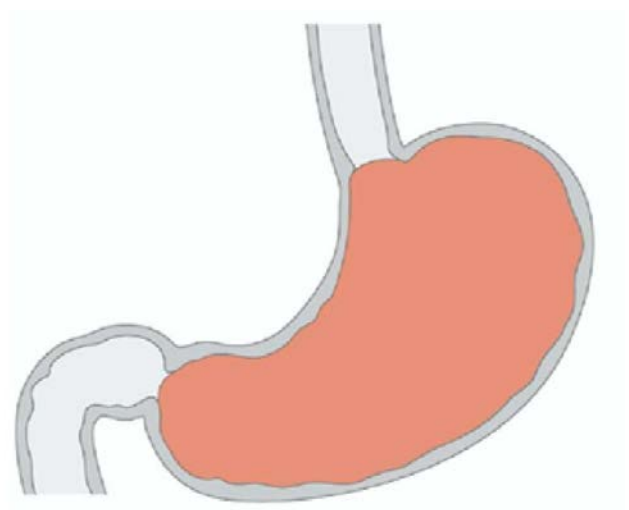
3º Suplente: Prof. Dr. Anderson Ferreira (UFGO)

Botucatu/SP
2014

Auxílio Financeiro: **CAPES**
(Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior)



“A coisa mais bela que o homem pode experimentar é o mistério. É esta a emoção fundamental que está na raiz de toda ciência e arte. O homem que desconhece esse encanto está, por assim dizer, morto e tem os olhos extintos...”
Albert Einstein



Dedicatória

“A Família não nasce pronta; constrói-se aos poucos,
e é o melhor laboratório do amor. Em casa,
entre pais e filhos, pode-se aprender a amar,
pode-se experimentar com profundidade
a grande aventura de amar sem medo.
A família pode ser o ambiente mais
apropriado para uma maravilhosa
experiência de amor”.

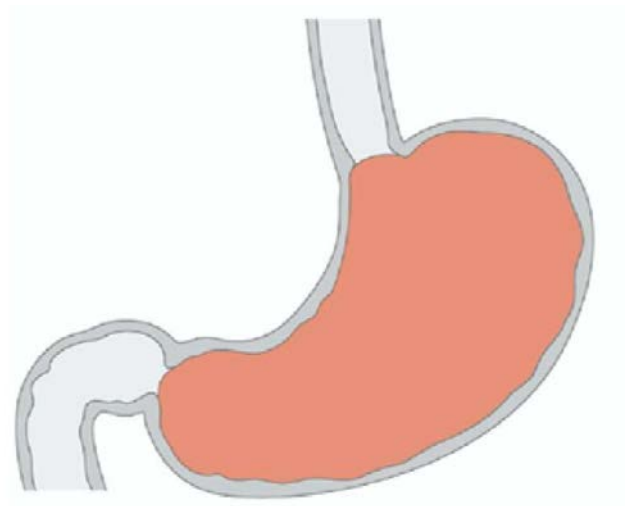
Mazenildo F. Pereira

*Aos meus pais José Carlos e Juliana,
Queridos guerreiros, exemplo de vida, dedicação e perseverança!*

“...Te amo con toda mi fe, sin medida...”

Maná

*Ao Celso SaK'S,
Meu AMOR!*



Agradecimientos

“E eu poderia suportar, embora não sem dor, que
tivessem morrido todos os meus amores, mas
enlouqueceria se morressem todos os meus amigos!
Até mesmo aqueles que não percebem o quanto
são meus amigos e o quanto minha vida
depende de suas existências...
A alguns deles não procuro, basta-me saber que eles existem.
Esta mera condição me encoraja a seguir
em frente pela vida.”

Amigos – Vinicius de Moraes

*Este trabalho não teria sido elaborado sem o auxílio de diversas pessoas às
quais quero expressar meus sinceros agradecimentos. Começo então agradecendo,*

*Às minhas **Orientadora e Co-orientadora** Profa. Adj. Clélia Akiko Hiruma-Lima
e Profa. Dra. Lúcia R. M. da Rocha por todos os ensinamentos e por me ajudarem a
realizar mais este sonho!!!Ahh...e também ao cãozinho **Magoo**...rsrs.*

***Aos meus companheiros de laboratório** sempre presentes nos momentos
importantes e ao técnico e amigo Hélio Kushima por toda a ajuda durante a
realização do meu projeto de doutorado.*

***Aos Professores** Madileine Américo (**UFMT**) e José Ricardo de Arruda Miranda
(**UNESP**) por toda a amizade e parceria no desenvolvimento da técnica de contrações
gástricas (BAC).*

***À Professora** Flávia Delella (**UNESP**) pela amizade e pela parceria no
desenvolvimento da técnica de Zimografia.*

***Ao pessoal da UNICAMP**, em especial ao Felipe, pela parceria no
desenvolvimento da técnica de Western Blot.*

***Ao pessoal da UFPR**, em especial a Cris Baggio e Luisa Mota pela parceria no
desenvolvimento da técnica de Bomba de Prótons e histologia.*

Aos funcionários do Departamento de Fisiologia pelos auxílios gerais durante o projeto.

À **Janete** pela AMIZADE e pela ALEGRIA contagiante.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação por todos os auxílios e amizade, em especial ao Heri e ao Davi.

À minhas companheiras de casa por mais um ano de alegrias e companheirismo – momentos que ficarão guardados para sempre na minha memória. Obrigada Camila, Mel, Taísa e Aline!!!

À **todos os amigos** que fiz em Botucatu...São mais de 12 anos de grandes momentos...de um sonho realizado. Todos vocês que direta ou indiretamente ajudaram-me a vencer esta etapa da minha vida.

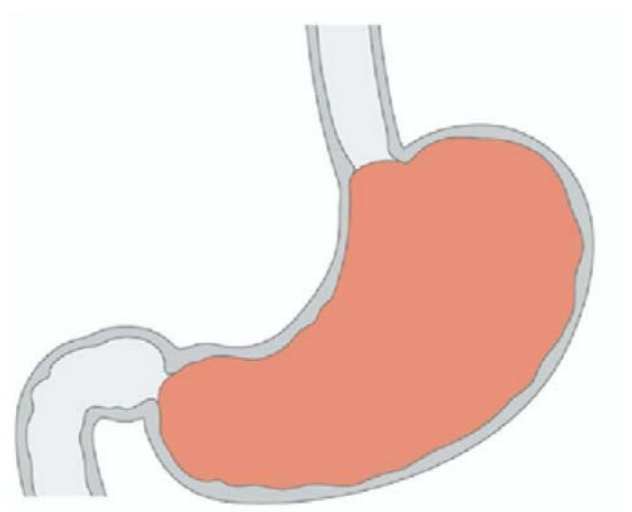
À **CAPES**, pelo auxílio financeiro concedido para o desenvolvimento do meu projeto de doutorado.

Por último agradeço a **Deus**, por todas as coisas belas e cheias de vida que Ele gerou e por todas as oportunidades maravilhosas que Ele me proporciona a cada dia.

Muito Obrigada!!!

*“Lute com determinação, abrace a vida com
paixão, perca com classe e vença com ousadia,
porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida
é muito para ser insignificante”.*

Charles Chaplin



Prólogo

Prólogo

O projeto de doutorado possibilitou a formação específica em Farmacologia, com os estudos direcionados para a caracterização de atividade farmacológica de produtos naturais, sendo o objeto alvo dos estudos as úlceras pépticas. Durante a execução do projeto de doutorado, várias outras atividades foram realizadas, no intuito de enriquecer a formação profissional do aluno.

Trabalhos completos publicados em periódicos científicos

1. BONAMIN, Flávia ; MORAES, T. M.; Kushima, H.; SILVA, M. A.; ROZZA, A. L.; Pellizzon, C.H.; Bauab, T.; ROCHA, L. R. M.; Wagner Vilegas; HIRUMA-LIMA, C. A. Can a *Strychnos* species be used as antiulcer agent? Ulcer healing action from alkaloid fraction of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Loganiaceae). Journal of Ethnopharmacology, 2011.
2. Zeila P. Lima; BONAMIN, Flávia; Tamara R. Calvo; Wagner Vilegas; Lourdes C. Santos; ROZZA, A. L.; Pellizzon, C.H.; ROCHA, L. R. M.; HIRUMA-LIMA, C. A. Effects of the Ethyl Acetate Fraction of *Alchornea triplinervia* on Healing Gastric Ulcer in Rats, 2011.
3. Patrícia Rodrigues Orsi; Flávia BONAMIN; Juliana Aparecida Severi; Santos, R.C.S.; Wagner Vilegas; HIRUMA-LIMA, C. A.; Luiz Cláudio Di Stasi. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne: A Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti-ulcer and antidiarrheal effects in experimental rodent models. Journal of Ethnopharmacology, 2012.
4. FALCÃO, Heloína De Sousa; MAIA, Gabriela Lemos De Azevedo; BONAMIN, Flávia; KUSHIMA, Hélio; MORAES, Thiago Mello; HIRUMA LIMA, Clélia Akiko; TAKAYAMA, Christiane; FERREIRA, Anderson Luiz; SOUZA BRITO, Alba Regina Monteiro; AGRA, Maria De Fátima; BARBOSA FILHO, José Maria; BATISTA, Leônia Maria. Gastroprotective mechanisms of the chloroform and ethyl acetate phases of *Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M. King H. Robinson (Asteraceae). Natural Medicines, 2012.
5. Katharine Íngride Moraes de Carvalho; Flavia BONAMIN; Raquel C. Santos; Larissa Lucena Perico; Fernando Beserra; Damião Sousa; José Barbosa Filho; Lúcia Regina Machado da Rocha;

Clélia Akiko Hiruma-Lima. Geraniol – a flavoring agent with multifunctional effects in protecting the gastric and duodenal mucosa. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2013.

6. Flavia BONAMIN; Thiago Moraes; Raquel C. dos Santos, Hélio Kushima, Felipe Meira de Faria; Marcos A. Silva; Ivan V. Junior; Leonardo Nogueira; Tais Bauab; Alba Brito; Lucia Rocha; Clélia Akiko Hiruma-Lima. The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: the role of β -myrcene in preventing peptic ulcer disease. *Chemico-Biological Interactions*, 2014 (Artigo aceito para publicação em janeiro de 2014).

7. Flávia Bonamin, Helio Kushima, Fabiana Volpe Zanutto, Lourdes Campaner dos Santos and Clélia Akiko Kiruma-Lima. *Syngonanthus nitens* and *Paepalanthus giganteus*: Brazilian plants with antiulcerogenic activity and antioxidant. (Em construção).

