



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA
CURSO DE BIOMEDICINA**

SAMARA SOUSA DE PINHO

ESTUDO DO EFEITO GASTROPROTETOR DA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium occidentale*) CARBOXIMETILADA NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS SWISS

PARNAÍBA - PIAUÍ
2021

SAMARA SOUSA DE PINHO

ESTUDO DO EFEITO GASTROPROTETOR DA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium occidentale*) CARBOXIMETILADA NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS SWISS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Coordenação do curso de Biomedicina da Universidade Federal do Delta do Parnaíba, como requisito obrigatório para aprovação na disciplina de TCCIII.

Orientador: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros.

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Delta do Parnaíba
Biblioteca Prof. Cândido Athayde
Serviço de Processamento Técnico

P654e Pinho, Samara Sousa de

Estudo do efeito gastroprotetor da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale*) carboximetilada na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos swiss [recurso eletrônico] / Samara Sousa de Pinho. – 2021.

1 Arquivo em PDF

Monografia (Bacharel em Biomedicina) - Universidade Federal do Delta do Parnaíba, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros.

1. Polissacarídeo. 2. Úlcera Gástrica. 3. Álcool. 4. Carboximetilação. I. Título.

CDD: 572

SAMARA SOUSA DE PINHO

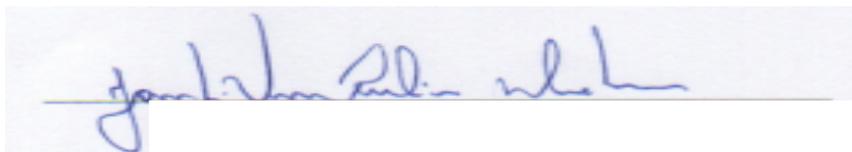
ESTUDO DO EFEITO GASTROPROTETOR DA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium occidentale*) CARBOXIMETILADA NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS SWISS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Coordenação do curso de Biomedicina da Universidade Federal do Delta do Parnaíba, como requisito obrigatório para aprovação na disciplina de TCCIII.

Orientador: Prof. Dr^o Jand Venes Rolim Medeiros.

APROVADA EM 15/06/2021

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros

(Orientador) Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr



Msc. Letícia de Sousa Chaves

Universidade Federal do Delta do Parnaíba – UFDPAr



Msc. Ana Patrícia de Oliveira

Universidade Federal do Piauí – UFPI

Dedico, à Deus, ao meu filho e a minha mãe, alegrias da minha vida, minhas Inspirações e razões de viver que, com muito apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por seu amor imensurável, pelo dom da vida e por toda força e coragem todas as vezes que pensei em desistir, pois sem Ele nada poderia acontecer, existir ou se realizar em minha vida. Obrigada Senhor!

Ao meu tão amado filho **Andrew**, talvez você nem saiba o quanto é responsável pela minha formação pessoal e profissional. Tudo que faço é por você e para você, espero que um dia tenha por mim a metade do orgulho que tenho de você;

A minha mãe, **Antonia** que sempre esteve ao meu lado, incondicionalmente. Mesmo nos momentos mais difíceis, que não foram raros neste último ano, sempre me fazendo acreditar que para tudo há um propósito e que eu posso chegar ao final desta difícil, mas importante etapa da minha vida, te agradeço mãe por ser meu exemplo e base para continuar;

Ao meu orientador, **Jand** por ter me aceito como orientanda, obrigada pela disponibilidade, orientações para que pudesse concluir mais uma etapa da minha vida. Desde o dia em que entrei no LAFIDG pela primeira vez, jamais houve um dia em que não tenha aprendido algo. Obrigada por ser um exemplo pessoal e profissional para seus alunos e por estar sempre disposto a nos ouvir e ensinar. Sou muito grata por ter acreditado em meu potencial, garra e força de vontade;

Agradeço aos meus amigos do laboratório LAFIDG. Aos alunos de iniciação científica **Antônio, Katriane, Darllan** e em especial minha grande amiga **Gabrielle**, obrigada por tudo e por tanto. Aos mestrandos, doutorandos e doutores **Gabriella, André, Isabela, Priscila, Bruno, Nayara, Beatriz, Andreza, Jelson, Esley** e em especial a **Patrícia** por aceitar participar da minha banca avaliadora e a **Letícia** por assim como ter aceitado participar da minha banca de TCC ter me auxiliado e esclarecido todas as dúvidas referentes à elaboração deste trabalho sempre que precisei. Obrigada por terem sido minha segunda família e ter me proporcionado momentos de alegria, companheirismo e solidariedade, quando tudo parecia difícil;