Trabalhos apresentados na forma de painel e oral em evento científico internacional

1. BONAMIN, Flávia; COSTA, C. A. R. A.; ROCHA, L. R. M.; HIRUMA-LIMA, C. A. Avaliação do monoterpene β -myrcene nas úlceras gástrica e duodenal e seus mecanismos de ação. In: 11th ISE Congress and I Encuentro Hispano-Portugués de Etnobiología, 2010, Albacete/ESPANHA. *Revista de Fitoterapia*. Barcelona: Ediciones Rol, v. 10. p. 68-68, 2010.

2. CARVALHO, K. I. M.; Laísa Pinheiro dos Santos; BONAMIN, Flávia; ROCHA, L. R. M.; Souza, D.P.; HIRUMA-LIMA, C. A. Gastroprotective action of the monoterpene Geraniol in model of ethanol-induced gastric ulcer: involvement of no-synthase and sulphydryl group. In: VIII International Congress of Pharmaceutical Sciences (CIFARP), 2011, Ribeirão Preto. VIII International Congress of Pharmaceutical Sciences (CIFARP), 2011.

5. Laísa Pinheiro dos Santos; ANGELIS, C. D.; CARVALHO, K. I. M.; BONAMIN, Flávia; ROCHA, L. R. M.; Toma, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. Gastroprotective action of fractions obtained from *Terminalia catappa* L. (combretaceae) leaves ethanolic extract. In: VIII International Congress of Pharmaceutical Sciences (CIFARP), 2011, Ribeirão Preto. VIII International Congress of Pharmaceutical Sciences (CIFARP), 2011.

-
1. BONAMIN, Flávia ; Kushima, H.; Zanutto, F. V.; Lourdes C. Santos; HIRUMA-LIMA, C. A. *Syngonanthus nitens* AND *Paepalanthus giganteus*: 'Sempre-vivas' with activity in gastric and duodenal ulcer. In: Simpósio Internacional de Plantas Medicinais e Nutracêuticos, 2012, Aracaju/SE. Anais do Simpósio Internacional de Plantas Medicinais e Nutracêuticos, 2012.
 2. BONAMIN, Flávia ; Kushima, H.; ROCHA, L. R. M.; HIRUMA-LIMA, C. A. No acid, no ulcer: The antiseecretory effect of B-myrcene induced by decrease level of gastrin and promote the oppening of K⁺atp channels. In: Simpósio Internacional de Plantas Medicinais e Nutracêuticos, 2012, Aracaju/SE. Anais do Simpósio Internacional de Plantas Medicinais e Nutracêuticos, 2012 (ORAL).

Trabalhos apresentados na forma de painel em eventos científicos nacionais

1. BONAMIN, Flávia; ROCHA, L. R. M.; HIRUMA-LIMA, C. A. Efeito do β -Mirceno sobre os níveis de glutathiona e de mieloperoxidase na mucosa gástrica de ratos lesados por etanol absoluto e indometacina. In: XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2010, João Pessoa/Paraíba. Anais do XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2010.
2. Falcão, H. S.; BONAMIN, Flávia; Kushima, H.; Takayama, C.; Ferreira, A. L.; Agra, M. F.; Barbosa Filho, J. M.; Souza Brito, A. R. M.; HIRUMA-LIMA, C. A.; Batista, L. M. Efeito da fase acetática de *Prexelis Clematidea* sobre a infiltração de poilimorfonucleares e peroxidação lipídica após indução de úlcera gástrica por isquemia e reperfusão. In: XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2010, João Pessoa/Paraíba. Pôster, 2010
3. BONAMIN, Flávia; HIRUMA-LIMA, C. A. Elucidação dos mecanismos de ação do β -mirceno sobre as úlceras pépticas. In: I Simpósio de farmacologia, Botucatu, 2011.
4. BONAMIN, Flávia; HIRUMA-LIMA, C. A.. Elucidação dos mecanismos de ação do β -mirceno sobre as úlceras pépticas. In: I Simpósio de farmacologia, Botucatu, 2012.
5. BONAMIN, Flávia; HIRUMA-LIMA, C. A.. Elucidação dos mecanismos de ação do β -mirceno sobre as úlceras pépticas. In: I Simpósio de farmacologia, Botucatu, 2013.

Cursos

1. Curso de Animales de laboratório: (Carga horária: 80h). Universidad de Buenos Aires, **2011**.
2. III Curso de Biologia Molecular Genotyping - Teórico e Prático - Marcadores Moleculares - Marcadores Moleculares, **2011**.

Cursos e palestras ministradas

1. BONAMIN, Flávia. **Curso de Atualização em Plantas Medicinais**. Encontro Nacional dos Estudantes de Biomedicina (ENBM), 2011.
2. BONAMIN, Flávia. Palestra "**Plantas Medicinais - Fitoterápicos**". Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), 2011.

Participação em Bancas de Comissões Julgadoras

1. BONAMIN, Flávia. Comissão Julgadora de Trabalhos do XXIII Congresso de Iniciação Científica - CIC - UNESP. 2011. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
2. BONAMIN, Flávia. Comissão Julgadora de Trabalhos do XXIV Congresso de Iniciação Científica da UNESP. 2012. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Organização de eventos científicos

1. BONAMIN, Flávia. III SIMFAR-Simpósio da Farmacologia. **2013**.
2. BONAMIN, Flávia. I Curso de Inverno em Farmacologia e Biotecnologia. **2013**.
3. BONAMIN, Flávia. II SIMFAR-Simpósio da Farmacologia. **2012**.
4. BONAMIN, Flávia. I SIMFAR-Simpósio de Farmacologia. **2011**.
5. BONAMIN, Flávia. Expositora das atividades do projeto de Extensão Universitária "Difundindo e popularizando a Ciência na UNESP: Interação entre Pós-Graduação e Ensino Básico", durante o evento "VENHA CONHECER O IB". **2011**.
6. BONAMIN, Flávia. IX Workshop da Pos-Graduação & X Workshop de Genética, **2010**.

Participação em eventos científicos

1. Simpósio Internacional de Plantas Medicinais e Nutracêuticos, **2012**.
2. Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, **2012**.
3. XIV Jornada de Toxicologia, **2012**.
4. Curso de Reprodução de A a Z, **2012**.
5. Ciência ao cair da tarde: Palestra com Miguel Nicolelis, **2012**.
6. I Simpósio de Farmacologia, **2011**.
7. 7th Biota Symposium, in the 7th Biota Program Assessment Meeting in the 4th Bioprospecta Program Assessment Meeting, **2011**.
8. III Curso de Biologia Molecular Genotyping - Teórico e Prático - Marcadores Moleculares - Marcadores Moleculares, **2011**.
9. Curso Reprodução de A a Z. Curso Reprodução de A a Z, **2011**.
10. Curso Pipetas GILSON: como aumentar a vida útil e obter melhores resultados, **2011**.
11. Curso de Animales de Laboratorio - Universidad de Buenos Aires, **2011**.
12. 11th ISE Congress and I Encuentro Hispano-Portugués de Etnobiología, **2010**.
13. XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, **2010**.
14. IX Workshop da Pós-Graduação & X Workshop de Genética. **2010**.

Menção Honrosa

1. Menção Honrosa como Pôster no III SIMFAR - Simpósio da Farmacologia, Universidade Estadual Paulista – UNESP, **2013**.
2. Menção Honrosa como Pôster no XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, XXI Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, **2010**.

Docência

Docente da disciplina de Farmacologia dos cursos de Enfermagem e Biologia da Faculdade Eduvale Avaré (Avaré/SP) (admitida em **2011**). Vínculo autorizado e devidamente aprovado pela CAPES e pelo Conselho do Programa de Pós-graduação em Farmacologia - IBB/UNESP.

Disciplinas Cursadas

- 1) Métodos Biofísicos de Avaliação da Motilidade Gastrointestinal (**conceito A**)
- 2) Tópicos de Atualização em Ciências (**conceito A**)

-
- 3) Tópicos Especiais em Farmacologia: Farmacologia de plantas medicinais com atividade antinociceptiva (analgesica) e/ou antiinflamatória **(conceito A)**
 - 4) Interação entre a Pós-Graduação e o Ensino Básico de Ciências e Biologia **(conceito A)**
 - 5) Farmacologia Avançada **(conceito A)**
 - 6) Classificação de Receptores Farmacológicos **(conceito A)**
 - 7) Interação entre a Pós-Graduação e o Ensino Básico de Ciências e Biologia **(conceito A)**
 - 8) Tópicos Especiais em Farmacologia: Métodos de Purificação e análise de Produtos Naturais **(conceito A)**
 - 9) Tópicos Especiais em Farmacologia: Abordagem experimental e computacional para investigar a estrutura e função de macromoléculas biológicas e suas interações **(conceito A)**

LISTA DE ABREVIATURAS

HCl – Ácido Clorídrico

cAMP – Adenosina 3',5'- monofosfato cíclico)

CCK₂ – Receptores de colecistocinina

M₃ – Receptores de colecistocinina subtipo 3

Ca⁺² – Cálcio

H⁺/K⁺-ATPase – Bomba de prótons ou bomba protônica

H₂ – Receptor de Histamina subtipo 2

Ach – Acetilcolina

H⁺ - Hidrogênio

K⁺ - Potássio

Cl⁻ - Cloreto

SST₂ – Receptor de somatostatina subtipo 2

Gi – Proteína G inibitória

PGs – Prostaglandinas

EP₃ – Receptor de prostaglandina

COX₁ – Enzima ciclooxygenase 1

COX₂ - Enzima ciclooxygenase 2

MEC – Matriz extracelular

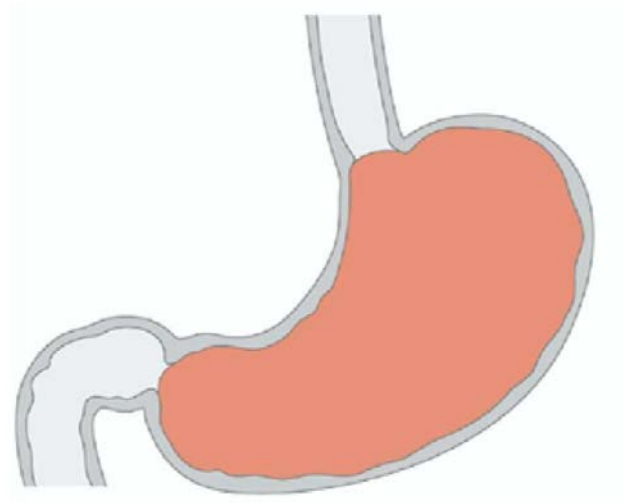
MMP₂ – Metaloproteinase de matriz 2

MMP₉ – Metaloproteinase de matriz 9

TIMPs – Inibidores teciduais de metaloproteinases

DAINEs – Drogas Antiinflamatórias Não-Esteroidais

IBPs – Inibidores de Bomba de Prótons



Resumo Geral da Tese

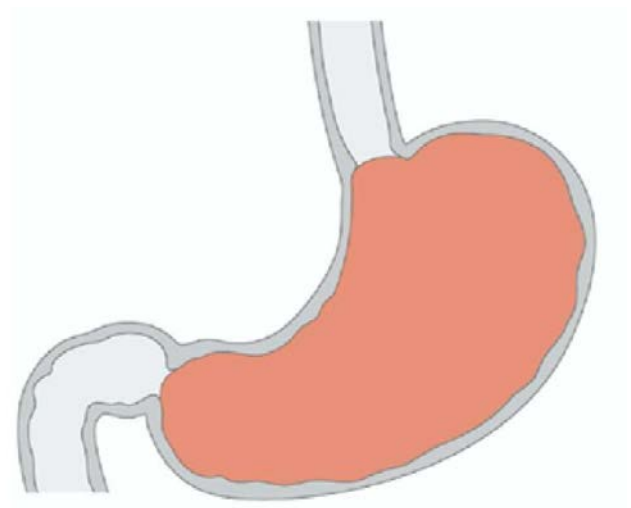
RESUMO

Resumo Geral da Tese

A doença ulcerosa péptica é um comprometimento da mucosa gástrica e duodenal de pacientes decorrente do ataque de fatores lesivos endógenos e/ou exógenos sobre este tecido. Dentre os fatores endógenos que favorecem o surgimento desta doença, destacam-se o enfraquecimento da barreira mucosa e o déficit de seus componentes protetores (como o muco e o bicarbonato) que, conseqüentemente contribuem para o avanço dos fatores lesivos sobre a mucosa péptica desprotegida. Entretanto, o freqüente e progressivo contato que os indivíduos têm com os fatores exógenos, como o uso constante de medicamentos (drogas antiinflamatórias não-esteroidais, antibióticos, dentre outros), o aumento na produção de ácido gástrico e o ataque da bactéria *Helicobacter pylori* são apontados como os mais freqüentes indutores de lesões ulcerosas. O estudo de novos compostos oriundos de plantas medicinais potencializa a descoberta de novos protótipos que podem ser utilizados na terapêutica. Estudos anteriores realizados no Laboratório de Ensaios Biológicos com Produtos Naturais (UNESP/Botucatu) caracterizaram fitoquimicamente o óleo essencial de *Citrus aurantium*, uma espécie medicinal que possui fortes indicativos de uso popular para gastrites e distúrbios do trato gastrointestinal, apontando a presença do monoterpeno β -mirceno (1.43%) como um dos constituintes minoritários de sua composição. A proteção promovido pelo β -mirceno, na dose de 7.5 mg/kg, variou de 60 a 86% de proteção da mucosa gástrica e duodenal o que representa uma ação equivalente a 13 vezes à promovida pela cimetidina (dose 100 mg/kg) ou 4 vezes o efeito do lansoprazol (30 mg/kg), duas drogas antiulcerogênicas padrão usadas na terapêutica. A etapa seguinte foi elucidar outros mecanismos de ação deste monoterpeno que envolveu a caracterização se sua propriedade antissecretória e cicatrizante gástrica. Para um melhor entendimento do trabalho, os resultados foram divididos em dois capítulos. No capítulo 1 encontra-se o trabalho intitulado " *β -myrcene, a monoterpene with antissecretory gastric activity and protective against gastroesophageal reflux: role of calcium channels and gastrin in the gastroprotection*". Este estudo mostra os resultados da atividade do β -mirceno em diversos modelos experimentais que caracterizam a secreção ácida gástrica e elucidam os mecanismos de ação antissecretório do monoterpeno. O β -mirceno promove a diminuição da acidez gástrica por meio da diminuição dos níveis séricos de gastrina, atua através dos canais de cálcio e K^+ atp para modular a secreção ácida. Além disso, este monoterpeno combate os efeitos do refluxo gastroesofágico e reduz a peroxidação lipídica na mucosa. No capítulo 2, encontra-se o trabalho intitulado "*The effects of monoterpene β -myrcene on gastric healing activity: role of cytokines, metalloproteinases of matrix -2 and -9 and gastric contractions recovery*". Este estudo evidencia o efeito cicatrizante do β -mirceno e seus mecanismos de ação caracterizados atuação sobre as metaloproteinases de matriz 2 (MMP-2), diminuição dos níveis de MPO, envolvimento de interleucinas e de COX-1 e COX-2. O efeito do β -mirceno sobre a mucosa gástrica também envolve o reestabelecimento das contrações gástricas após a ulceração. Os resultados indicaram que β -mirceno (7,5 mg/kg) tem importante atividade cicatrizante gástrica por via oral com a diminuição significativa de lesões gástricas induzidas por ácido acético, não mostrando nenhum sinal de toxicidade durante o tempo de tratamento (7 ou 14 dias de tratamento). Investigou-se a regulação das MMPs (MMP-2 e -9) na úlcera gástrica induzida por ácido acético de animais submetidos a tratamentos durante 7 e 14 dias com β -mirceno. Nos grupos de animais tratados durante 7 dias, a atividade da enzima MMP-2 estava presente em todos os grupos, porém a mesma se mostrou maior no grupo tratado com veículo e menor nos grupos tratados com o lansoprazol, β -mirceno e sham (18,5%, 25% e 26%, respectivamente). Foi observada a atividade da MMP-9 em todos os grupos tratados durante 14 dias, mas não de

forma significativa. Além disso, os níveis de interleucina IL-1 β foi significativamente maior nos estômagos ulceradas enquanto o tratamento com β -mirceno (14 dias)reduziu os níveis de interleucina IL-1 β no tecido gástrico. O mesmo ocorreu com os níveis de MPO, no qual se observou diminuição significativa nos estômagos tratados com o monoterpeno β -mirceno (30%) em relação ao veículo. A atividade cicatrizante do monoterpeno envolve igualmente a participação da COX-1 (com 7 dias de tratamento) e COX-2 (com 14 dias de tratamento), bem como à recuperação (após 7 dias) das contrações gástricas depois da ulceração com restabelecimento de 40% da frequência e 88% da amplitude das contrações. Com base em todos os resultados obtidos nesta tese, pode-se concluir que o β -mirceno é um composto de origem natural que possui uma efetiva ação cicatrizante da mucosa gástrica e apresenta uma considerável atividade antissecretória, ambas ações foram desprovidas de efeitos tóxicos.

Palavras-chave: úlcera gástrica; β -mirceno; monoterpeno; antissecretório; cicatrizante.



Introdução

Geral da Tese

INTRODUÇÃO

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A humanidade tem convivido com as úlceras pépticas desde tempos remotos. Talvez a primeira descrição dessa doença tenha sido nos pilares do templo de Esculápio em Epidaurus por volta do século IV a.C.: “um homem com úlcera no estômago. Ele incubou e teve uma visão; o Deus pareceu ordenar a seus seguidores que o capturassem e o mantivesse prisioneiro, que ele poderia operar o seu estômago. Assim, o mesmo fugiu, mas foi capturado e amarrado a uma aldrava. Em seguida Esculápio abriu-lhe o estômago, retirou a úlcera, costurou-o novamente e soltou suas amarras”. Muitas pessoas ilustres sofreram de indigestão e úlceras, inclusive o imperador romano Marco Aurélio, cuja morte foi atribuída por alguns a uma úlcera perfurada e cujo médico era o próprio Galeno. A neutralização ácida foi reconhecida como um tratamento eficaz há mais de doze séculos por Paulus Aeginata, o qual prescreveu uma mistura de solos de Samos e Lemnos e leite, não diferente dos esquemas terapêuticos com leite e antiácidos usados em meados do século XX”.

O parágrafo acima retirado de HOOGERWERF & PASRICHA em “Goodman & Gilman’s The Pharmacological basis of the therapeutic” (2005), citando SMITH & RIVERS (1953), mostra o longo histórico das úlceras pépticas e sua importância na história da humanidade.

Úlceras pépticas, uma das mais importantes causas de morbidade em todo o mundo, são áreas lesionadas da mucosa gástrica e duodenal resultante de diferentes fatores, incluindo redução do fluxo sanguíneo local, diminuição na produção de prostaglandinas, bem como decorrente de um aumento da liberação de ácido gástrico e espécies reativas de oxigênio na mucosa gástrica e duodenal (LAU et al., 2011; TARNAWSKI et al., 2012; THORSEN et al., 2013). Esta lesão se estende através da muscularis mucosae até camadas mais profundas (submucosa ou a muscularis propria). Assim, ao atingir estas camadas, pode haver o rompimento de vasos sanguíneos e dessa forma ocasionar hemorragia (YEOMANS & NAESDAL, 2008).

A úlcera péptica é considerada um problema grave e é altamente prevalente em todo o mundo com uma incidência crescente ano após ano. Ulcerações e sangramentos gástricos têm sido atribuídos muitas vezes a um aumento na secreção de ácido gástrico, que destrói a barreira mucosa e penetra na camada de muco, permitindo que agressores endógenos e exógenos promovam lesões na superfície do epitélio celular (GUSTAFSON & WELLING, 2010).

A incidência e prevalência das úlceras pépticas são difíceis de serem estimadas devido a sua característica extremamente dinâmica. Nesse contexto, a subjetividade sintomática e a semelhança do quadro clínico com vários tipos de dispepsia geram dados contraditórios na

literatura científica. No entanto, mesmo considerando estas dificuldades, D'ACAMPORA e colaboradores (2008) comentam que a incidência de ulcera péptica sobre a população no Brasil varia de 1 a 20%. Apesar de ser uma doença extremamente freqüente, não se conhece de modo preciso sua real incidência neste país.

A regulação da secreção ácida gástrica é um processo complexo, mediado por mecanismos neurais, hormonais, parácrinos e autócrinos em níveis central e periférico os quais convergem para a etapa final da secreção de ácido clorídrico (HCl): a atividade da enzima H^+/K^+ -ATPase nas células parietais gástricas (SCHUBERT, 2004).

O trato gastrointestinal desenvolve atividades como digestão, proteção e motilidade por meio da secreção de ácido, enzimas digestivas, muco, bicarbonato, bem como controle na absorção de água, nutrientes e eletrólitos. Essas atividades são reguladas pelo sistema nervoso composto de fibras neuronais extrínsecas (neurônios sensoriais e eferentes do sistema nervoso autônomo parassimpático e simpático), intrínsecas (sistema nervoso entérico), mediadores parácrinos, autócrinos e endócrinos (KOEPPEN & STANTON, 2009).