Aos laboratórios **BIOTEC** e **LAPHIS**, obrigada por possibilitarem a realização de algumas análises, tornando possível a realização desse trabalho;

A minha irmã **Sabrina** e meu sobrinho **Ícaro** por estarem sempre presentes em minha vida e pela compreensão neste período que passou, desculpa pela ausência em dias especiais. Sei que muitas vezes é complicado entender o que tudo isso representa para quem está fora, mas sempre pude contar com vocês;

Aos demais familiares e amigos, em especial ao **Adriano**, minha gratidão e carinho, obrigada por toda força, por segurar minha mão e não me deixar cair, poucos sabem, mas sem seu apoio nada disso seria possível, espero um dia retribuir tanto amor;

Aos meus amigos de graduação, trabalhos e seminários **Dénis Miguel, Bruno, Lineker** e em especial a **Julyanne** que desde o primeiro dia de curso senti-me extremamente acolhida com todo o carinho e apoio que recebi de você. Muitas vezes precisamos de pessoas que iluminem nossos caminhos para podermos enxergar que existe sim uma solução. Obrigada por ter sido minha dupla e por nos darmos tão bem, espero levar nossa amizade para o resto da vida;

Aos meus companheiros de liga, agradeço a todos os integrantes da LAMIC por todos os momentos especiais e dedicados ao conhecimento;

À todos os professores do curso de biomedicina, obrigada por todos os conhecimentos repassados com tanto profissionalismo nessa profissão que espero um dia trilhar;

Por fim, não poderia deixar de agradecer aqueles que não foram citados aqui, mas que de alguma maneira estiveram presentes me apoiando e contribuindo para minha formação, me ajudando nessa longa e árdua caminhada.

Obrigada a cada um de vocês a palavra gratidão faz ainda mais sentido na minha vida. Quero que saibam que somos fortes e capazes de alcançar todos os nossos sonhos, mas a verdade é que ninguém é capaz de fazê-lo sozinho, somos dependentes daquela mão amiga, daquele conselho, daquele abraço de pessoas enviadas por Deus para nos ajudar nessa jornada.

“A verdadeira viagem de descobrimento não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos”.

Marcel Proust

RESUMO

A Úlcera gástrica é considerada uma das doenças mais prevalentes do século XXI, cerca de 20-60 casos por 100.000 habitantes. Um dos fatores associados a distúrbios do trato gastrointestinal é o alto consumo de bebidas alcoólicas que induzem um processo inflamatório resultando em lesões na mucosa. Os medicamentos mais comuns usados no tratamento das lesões gástricas podem estar associados a algumas reações adversas, como dores de cabeça, tonturas e doenças gastrointestinais. Nesse caso, torna-se necessário a realização de estudos que busquem encontrar novas alternativas de tratamento. Os produtos naturais, durante anos, são usados pela medicina popular, na qual os polissacarídeos obtidos de plantas são considerados fontes ricas em compostos bioativos, por possuírem características que favorecem alterações de suas estruturas. Os polissacarídeos, se tornaram alvo de estudos das modificações químicas que buscam melhorar suas propriedades físico-químicas, tais como solubilidade, massa molecular, estrutura molecular e ramificações, sendo a Goma do Cajueiro (GC) um polissacarídeo extraído através do exsudato de *Anacardium occidentale* um dos compostos promissores, devido a sua aplicação biotecnológica na formulação de nanopartículas, possuindo atividades farmacológicas com efeitos antimicrobiano, antidiarreico e anti-inflamatório. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo realizar modificação química da GC pelo processo de carboximetilação e avaliar atividade protetora da goma do cajueiro carboximetilada (GCC) em modelo experimental de lesão gástrica induzida por etanol 50% em camundongos swiss. A atividade gastroprotetora da goma foi avaliada no modelo experimental de úlceras gástricas induzidas por etanol 50%. O protocolo experimental foi aprovado pela CEUA/UFPI, protocolo n° 009/19. Para tanto, foram utilizados camundongos Swiss machos e fêmeas (25-30g), mantidos à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e ciclo claro/escuro de 12 h, com acesso livre a água e ração. Os animais foram mantidos com restrição de alimentos sólidos 18 h antes do experimento, com acesso livre a água. Os animais foram divididos em 3 grupos (n=6). Inicialmente os animais foram pré-tratados com GCC na dose de (60mg/kg v.o) e salina 0,9%, 1 hora após o pré-tratamento foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g v.o). Depois de 1h, foi realizada a eutanásia e posteriormente os estômagos foram abertos para determinação da área da lesão (análise macroscópica) e os fragmentos de tecidos foram removidos para análise microscópica e análises de SOD e MDA. No FT-IR da GC apresentou vibrações nas bandas características de polissacarídeos. O FT-IR da GCC mostraram alongamento das bandas nas regiões características de modificação por carboximetilação. As lesões gástricas foram examinadas macroscopicamente, e procederam-se análises histopatológicas. Os resultados mostraram que o tratamento com a GCC na dose de 60 mg/kg por via oral reduziu a formação de lesão gástrica no modelo experimental, observado tanto em nível macroscópico como microscópico dos animais pré-tratados que mantiveram a integridade tecidual e preveniu as alterações morfológicas induzidas por etanol nas células. Tais efeitos protetores também foram evidenciados pela capacidade das mesmas de atuar elevando os níveis de SOD. Além de diminuir os níveis de MDA de amostras gástricas de animais pré-tratados com a GCC submetidos à lesão por etanol. Em conjunto, os resultados do presente trabalho trazem evidências de que GCC pode apresentar papel gastroprotetor em camundongos.