O sistema nervoso autônomo parassimpático regula as funções gastrointestinais por meio da liberação de acetilcolina, o simpático atua via ação de noradrenalina, enquanto o sistema nervoso entérico libera neuropeptídeos que agem controlando a secreção gastrointestinal via plexo submucoso, localizado na camada submucosa e a motilidade pelo plexo mioentérico localizado entre as camadas muscular longitudinal e circular. Dentre os principais hormônios que controlam o funcionamento do trato gastrointestinal, podem ser citados a histamina, gastrina, somatostatina, colecistocinina, secretina, peptídeo YY e serotonina (KOEPPEN & STANTON, 2009). Outros peptídeos que regulam a ingestão de alimentos, incluindo a grelina, Orexina-A e especialmente o recém-descoberto nesfatin-1, de forma semelhante à leptina e ao peptídeo YY, não são apenas envolvidos na secreção endócrina e regulação da saciedade e da fome, mas também participar de outros mecanismos fisiológicos, incluindo a atividade secretória gástrica e pancreática e também motora do trato gastrointestinal bem como a proteção da mucosa gástrica contra agentes agressores à ela (SZLACHCIC et al., 2013).

Os receptores desses secretagogos (Histamina - H_2 , Acetilcolina - M_3 e de Gastrina - CCK_2) foram identificados anatômica e farmacologicamente na membrana basolateral da célula parietal. Existem duas vias principais de sinalização na célula parietal: a via dependente do cAMP e a via dependente do Ca^{2+} (**Figura 1**). Enquanto a histamina utiliza a primeira via, a gastrina e a acetilcolina (Ach) exercem seus efeitos por meio da última. A via dependente de cAMP resulta na fosforilação das proteínas efetoras da célula parietal e a via dependente do Ca^{2+} leva a um

aumento do Ca^{2+} citosólico. Ambas as vias ativam a H^+/K^+ -ATPase (a bomba protônica), que consiste em uma grande subunidade α e uma subunidade β menor. Essa bomba produz o maior gradiente iônico conhecido nos vertebrados, com um pH intracelular de cerca de 7,3 e um pH intracanalicular de mais ou menos 0,8 (HOOGERWERF & PASRICHA, 2005).

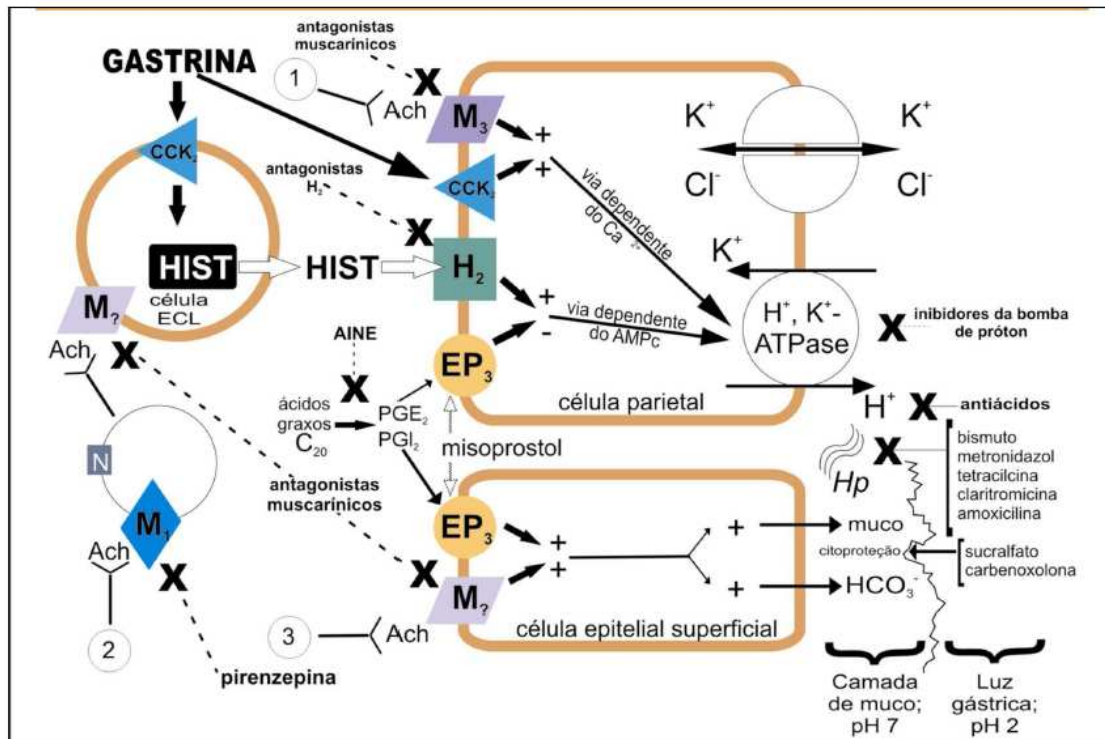


Figura 1. Regulação fisiológica e farmacológica das secreções gástricas: a base para o tratamento da doença ulcerosa péptica. Adaptado de HOOGERWERF & PASRICHA, (2005).

Quando não estimulada, a atividade da H^+/K^+ -ATPase é mantida predominantemente dentro de túbulo-vesículas citoplasmáticas. Sob estimulação, estas vesículas se fundem com a membrana plasmática apical, resultando em extensiva secreção. Ao cessar a secreção, H^+/K^+ -ATPase é recolhida da membrana apical, e restabelecida no seu compartimento túbulo-vesicular. Não se sabe ao certo o mecanismo exato desta regulação, mas os dados sugerem que microfilamentos de actina, GTPases e também proteínas de ancoragem/fusão sejam os responsáveis por este mecanismo (SCHUBERT & PEURA, 2008).

A secreção de prótons ocorre nas células parietais pela troca de íons hidrogênio H^+ por íons potássio K^+ através da enzima H^+/K^+ -ATPase. Este mecanismo ocorre juntamente com extrusão de Cl^- via canais de cloreto e potássio na membrana apical. Esses canais são alvos freqüentes de estudos de drogas anti-secretoras (SCHUBERT & PEURA, 2008).

Para controlar a secreção de ácido gástrico e de fluido intestinal, as células D localizadas no estômago e duodeno secretam somatostatina que por ação endócrina e parácrina atuam sobre os receptores SST₂ acoplados a proteína inibitória Gi localizadas nas membranas plasmáticas das células G, enterocromafins e parietal (YANG et al., 2010). A somatostatina também pode ser liberada pelas fibras nervosas intrínsecas e inibe o peristaltismo gastrointestinal, diminui a secreção biliar e a proliferação celular (SUN et al., 2002).

Outro mediador endógeno responsável pela regulação da acidez gástrica são as prostaglandinas (PGs) que estimulam os receptores EP₃ localizados nas células parietais (SCHUBERT & PEURA, 2008).

MECANISMOS DE DEFESA DA MUCOSA

Para se proteger da ação corrosiva do ácido e proteolítica da pepsina, a mucosa gastroduodenal faz uso de diversos mecanismos de defesa os quais abrangem processos dinâmicos que incluem mecanismos locais e neuro-hormonais (LAINE et al., 2008; WALLACE, 2008).

Didaticamente, a defesa da mucosa pode ser dividida em fatores pré-epiteliais, epiteliais, sub-epiteliais, e da defesa imune (**Figura 2**).

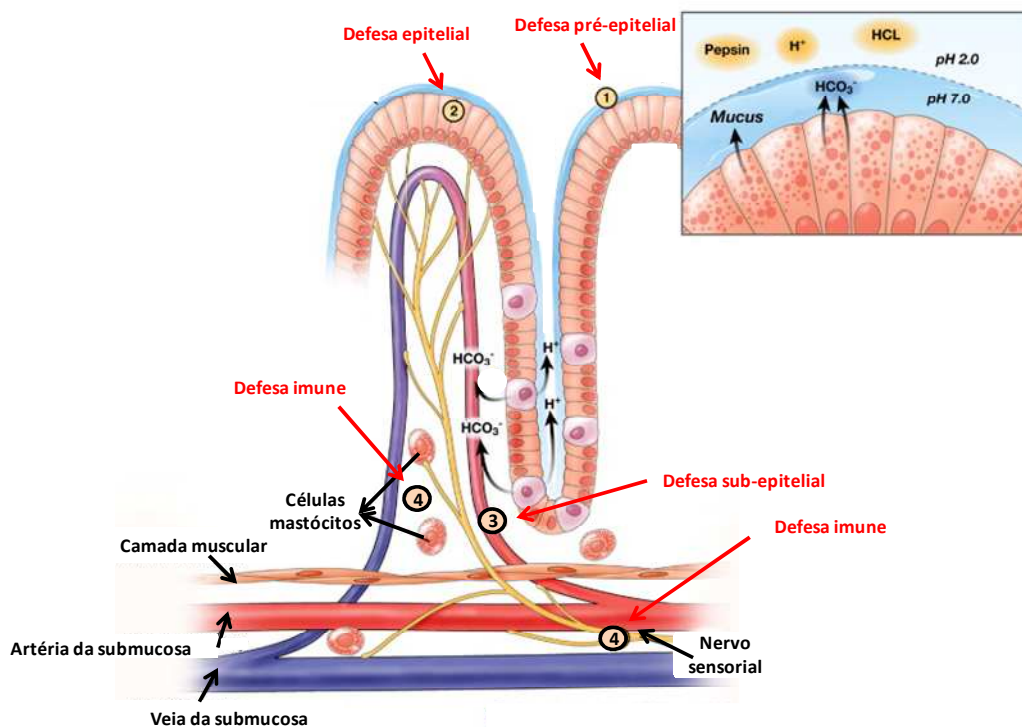


Figura 2. Ilustração dos fatores de defesa da mucosa (Adaptado de LAINE et al., 2008).

Os fatores de defesa pré-epiteliais (n.1 da figura 2) representam os diferentes mecanismos de proteção que ocorrem no lúmen. Estes fatores incluem a barreira física de muco-bicarbonato e os fosfolipídeos que revestem a camada celular, impedindo a ação do ácido e pepsina sobre a superfície epitelial. Os fatores de defesa epiteliais (n.2 da figura 2) são recrutados quando o epitélio superficial é lesado com rápida migração das células do colo glandular para a área afetada, cobrindo a lesão. O fator de crescimento epidérmico estimula a síntese de DNA e o desenvolvimento celular. Como principal fator de defesa subepitelial (n.3 da figura 2) tem-se o fluxo sangüíneo. Este é o principal carreador de substâncias lesivas como H^+ e toxinas, e fornece nutrientes impedindo a lesão celular (LAINE et al., 2008). Outro importante fator de defesa da mucosa é a resposta imune (n.4 da figura 2). Este fator exerce proteção e reparo celular através de células de alerta como mastócitos e macrófagos que, por sua vez, mobilizam todo sistema imunológico celular para uma resposta inflamatória de proteção (WALLACE, 2008).

O epitélio gástrico humano renova-se completamente a cada 2-4 dias. Conforme a **Figura 3**, e o processo de cicatrização da mucosa na úlcera gastrointestinal requer reconstituição da estrutura glandular epitelial (migração, proliferação e re-epitelização), restauração da lâmina própria incluindo uma rede microvascular na mucosa (angiogênese), restauração de nervos e células de tecidos conjuntivos (deposição de matriz fibrosa) levando a formação de uma cicatriz (TARNAWSKI, 2005).



Figura 3. Representação esquemática da úlcera gástrica e seus dois maiores componentes envolvidos na cicatrização: a margem da úlcera (re-epitelização) e o tecido de granulação (angiogênese e reconstrução glandular) (Adaptado de TARNAWSKI 2005).

Histologicamente, a úlcera gástrica é formada por uma margem chamada “zona de cicatrização”, em que o tecido não necrosado e as glândulas dessa região começam a dilatar e as células de revestimento sofrem diferenciação. É formada uma base de tecido granuloso constituído de tecido conectivo (fibroblastos, macrófagos e microvasos) que surgem em um período de 48–72 horas após a lesão e são continuamente modulados (região de re-epitelização). A angiogênese facilita esse processo por liberar oxigênio e nutrientes para este local (TARNAWSKI, 2005).

A migração de fibroblastos e a sua proliferação são estimuladas por fatores de crescimento e citocinas, como TNF- α e IL-1 derivados de células inflamatórias, células endoteliais ativadas e macrófagos. Os fatores de crescimento epidermal (EGF), endotélio vascular (VEGF), de fibroblasto (FGF), do hepatócito (HGF), derivado de plaquetas (PDGF) e tumoral β (TGF- β), juntamente com a ação de prostaglandinas produzidas pela enzima ciclooxigenase 2 (COX-2) ativadas por IL-1, estimulam a diferenciação, proliferação e migração celular (TARNAWSKI, 2005).

As prostaglandinas geradas em uma úlcera gástrica, pela COX-2, parecem ter um papel fundamental na sua cicatrização, estimulando a proliferação celular, promovendo angiogênese e a restauração da integridade da mucosa. Por outro lado, as prostaglandinas produzidas pela COX-1 (constitutivas), são responsáveis pela regulação do fluxo sanguíneo da mucosa e secreção epitelial de muco e HCO₃⁻ (KONTUREK et al., 2005).

Para WALLACE (2005), a contribuição de COX-2 para a defesa da mucosa gástrica e o processo de cicatrização está cada vez mais clara, o que pode levar ao desenvolvimento de novas terapias. A expressão de COX-2 controla mecanismos de proteção da mucosa como re-epitelização, angiogênese e citoproteção adaptativa.

Além das ciclooxigenases, outro fator envolvido na cicatrização de úlceras gástricas é a matriz extracelular. A matriz extracelular (MEC) é um complexo de proteínas fibrilares, proteoglicanos e glicosaminoglicanos essencial para a arquitetura, fisiologia e biomecânica dos tecidos. A MEC é composta por uma rede de colágeno, especificamente os colágenos tipo I e III, elastina, fibronectina e laminina. Juntas, essas proteínas garantem a integridade estrutural, a flexibilidade e a adesão às células por apresentarem domínios de interação com receptores específicos da membrana celular. (SPINALE, 2002; ADAIR-KIRK & SENIOR, 2008).

A função biológica da MEC é o suporte estrutural capaz de manter a arquitetura do tecido e preencher os espaços entre as células. Além disso, confere adesão e forma, permitindo a migração, a proliferação e a diferenciação das células adjacentes (ADAIR-KIRK & SENIOR, 2008). Alterações na MEC, como mudanças no equilíbrio entre sua síntese e degradação e na

continuidade da rede de colágeno fibrilar são as características essenciais do remodelamento tecidual que ocorre em muitos processos patológicos (ROY et al., 2011). Dessa forma, a manutenção da integridade e da organização da MEC é de grande importância e tem recebido destaque em pesquisas científicas.

Componentes protéicos da MEC têm sido estudados devido à importante participação no remodelamento do tecido conjuntivo. Dentre esses componentes, destacam-se as metaloproteinases de matriz (MMPs). As MMPs compreendem um amplo grupo de endopeptidases zinco-dependentes, classificadas de acordo com sua afinidade por determinado substrato. Com base especificamente em sua estrutura primária, as MMPs são categorizadas em collagenases, gelatinases, estromelisinases, matrilisinases, MMPs de membrana, entre outras (GEURTS et al., 2011). Uma das funções dessas endopeptidases é a degradação de componentes da matriz extracelular, sendo reguladores importantes de uma variedade de processos fisiológicos. Além disso, atuam na resposta imune clivando citocinas e quimiocinas e, assim, participando ativamente da inflamação (VANHOUTTE et al., 2006; KUPAI et al., 2010).

Por serem capazes de degradar componentes protéicos da MEC, as MMPs participam de uma variedade de processos fisiológicos como angiogênese, reparação tecidual, morfogênese, mobilização de células tronco e cicatrização de feridas (VANHOUTTE et al., 2006; KUPAI et al., 2010).

As MMPs podem ser divididas em grupos de acordo com sua especificidade a determinado substrato, as collagenases que degradam colágeno intersticial, as gelatinases A e B (MMP-2 e MMP-9) que degradam gelatina, colágeno do tipo IV, V, VII e IX, elastina e fibronectina, stromelisinases 1-3 que possui uma ampla especificidade e, por fim, as MMPs do tipo membrana (VISSE & NAGASE, 2003). Essas enzimas são sintetizadas e secretadas por células epiteliais gástricas, macrófagos e neutrófilos, e sua ativação é dependente de vários fatores como proteases celulares e os inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMPs) (KUPAI, 2010).

A MMP-2 está envolvida no processo de ulceração e remodelagem da matriz extracelular, enquanto a MMP-9 está relacionada principalmente ao processo inflamatório. SHAHIN e colaboradores (2001) mostraram que a primeira observação da expressão do RNA-MMP-2 ocorre 24 horas após a indução da lesão, o que coincide com a remoção do tecido necrosado, e que 48 horas após a lesão ocorre um aumento na expressão, que ocorre conjuntamente com a ampliação do diâmetro da lesão, após a retirada total do tecido necrosado. Esses dados mostram que a MMP-2 tem um potencial de destruição, promovendo o processo de ulceração através da degradação local da matriz e de proteólise tecidual, sendo que a presença desta metaloproteinase

é constatada na parede gástrica até 3 semanas após a indução da lesão. Parte disso se dá porque elas são necessárias para que ocorra a migração de fibroblastos, neutrófilos e macrófagos para a área lesada, para que esses efetuem o reparo. No 30º dia após a lesão, a atividade enzimática diminui e a síntese de colágeno é neutralizada. Nesta fase existe um equilíbrio entre a degradação tecidual e o processo de reconstrução que evita a deposição excessiva de colágeno, que levaria a formação de uma cicatriz (SHAHIN et al., 2001).

A qualidade de restauração da mucosa gastrointestinal na região lesionada é determinante na cicatrização a fim de evitar recorrências na região adjacente frente aos agentes ulcerosos. Estudos relataram que uma re-epitelização rápida e grosseira causa anormalidades no tecido, como altura reduzida do epitélio, dilatação das glândulas, aumento de tecido conectivo e uma rede microvascular desorganizada. Assim, a cicatrização da úlcera é um processo complexo e bem regulado de preenchimento da mucosa lesada com proliferação, migração de células dos tecidos epitelial e conjuntivo. Este processo inclui re-estabelecimento da superfície contínua de camada epitelial, estruturas glandulares, microvasos e tecido conjuntivo no interior da cicatriz (TARNAWSKI, 2005).

TERAPÊUTICA MEDICAMENTOSA E SUAS LIMITAÇÕES

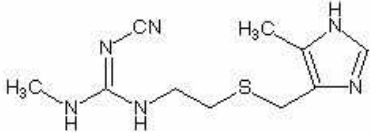
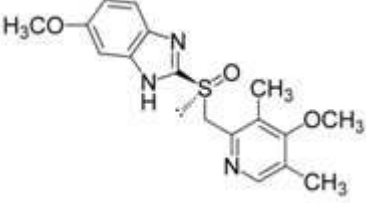
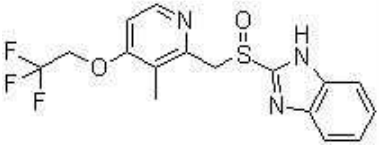
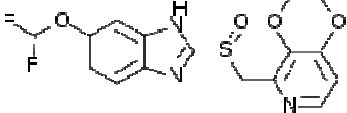
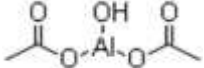
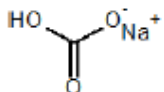
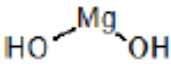
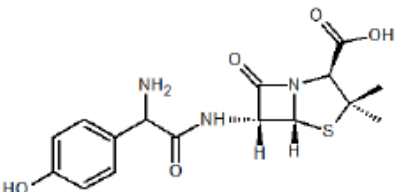
HOOGERWERF & PASRICHA em “Goodman & Gilman’s The Pharmacological basis of the therapeutic” (2005), citando SMITH & RIVERS (1953) chamam a atenção para os enormes avanços no conhecimento da patogênese e no tratamento dos quadros clínicos de úlceras pépticas, entretanto a descoberta da *Helicobacter pylori* (TYRGAT & RAUWS, 1986) e dos inibidores protônicos (SIEPLER et al., 1986) são os últimos grandes acontecimentos e ambos ocorreram no século passado. Do ponto de vista clínico, o controle da acidez nestes casos, bem como o tratamento anti *H. pylori* parece estar bem estabelecido. No entanto alguns avanços ainda devem ser feitos, tendo em vista que os anti-inflamatórios não esteroidais – os DAINES – são os maiores responsáveis pelo surgimento de úlceras pépticas, depois do *H. pylori* (FIORUCCI et al., 2009).