Palavras-chave: Polissacarídeo, Úlcera Gástrica, Álcool, Carboximetilação.

ABSTRACT

Gastric ulcer is considered one of the most prevalent diseases of the 21st century, around 20-60 cases per 100,000 inhabitants. One of the factors associated with gastrointestinal tract disorders is the high consumption of alcoholic beverages that induce an inflammatory process resulting in mucosal damage. The most common medications used to treat gastric lesions may be associated with some adverse reactions, such as headaches, dizziness and gastrointestinal illnesses. In this case, it is necessary to carry out studies that seek to find new treatment alternatives. Natural products have been used for years by folk medicine, in which polysaccharides obtained from plants are considered rich sources of bioactive compounds, as they have characteristics that favor changes in their structures. Polysaccharides have become the target of studies of chemical modifications that seek to improve their physicochemical properties, such as solubility, molecular weight, molecular structure and ramifications, with Gum Cajueiro (CG) being a polysaccharide extracted through the exudate of *Anacardium occidentale* a of promising compounds, due to its biotechnological application in the formulation of nanoparticles, having pharmacological activities with antimicrobial, antidiarrheal and anti-inflammatory effects. Thus, the present work aimed to carry out chemical modification of CG by the carboxymethylation process and to evaluate the protective activity of carboxymethylated cashew gum (GCC) in an experimental model of gastric injury induced by 50% ethanol in Swiss mice. The gastroprotective activity of the gum was evaluated in the experimental model of gastric ulcers induced by 50% ethanol. The experimental protocol was approved by CEUA/UFPI, protocol n° 009/19. For this purpose, male and female Swiss mice (25-30g), kept at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ and 12 h light/dark cycle, with free access to water and feed, were used. The animals were kept with solid food restriction 18 h before the experiment, with free access to water. The animals were divided into 3 groups (n=6). Initially the animals were pretreated with GCC at a dose of (60mg/kg v.o) and 0.9% saline, 1 hour after pretreatment 50% ethanol (0.5ml/25g v.o) was administered. After 1h, euthanasia was performed and then the stomachs were opened to determine the lesion area (macroscopic analysis) and tissue fragments were removed for microscopic analysis and SOD and MDA analysis. In the FT-IR of the CG it presented vibrations in the characteristic bands of polysaccharides. The FT-IR of the GCC showed elongation of the bands in the characteristic regions of modification by carboxymethylation. Gastric lesions were examined macroscopically, and histopathological analyzes were performed. The results showed that treatment with GCC at a dose of 60 mg/kg orally reduced the formation of gastric lesions in the experimental model, observed both at the macroscopic and microscopic levels of pre-treated animals, which maintained tissue integrity and prevented alterations morphological changes induced by ethanol in cells. Such protective effects were also evidenced by their ability to act by raising SOD levels. In addition to decreasing the MDA levels of gastric samples from animals pretreated with GCC submitted to ethanol injury. Together, the results of the present work provide evidence that GCC may have a gastroprotective role in mice.