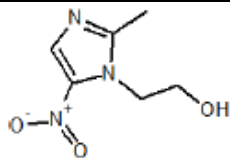
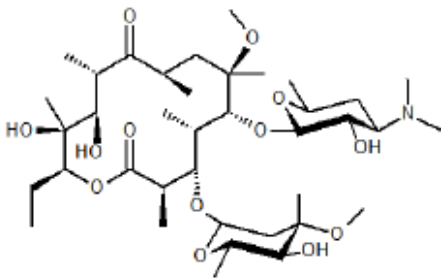
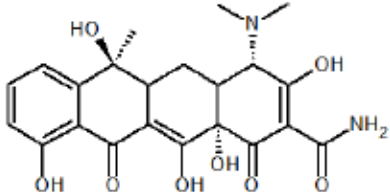
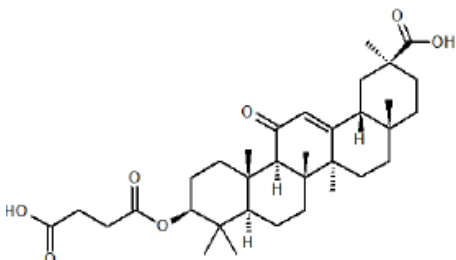
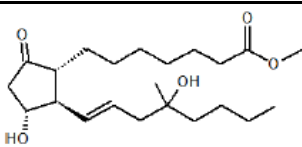
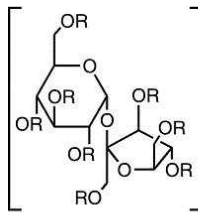
Na tentativa de proteger a mucosa do ácido gástrico, aumentar a velocidade e qualidade da cicatrização e prevenir a recorrência da úlcera, a farmacoterapia utiliza diversas alternativas terapêuticas que são direcionadas à redução dos fatores de agressão, neutralização ácida, supressão ácida, ou indução de mecanismos citoprotetores (AIHARA et al., 2003).

Nesse contexto, vários fármacos, como os antiácidos, antagonistas dos receptores histaminérgicos e colinérgicos, inibidores da bomba protônica ($H^+/K^+ATPase$), citoprotetores, além

dos fármacos com a função de erradicar a *H. pylori* têm sido desenvolvidos, e muito deles ativamente utilizados no tratamento de doenças ulcerosas pépticas (JAIN et al., 2007). Na **Tabela 1** estão dispostos alguns exemplos de fármacos utilizados na terapia da úlcera gástrica, bem como sua estrutura química, e classificação farmacológica.

Tabela 1. Exemplos de fármacos utilizados na terapêutica da úlcera péptica, classificação farmacológica e estrutura química.

Classificação farmacológica	Fármaco	Estrutura química
Antagonistas dos receptores H ₂	Cimetidina	
	Ranitidina	
Inibidores da bomba de prótons	Omeprazol	
	Lansoprazol	
	Pantoprazol	
Antiácidos	Hidróxido de alumínio	
	Bicarbonato de sódio	
	Hidróxido de magnésio	
Antibióticos	Amoxicilina	

	Metronidazol	
Antibióticos	Claritromicina	
	Tetraciclina	
Citoprotetores	Carbenoxolona	
	Misoprostol	
	Sucralfato	 $[Al(OH)_3] \times [H_2O]_y$ $(x = 8 \text{ to } 10 \text{ and } y = 22 \text{ to } 31)$ $R = SO_3Al(OH)_2$

Entretanto, o uso disseminado e por tempo prolongado, como normalmente requer a terapêutica com estes fármacos, têm permitido um acúmulo de informações que revelam a presença de efeitos colaterais (KATZUNG, 2010).

Os fármacos ativos na neutralização ácida, como o bicarbonato de sódio, hidróxido de magnésio e alumínio, agem apenas no alívio dos sintomas, não sendo efetivos no processo de cura da mucosa. Seu princípio terapêutico encontra-se embasado em sua capacidade de reagir com HCl formando H_2O e CO_2 . Embora, eficazes no alívio dos sintomas da doença, possuem efeitos indesejáveis como flatulência, náuseas, diarreia ou constipação (AIHARA et al., 2003; JAIN et al., 2007).

Por outro lado, os supressores ácidos são capazes de promover a cura das lesões, e por isso são muito utilizados no tratamento da doença. Dentre eles, destacam-se os anticolinérgicos como a pirenzepina e talenzepina, capazes de reduzir a produção basal de ácido em cerca de 50%. No entanto, seu uso está cada vez mais restrito devido aos efeitos colaterais tais como taquicardia, boca seca, visão turva e constipação (AIHARA et al., 2003; HOOGERWERF & PARSRICHA, 2005; JAIN et al., 2007).

Outra classe de supressores ácidos são os antagonistas de receptores histaminérgicos do tipo H_2 como a cimetidina, ranitidina, famotidina, nizatidina e roxotidina. A ação destes medicamentos envolve a inibição da interação da histamina com receptores H_2 , reduzindo o volume do suco gástrico, bem como a concentração de íons H^+ . No entanto, o uso prolongado dessas substâncias também pode provocar efeitos adversos, sendo a diarreia, cefaléia, tontura, fadiga, dor muscular e prisão de ventre os efeitos colaterais mais frequentes (AIHARA et al., 2003; HOOGERWERF & PARSRICHA, 2005; JAIN et al., 2007). Em adição, casos de ginecomastia em homens e galactorrêia em mulheres devido à ligação da cimetidina aos receptores androgênicos e à inibição da hidroxilação do estradiol catalisada pelo citocromo P450, também foram descritos. Em pacientes do sexo masculino há também relatos de redução na contagem de espermatozoides e impotência reversível em usuários deste medicamento (HOOGEWERF & PARSRICHA, 2005).

Os inibidores da bomba de prótons (omeprazol, lansoprazol, rabeprazol, pantoprazol e esomeprazol) são os mais potentes supressores ácidos do estômago e têm sido largamente utilizados por atuarem como inibidor do sangramento gástrico, como coadjuvantes na erradicação do *H. pylori*, bem como na profilaxia de recidivas do episódio ulceroso. Eles atuam ligando-se a $\text{H}^+/\text{K}^+\text{ATPase}$ localizada na membrana da célula parietal e inibindo a liberação de íons H^+ para lúmen gástrico (JAIN et al., 2007).

Atualmente sabe-se que os inibidores da bomba de prótons podem participar de interações com outros fármacos interferindo negativamente na ação terapêutica dos mesmos (MARCOLIN et al., 2004). Somado a isso ZLABEK & ANDERSON (2002) descrevem reações adversas graves como trombocitopenia; RA & TOBE (2004) citam a nefrite intersticial aguda; FISHER & LE

COUTEUR (2001) descrevem a nefrotoxicidade e hepatotoxicidade e GONZALEZ et al. (2002) relatam a presença de reações anafiláticas em usuários dos inibidores da bomba de prótons.

Além dos antiácidos e supressores ácidos, outra classe de fármacos são os citoprotetores. Têm esse nome devido à capacidade que esses fármacos possuem em acentuar os fatores protetores da mucosa. São exemplos: o sucralfato (estimula a síntese de prostaglandinas, a produção local de fator de crescimento epidérmico, e a absorção de pepsina), o misoprostol (análogo das prostaglandinas que atua inibindo a secreção de ácido, aumentando o fluxo sanguíneo, e a secreção de muco e bicarbonato, mas ocasiona diarreia, cólicas abdominais e abortos), e a carbenoxolona (age modificando a composição da quantidade de muco gástrico). Embora também possuam efetividade no tratamento da doença, há relatos de efeitos adversos como, por exemplo, o uso prolongado de carbenoxolona causa hipertensão e retenção de líquidos, fazendo com que ela seja utilizada apenas como ferramenta farmacológica (JAIN et al., 2007).

As terapias que envolvem a associação de antimicrobianas com drogas antissecretórias são usadas com sucesso no tratamento de úlceras pépticas devido infecção por *H. pylori*. Nesse contexto, o uso de metronidazol, compostos bismúticos e tetraciclina ou amoxicilina é recomendado. No entanto, os esquemas terapêuticos propostos, até o momento, demonstram alguns inconvenientes, principalmente no que concernem os efeitos adversos e o custo do tratamento, fatores que vem contribuindo contrariamente a adesão ao tratamento (EISIG et al., 2003). JAIN et al. (2007) e MAJUMDAR et al. (2007) relatam o aparecimento de náuseas, diarreias e tonturas em pacientes que fazem uso desta associação de medicamentos.

Em adição aos efeitos adversos proporcionados pelos fármacos atuais, OCHI et al. (2005) apontam outras falhas da terapia medicamentosa, como é o caso da crescente resistência das bactérias *H. pylori* aos antibióticos utilizados, constituindo relevantes fatores no aparecimento de recidivas. Corroborando com estes dados, EGAN et al. (2007) discutem que apesar de múltiplos esquemas terapêuticos terem sido clinicamente testados nos últimos anos, ainda não surgiu um tratamento ideal para erradicação do *H. pylori*. Os regimes em que se utilizam dois fármacos (sendo um inibidor de bomba de prótons e um antimicrobiano) não atingem 100% de erradicação, por isso utiliza-se a associação de três fármacos, o qual em múltiplos ensaios clínicos europeus mostrou-se eficaz em mais de 90% dos casos. Dos três fármacos, um é obrigatoriamente inibidor de bomba de prótons (IBP) ou um antagonista dos receptores H₂ da histamina, sendo os IBP's utilizados com maior frequência.

Outro fator relevante é a não efetividade completa dos medicamentos antiulcerogênicos atuais. SZABO & VINCZE (2000) relatam que úlceras cicatrizadas espontaneamente ou depois do

uso de cimetidina são precariamente vascularizadas e têm de 2-3 vezes menos densidade de vasos sanguíneos novos do que no tecido normal em seu entorno.

Embora a supressão da secreção ácida tenha sido um pilar para a promoção da cicatrização de úlceras gástricas por três décadas, há um grande interesse por novos fármacos que promovam maior velocidade e qualidade na cicatrização (WALLACE, 2005). Assim sendo, parece que o desbalanço entre os fatores agressores e defensores da mucosa estão sendo tratados de outra maneira em pesquisas recentes. Os fatores defensores participariam do controle da acidez e o fortalecimento desses fatores propiciariam um novo horizonte de perspectivas para o tratamento da doença ulcerosa péptica (DAJANI & KLAMUT, 2000; WALLACE, 2005).

Somado a estes fatores, estudos também revelam que uma ínfima parcela da população possui úlcera idiopática, ou seja, cuja origem é desconhecida (COELHO, 2003). Para estes, traçar um tratamento eficaz é praticamente impossível.

Portanto, conclui-se que o estudo das úlceras pépticas constitui ainda um grande desafio e torna-se necessário o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos mais eficazes e menos tóxicos para o seu tratamento.

BUSCA POR NOVAS MOLÉCULAS FARMACOLOGICAMENTE ATIVAS

Segundo SCHMEDA-HIRSCHMANN & YESILADA (2005), dentre as diversas fontes de novas moléculas farmacologicamente ativas no tratamento e prevenção de úlceras pépticas, as originárias de produtos naturais são consideradas fontes importantes de novas moléculas. Dessa forma, muitos produtos derivados de plantas apresentam-se como uma fonte atraente seja como fonte de desenvolvimentos de novos fármacos, ou como produto adjuvante do tratamento (ARRIETA et al., 2003); e de acordo ZAYACHKIVSKA et al. (2005) muitos têm mostrado resultados promissores na clínica.

Nesse contexto, estudos têm mostrado que substâncias de origem vegetal, dentre elas os terpenóides, têm apresentado atividade antiúlcera bastante expressiva (BORRELLI & IZZO, 2000; RODRIGUEZ et al., 2004; MARQUES et al., 2006).

β -mirceno (7-metil-3-metileno-1,6-octadieno) é um monoterpene com cheiro agradável encontradas em muitas plantas, incluindo capim-limão (*Cymbopogon citratus*), lúpulo e Verbena (GÜNTHER & ALTHAUSEN, 1949), bem como na composição de óleo essencial obtida a partir de cascas de *Citrus aurantium* (MORAES et al., 2009). Ele é utilizado na produção de perfumes e é também um componente de óleos essenciais que têm sido utilizados como aditivos aromatizantes na fabricação de bebidas alcoólicas e na indústria alimentar (LEUNG, 1980).

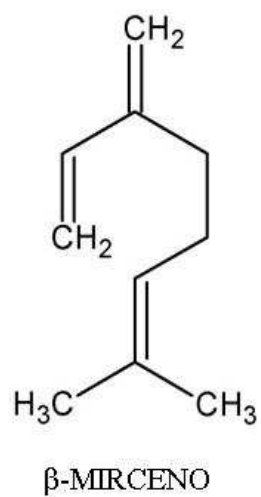


Figura 4) Estrutura química do monoterpene β -mirceno

JUSTIFICATIVA

Estudos têm mostrado que substâncias de origem vegetal, dentre elas os terpenóides, têm apresentado atividade antiúlcera bastante significativa (BORRELLI & IZZO, 2000; RODRIGUEZ et al., 2004; MARQUES et al., 2006).

β -mirceno (7-metil-3-metileno-1,6-octadieno) é um monoterpeno com cheiro agradável encontradas em muitas plantas, incluindo capim-limão (*Cymbopogon citratus*), lúpulo e Verbena (GÜNTHER & ALTHAUSEN, 1949), bem como na composição de óleo essencial obtida a partir de cascas de *Citrus aurantium* (MORAES et al., 2009). Ele é utilizado na produção de perfumes e é também um componente de óleos essenciais que têm sido utilizados como aditivos aromatizantes na fabricação de bebidas alcoólicas e na indústria alimentar (LEUNG, 1980).

Além das grandes utilizações do monoterpeno β -mirceno na indústria alimentar, resultados previos tem demonstrado o grande potencial gastroprotetor do β -mirceno. Bonamin et al. (2014) demonstraram que β -mirceno protege a mucosa gástrica e duodenal dos efeitos lesivos induzidos por etanol, DAINes, estresse, cisteamina. β -mirceno atua através de ativação de mecanismos antioxidantes que favorece o fortalecimento da barreira mucosa (Figura 4).

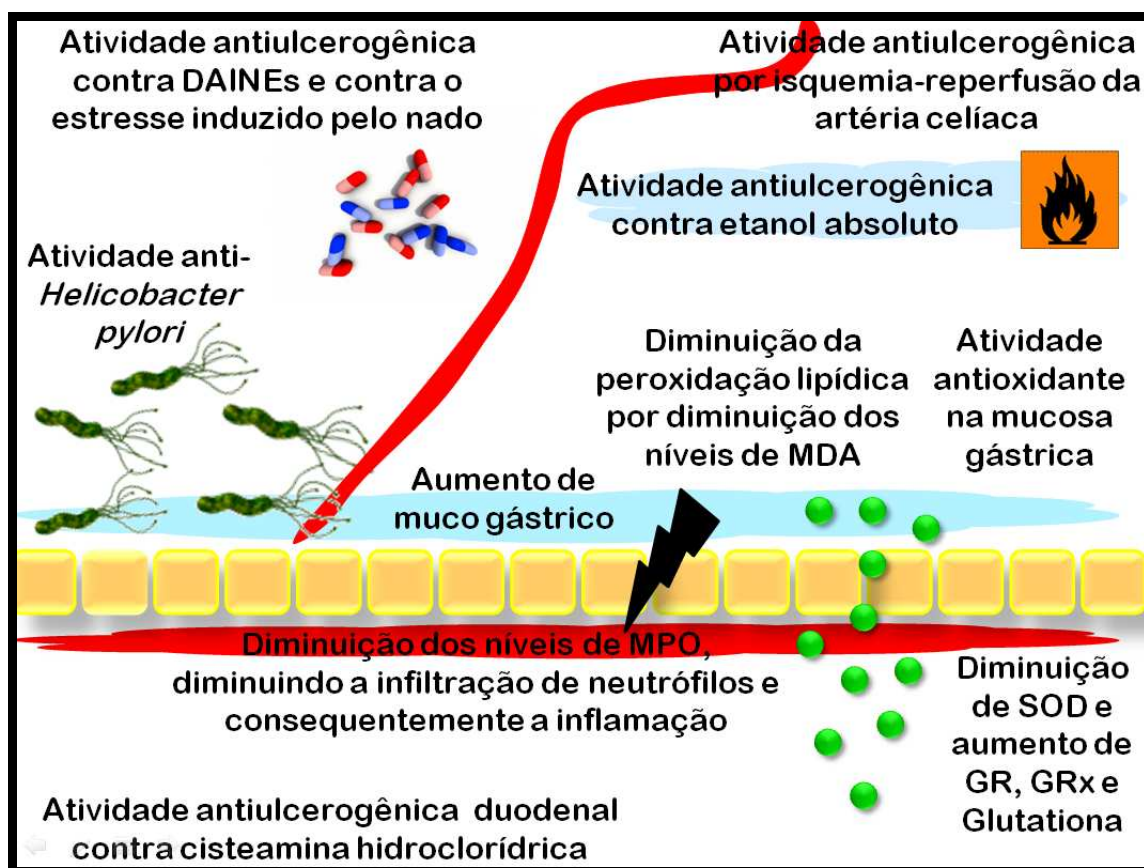
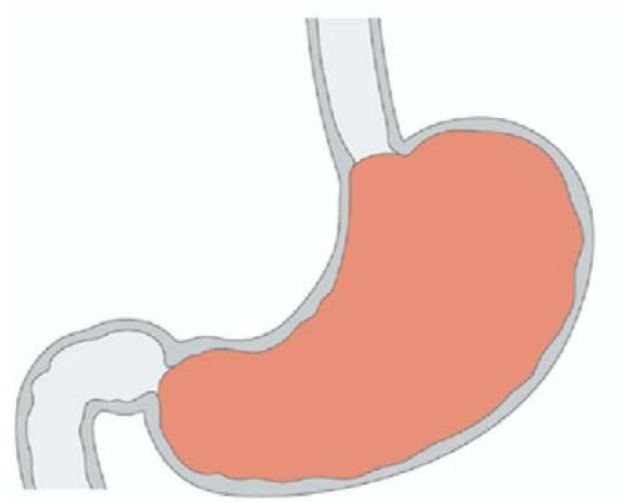


Figura 5: Resumo das atividades já encontradas com o monoterpeno β -mirceno

Esses resultados encontrados durante o desenvolvimento do mestrado nos instigaram a continuar a investigá-lo ainda mais. O passo seguinte foi avaliar se este monoterpene seria responsável também por uma atividade sobre o ácido gástrico. Considerando a relevância da reconstrução da mucosa após uma lesão, é fundamental a continuidade dos estudos para avaliar a ação cicatrizante do β -mirceno...

E os estudos continuaram...



*Referências
Bibliográficas*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ADAIR-KIRK, T. L.; SENIOR, R. M. Fragments of extracellular matrix as mediators of inflammation. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 40, n. 7, p. 1101-1110, 2008.

AIHARA, T.; Nakamura, E.; Amagase, K.; Tomita, K.; Fujishita, T.; Furutani, K.; Okabe, S.. Pharmacological control of gastric acid secretion for the treatment of acid-related peptic disease: past, present, and future. **Pharmacol. Ther.** , v. 98, p. 109-127, 2003.

ARRIETA, J., BENITEZ, J.; FLORES, E.; CASTILLO, C.; NAVARRETE, A. Purification of gastroprotective triterpenóides from stem bark of *Amphipterygium adstringes*; role of prostaglandins, sulfhydryls, nitric oxide and capsaicin-sensitive neurons. **Planta med.**, v. 69, p. 905-909, 2003.

BONAMIN, FLAVIA; MORAES, THIAGO M.; DOS SANTOS, RAQUEL C.; KUSHIMA, HÉLIO; FARIA, FELIPE M.; SILVA, MARCOS A.; JUNIOR, IVAN V.; NOGUEIRA, LEONARDO; BAUAB, TAIS M.; SOUZA BRITO, ALBA R.M.; ROCHA, LUCIA R.M.; HIRUMA-LIMA, CLÉLIA A. The effect of a minor constituent of essential oil from *Citrus aurantium*: the role of β -myrcene in preventing peptic ulcer disease. **Chemico-Biological-Interactions**, 2014 (paper aceito para publicação em janeiro/2014).

BORRELLI, F. & IZZO, A.A. The plant kingdom as a source of anti-ulcer remedies. **Phytother. Res.** V.14, p. 581 – 591, 2000.

COELHO, L. G. V. Úlcera péptica. Projeto diretrizes. Federação Brasileira de Gastroenterologia, Associação Médica Brasileira, **Conselho Federal de Medicina**, p. 12, 2003.

D'ACAMPORA, A. J. Perfil Epidemiológico Dos Pacientes Portadores De Úlcera Péptica Perfurada Atendidos No Centro Cirúrgico Do Hospital Florianópolis. **Rev. Med. Res.** vol. 10: 138, 2008.

DAJANI, E. Z.; KLAMUT, M. J. Novel therapeutic approaches to gastric and duodenal ulcers: an update. **Expert Opin. Investig. Drugs**, v. 9, p. 1537-1544, 2000.