Keywords: Polysaccharide, Gastric Ulcer, Alcohol, Carboxymethylation.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AINES: Antinflamatórios não esteroidais
ANOVA: Análise de variância unidirecional
CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais
CO: Monóxido de carbono
COBEA: Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
E.P.M: Erro padrão da média
EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA: Ensaio de imunabsorbância ligado a enzima
EROS: Espécies reativas de oxigênio
FTIR: Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier
GC: Goma do cajueiro
GCC: Goma do cajueiro carboximetilada
MDA: Malondialdeído
MFA: Microscopia de força atômica
NO: Óxido nítrico
SAL: Salina
SOD: Superóxido dismutase
TGI: Trato gastrointestinal
UG: Úlcera gástrica
V.O: Via oral

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Anatomia do estômago.....	14
Figura 2: Fotografia mostrando o tronco do cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i>)	19
Figura 3: Representação de um fragmento estrutural da goma do cajueiro (GC).....	20
Figura 4: Representação esquemática – Protocolo Lesão Gástrica induzida por etanol a 50%.....	25
Figura 5: Espectros FTIR correspondente à goma do cajueiro (GC) e goma do cajueiro carboximetilada(GCC)	28
Figura 6: Efeitos Macroscópicos da mucosa gástrica de camundongos swiss submetidos à lesões gástricas induzidas por etanol e pré-tratados com GCC.....	29
Figura 7: Avaliação macroscópica do envolvimento da GCC na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos swiss.....	30
Figura 8: Alterações histopatológicas na mucosa do estômago na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos.....	32
Figura 9: Avaliação do efeito da GCC sobre os níveis de SOD na mucosa gástrica lesionada por etanol em camundongos swiss.....	33
Figura 10: Determinação do níveis de malondialdeído (MDA) em camundongos swiss pré-tratados com GCC na lesão gástrica induzida por etanol.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Escores histopatológicos na lesão aguda induzida por etanol.....	31
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 FISIOLOGIA E ANATOMIA DO ESTÔMAGO.....	14
2.2 FISIOPATOLOGIA DA ÚLCERA GÁSTRICA.....	15
2.2.1 Fisiologia do etanol na úlcera gástrica.....	16
2.2.2 Epidemiologia da úlcera gástrica.....	16
2.2.2 Tratamento da úlcera Gástrica.....	17
2.3 PRODUTOS NATURAIS – POLISSACARÍDEOS.....	18
2.4 GOMA DO CAJUEIRO.....	19
2.5 CARBOXIMETILAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS.....	21
3 OBJETIVOS.....	22
3.1 OBJETIVO GERAL.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
4 METODOLOGIA.....	23
4.1 DROGAS E REAGENTES.....	23
4.2 OBTENÇÃO DA GOMA DO CAJUEIRO.....	23
4.3 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DA GOMA.....	23
4.4 MODIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS POLISSACARÍDEOS OBTIDOS DA GOMA DO CAJUEIRO.....	23
4.4.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de fourier.....	23
4.5 ANIMAIS E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	24
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA GOMA CARBOXIMETILADA NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS.....	24
4.7 MODELO DE LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL E ANÁLISE MACROSCÓPICA.....	24
4.8 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA MUCOSA GÁSTRICA.....	26
4.9 AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO COM GCC NOS NÍVEIS DE SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL 50%.....	26
4.10 AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO COM GCC NOS NÍVEIS DE MALONDIALDEÍDO (MDA) NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL 50%.....	26
4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	27
5 RESULTADOS.....	28
5.1 MODIFICAÇÃO QUÍMICA DA GOMA DO CAJUEIRO.....	28
5.2 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO EFEITO GASTROPROTETOR DA GCC NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS SWISS.....	29

5.3 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA MUCOSA GÁSTRICA DE CAMUNDONGOS PRÉ-TRATADOS COM GCC E/OU ETANOL EM CAMUNDONGOS SWISS.....	30
5.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA GCC SOBRE A ATIVIDADE DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) NO MODELO DE LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL.....	33
5.5 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE MALONDIALDEÍDO (MDA) NO EFEITO GASTROPROTETOR DA GCC NO MODELO DE LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL 50%.....	34
6 DISCUSSÃO.....	
Erro! Indicador não definido.	
7 CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
ANEXO – Carta de Aprovação do Comitê de Ética.....	51

1 INTRODUÇÃO

A Úlcera gástrica (UG) é considerada uma das doenças mais prevalentes do século XXI, cerca de 20-60 casos por 100.000 habitantes, sendo esta responsável por 10% da mortalidade em todo o mundo. Um dos fatores associados a estes distúrbios do trato gastrointestinal é o alto consumo de bebidas alcoólicas, que quando não tratada, levam a complicações sérias (WHO, 2018a; FAHMY et al., 2020).

Atualmente as opções terapêuticas da UG incluem antagonistas do receptor H2 da histamina, inibidores da bomba de prótons e antiácidos (TONETO; MOCELIN; ITAQUI, 2011). No entanto, o uso desses fármacos como agentes terapêuticos podem estar associados a efeitos colaterais graves como hipersensibilidade, arritmia, impotência, ginecomastia e alterações hematopoiéticas (PALLE; KANAKALATHA; KAVITHA, 2018; AL-SAYED et al., 2020).

A falta de fármacos eficazes e seguros para este problema de saúde mundial exige rapidez em novas formas terapêuticas, que possuam segurança e atividade contra a doença (KWON et al., 2019). Os produtos naturais têm sido alvo de pesquisas para a produção de medicamentos derivados de plantas, árvores ou folhas, sendo considerada a principal fonte para descobertas de novas terapias (KINGHORN et al., 2011).

A goma do cajueiro (GC) é um heteropolissacarídeo ácido ramificado de baixa viscosidade extraído da árvore da *Anacardium occidentale*. Alguns estudos demonstraram atividades biológicas desempenhadas pela GC, dentre elas destacam-se o seu efeito anti-inflamatório (DA SILVA et al., 2018), antimicrobiano (TORQUATO et al., 2004), antidiarreico (ARAÚJO et al., 2015), assim como, efeitos gastroprotetores (CARVALHO et al., 2015).

Alguns métodos de modificação química dos polissacarídeos como a carboximetilação buscam favorecer as propriedades físicas e químicas, auxiliando no aumento de solubilidade em água, aumento da interação com o alvo no organismo, e conseqüentemente melhora seus efeitos biológicos pela inserção de novos grupos funcionais. (MOCANU et al, 2014; DOURADO, 2019). As vantagens dessas reações incluem a facilidade de processamento, menor custo e a não toxicidade dos produtos (MELO et al., 2020).

Diante desse contexto, o objetivo desse estudo busca realizar modificação química pelo processo de carboximetilação visando a produção de um polieletrólito, buscando melhorar a atividade da goma natural e avaliar a atividade gastroprotetora da Goma do cajueiro carboximetilada (GCC) em modelo experimental de lesão gástrica induzida por etanol.

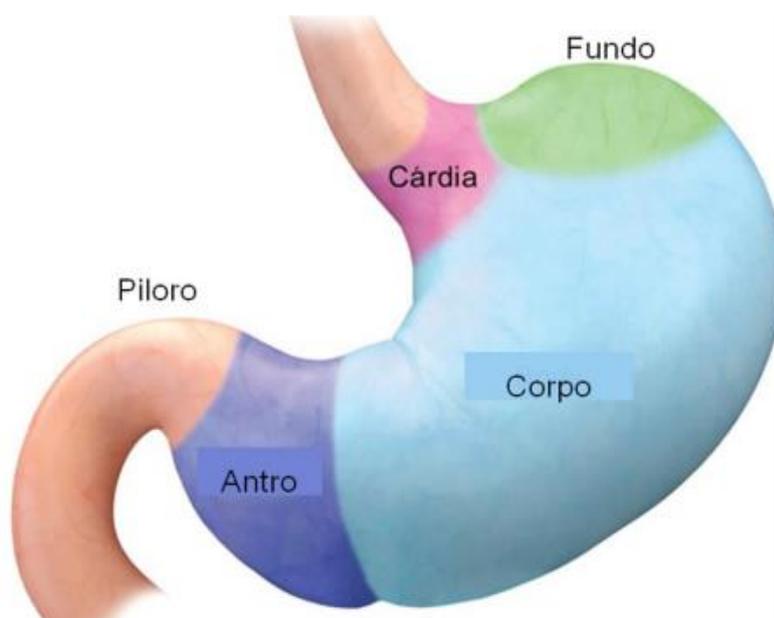
2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 FISIOLOGIA E ANATOMIA DO ESTÔMAGO

O trato gastrintestinal (TGI) trata-se de um tubo composto pela cavidade oral, faringe, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso, reto, ânus e glândulas secretoras anexas, sendo este responsável pela digestão e absorção dos nutrientes funcionando, como uma barreira seletiva de proteção entre o meio externo e o interno (SCHNEIDER, 2014; ESTRELA, 2016). Seu revestimento compreende as camadas da mucosa (epitélio, lâmina própria e muscular da mucosa), submucosa, muscular externa (músculo circular e longitudinal), plexos nervosos e serosa (FERREIRA, 2005).