EGAN, B.J., HOLMES, K.; O'CONNOR, H.J.; O'MORAIN, C. A.. *Helicobacter pylori* gastritis, the unifying concept for gastric diseases. **Helicobacter**, Vol.12 Suppl 2, p. 39-44, 2007.

EISIG, J. N.; ANDRÉ, S. B.; SILVA, F. M.; HASHIMOTO, C.; MORAES-FILHO, J. P. P.; LAUDANNA, A. A. The impact of *Helicobacter pylori* resistance on the efficacy of a short course pantoprazole based triple therapy. **Arq Gastroenterol.** v. 40, n.1, 2003.

FIORUCCI, S. Prevention of Nonsteroidal Anti – Inflammatory Drug- Induced Ulcer : Looking to the Future. **Gastroenterol Clin N Am**, v.38, p.315–332, 2009.

FISHER, A. A. & LE COUTEUR, D. G. Nephrotoxicity and hepatotoxicity of histamine H₂ receptor antagonists. **Drug Saf.**, v. 24, p. 39-57, 2001.

GEURTS, N.; OPDENAKKER, G.; VAN DEN STEEN, P. E. Matrix Metalloproteinases as therapeutic targets in protozoan parasitic infections. **Pharmacol. Ther.**, v. 133, n. 3, p. 257-279, 2011.

GONZALEZ, P.; SORIANO, V.; LÓPEZ, P.; NIVEIRO, E.. Anaphylaxis to proton pump inhibitors. **Allergol. Immunopathol.**, v. 30, p. 342-343, 2002.

GÜNTHER, E. & ALTHAUSEN, D. β -myrcene, in: E. Günther, (Ed.), **The Essential Oils. The Constituents of Essential Oils**. New York, pp. 8-10, 1949.

GUSTAFSON & WELLING. "No Acid, No Ulcer"—100 Years Later: A Review of the History of Peptic Ulcer Disease. **J Am Coll Surg**. vol. 210, 2010.

HOOGERWERF, W. A. & PASRICHA, P. J. Agents used for control of gastric acidity and treatment of peptic ulcers and gastroesophageal reflux disease. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E. **Goodmans & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 11. ed. New York: McGraw-Hill, 2005. p.1005-1020.

JAIN, K. S.; SHAH, A. K.; BARIWAL, J.; SHELKE, S. M.; KALE, A. P.; JAGTAP, J. R.; BHOSALE, A. V.. Recent advances in próton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorg. Med. Chem.**, v.15, p.1181-1205, 2007.

KATZUNG, B. C. **Farmacologia básica e clínica**. 10. ed. Porto Alegre: AMGH, 1060 p., 2010.

KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. **Berne & Levy fisiologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. cap. 26-30, p. 491-543.

KONTUREK, S.J., KONTUREK, et al. From nerves and hormones to bacteria in the stomach: nobel prize for achievements in gastrology during last century. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 56, p. 507-530, 2005

KUPAI, K.; SZUCS, G.; CSEH, S.; HAJDU, I.; CSONKA, C.; CSONT, T.; FERDINANDY, P. Matrix metalloproteinase activity assays: importance of zymography. **J. Pharmacol. Toxicol. Methods**, v. 61, n. 2, p. 205-209, 2010.

LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAWASKI, A. Reviews in basic and clinical gastroenterology. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, p. 135-141, 2008.

LAU, J.Y., SUNG, J., HILL, C., HENDERSON, C., HOWDEN, C.W., METZ, D.C. Systematic review of the epidemiology of complicated peptic ulcer disease: incidence, recurrence, risk factors and mortality. **Digestion**, v.84, p.102–113, 2011.

LEUNG, A. Y. **Encyclopedia of Commom Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics**. Wiley, New York, third edition, 1980.

MAJUMDAR, D., BEDD, J., ATHERTON, J., 2007. *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcers. **Medicine**, v. 35, p. 204-209.

MARCOLIN, M. A.; CANTARELLI, M. G.; GARCIA JUNIOR, M. Interações farmacológicas entre medicações clínicas e psiquiátricas. **Rev. Psiquiatr. Clín.**, v. 31, n. 2, p. 70-81, 2004.

-
- MARQUES, D.A., FOGLIO, M. A.; MORGANTE, P. G.; VAN SLUYS, M. A.; SHEPHERD, S. L. K. Biotechnology approaches for production of antiulcerogenic dihydro-epideoxyarteannuin B isolated from *Artemisia annua* L. **Rev. Bras. Farmacogn.**, 16: 291 – 299, 2006.
- MORAES, T. M.; KUSHIMA, H.; MOLEIRO, F. C.; SANTOS, R. C.; ROCHA, L. R. M.; MARQUES, M. O.; VILEGAS, W.; HIRUMA-LIMA, C. A. Effects of limonene and essential oil from *Citrus aurantium* on gastric mucosa: Role of prostaglandins and gastric mucus secretion. **Chemico-Biological Interactions**, 180, 499–505, 2009.
- OCHI, T.; Shibata, H., Higuti, T., Kodama, K. H., Kusumi, T.; Takaishi, Y. Anti-*Helicobacter pylori* Compounds from *Santalum album*. **Journal of Natural Products**. v. 68. n. 6, 2005.
- RA, A. & TOBE, S. W. Acute interstitial nephritis due to pantoprazole. **Ann. Pharmacother.**, v. 38, p. 41-45, 2004.
- RODRIGUEZ, J.A., HIRUMA-LIMA, C.A., SOUZA BRITO, A.R. Antiulcer activity and subacute toxicity of transdehydrocrotonin from *Croton cajucara*. **Hum. Exp. Toxicol.**, 23: 455 – 461, 2004.
- ROY, S.; SAMANTA, K.; CHAKRABORTI, T.; CHOWDHURY, A.; CHAKRABORTI, S. Role of TGF- β and TNF- α in IL-1 β mediated activation of proMMP-9 in pulmonary artery smooth muscle cells: Involvement of an aprotinin sensitive protease. **Arch. Biochem. Biophys.**, v. 513, n. 1, p. 61-69, 2011.
- SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Curr. Opin. Gastroenterol.**, v. 20, p. 519-525, 2004.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. & YESILADA, E. Traditional medicine and gastroprotective crude drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, 100, 61-66, 2005.
- SCHUBERT, M.; PEURA, D. A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v. 134, p.1842-1860, 2008.
- SHAHIN, M.; KONTUREK, J.W.; POHLE, T.; SCHUPPAN, D.; HERBST, H. W. Domschke. Remodeling of extracellular matrix in gastric ulceration. **Micros. Res. Technique**, 53: 396-408, 2001.
- SIEPLER, J. K.; MAHAKIAN, K.; TRUDEAU, W. T. Current concepts in clinical therapeutics: peptic ulcer disease. **Clin. Pharm.**, v. 5, n. 2, p. 128-142, 1986.
- SMITH, L. A. & RIVERS, A. B. History. In: _____. Peptic ulcer: pain patterns diagnosis and medical treatment. New York: Appleton-Century-Crofts, 1953. p. 1-10.
- SPINALE, F. G. Matrix metalloproteinase: regulation and dysregulation in the failing heart. **Circ. Res.**, v. 90, n. 5, p. 520-530, 2002.
- SUN, F.; SONG, Y., G.; CHENG, W.; ZHAO, T.; YAO, Y. L. Gastrin, somatostatin, G and D cells of gastric ulcer in rats. **World J. Gastroenterol.**, v. 8, p. 375-378, 2002.
- SZABO, S. & VINCZE, A. Growth factors in ulcer healing: lessons from recent studies. **J. Physiol.**, v. 94, n. 2, p. 77-81, 2000.

SZLACHCIC, A.; MAJKA, J.; STRZALKA, M.; SZMYD, J.; PAJDO, R.; PTAK-BELOWSKA, A.; KWIECIEN, S.; BRZOZOWSKI T. Experimental healing of preexisting gastric ulcers induced by hormones controlling food intake ghrelin, orexin-A and nesfatin-1 is impaired under diabetic conditions. A key to understanding the diabetic gastropathy? **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.64, p.625-637, 2013.

TARNAWSKI, A. S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Dig. Dis. Sci.**, v. 50, p. 24-33, 2005.

TARNAWSKI, A.S., AHLUWALIA, A., JONES, M.K. The mechanisms of gastric mucosal injury: focus on microvascular endothelium as a key target. **Current Medicinal Chemistry** 19,4–15, 2012.

THORSEN, K., SØREIDE, J. A., KVALØY, J, T., GLOMSAKER, T., SØREIDE, K. Epidemiology of perforated peptic ulcer: age- and gender- adjusted analysis of incidence and mortality. **World Journal of Gastroenterology**, v.19, p.347–354, 2013.

TYRGAT, G. N.; RAUWS, E. A. Significance of *Campylobacter pylori*. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v. 1, p. 1, p. 527-539, 1986.

VANHOUTTE, D.; VANHOUTTE, D.; SCHELLINGS, M.; PINTO, Y., HEYMANS, S. Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: a temporal and spatial window. **Cardiovasc. Res.**, v. 69, n. 3, p. 604-613, 2006.

VISSE, R. & NAGASE, H. Review Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. **Circ Res.** v. 2; 92, p.827-39, 2003.

WALLACE, J. L. Recent advances in gastric ulcers therapeutics. **Curr. Opin. Pharmacol.**, v. 5, n. 6, p. 573-577, 2005.

WALLACE, J. L. Prostaglandin, NSAIDs, and gastric mucosal protection: why doesn't the stomach digest itself. **Physiol. Rev.**, v. 88, p. 1547-1565, 2008.

YANG, N.; LIU, S. M.; ZHENG, L. F.; JI, T.; LI, Y., MI, X. L.; XUE, H.; REN, W.; XU, J. D.; ZHANG, X. H.; LI, L. S.; ZHANG, Y.; ZHU, J. X. Activation of submucosal 5-HT₃ receptors elicits a somatostatin-dependent inhibition of ion secretion in rat colon. **Br. J. Pharmacol.**, v. 159, p. 1623-1635, 2010.

YEOMANS, N. D. & NAESDAL, J. Systematic review: ulcer definition in NSAID ulcer prevention Trials. **Aliment Pharmacol Ther** v.27, p.465–472, 2008.

ZAYACHKIVSKA, O.S.; KONTUREK, S. J.; DROZDOWICZ, D.; KONTUREK, P.C.; BRZOZOWSKI, T.; GHEGOTSKY, M.R.. Gastroprotective effects of flavonoids in plant extract. *J. Physiol. Pharmacol.*, v. 56, p. 219-231, 2005.

ZLABEK, J. A. & ANDERSON, C. G. Lansoprazole induced thrombocytopenia. *Ann. Pharmacother.*, v. 36, p. 809-811, 2002.