A motilidade, secreção, digestão, absorção e excreção são os principais processos fisiológicos realizados pelo TGI. O estômago apresenta-se na forma de uma bolsa e está compreendido entre o esôfago e o intestino delgado. O alimento ao ser deglutido se deposita temporariamente em seu interior (SCHUBERT; PEURA, 2008). Anatomicamente, o estômago é subdividido em regiões: a cárdia que contém glândulas secretoras de muco; região oxíntica localizada no corpo do estômago e suas glândulas contêm células parietais e células principais; e região antro-pilórica que contém células G, secretoras de gastrina e células D, secretoras de somatostatina (BIGHETTI; ANTÔNIO; CARVALHO, 2002).

Figura 1: Anatomia do estômago



Fonte: KANG et al., 2013.

O estômago secreta o suco gástrico, que contém HCl, pepsinogênio, muco, fator intrínseco, gastrina, lipase, bicarbonato, histamina e somatostatina. É constituído por secreções proveniente das células da superfície epitelial e glândulas gástricas, formadas principalmente de H⁺ que converte pepsinogênio (secretado pelas células P) em pepsina e impede a entrada de bactérias e patógenos (LIMA et al., 2016). Para proteção da mucosa gástrica contra esse ambiente ácido e péptico, o estômago secreta muco e bicarbonato. Sendo o bicarbonato retido no muco, protegendo a superfície do estômago contra os efeitos do H⁺ e das pepsinas (ALMEIDA, 2013).

O muco aderido à mucosa gástrica é constituído por glicoproteínas denominada mucina, sendo esta camada insolúvel em água dando proteção ao epitélio contra ácido, pepsina e outros agentes necrozantes, como álcool e AINES, contribuindo na recuperação da injúria gástrica (BIGHETTI; ANTÔNIO; DE CARVALHO; 2012; SCHUBERT, 2014). A mucosa gástrica está continuamente exposta a fatores e substâncias nocivas. Para mantê-la intacta, existem muitos mediadores e substâncias que ajudam a reduzir os danos gástricos, para que não se desenvolvam em lesões causadoras de úlceras. (ALLEN; FLEMSTROM, 2005).

2.2 FISIOPATOLOGIA DA ÚLCERA GÁSTRICA

A fisiopatologia da úlcera gástrica (UG) é multifatorial e ainda não foi totalmente esclarecida. Trata-se de uma doença crônica causada pela inflamação da membrana na mucosa gastrointestinal e os sintomas incluem dor epigástrica, queimação e desconforto (FANG et al., 2019). Essas lesões podem variar de acordo com a intensidade e profundidade, em casos graves levam a complicações como hemorragia e perfuração (OLIVEIRA et al., 2019).

De acordo com Caldas e colaboradores (2011), as úlceras são caracterizadas por danos na mucosa resultante da ação agressiva da pepsina e secreção ácida gástrica. Para ser produzida uma úlcera, é preciso haver perda da barreira, excesso de secreção de H⁺ e de pepsina ou uma combinação desses fatores. Pelo fato de tratar de uma lesão profunda da mucosa gástrica, pode atingir e destruir componentes do tecido epitelial e conectivo, miofibroblastos subepiteliais, células do músculo liso, vasos e nervos (MILANI; CALABRÒ, 2001).

A UG é representada por um complexo cenário de desequilíbrio entre fatores de defesa da mucosa (bicarbonato, muco, prostaglandinas, fluxo sanguíneo, óxido nítrico, fatores de crescimento, etc.) e fatores agressores que são os agentes químicos, que podem ser endógenos (HCl, pepsina) ou exógenos (etanol, AINES) e agente biológico como a bactéria *Helicobacter pylori* (ZHANG; REN; WONG, 2012).

O processo de ulceração é causado por vários mecanismos patogênicos que reduzem o efeito gastroprotetor sobre a mucosa. Esses fatores afetam a secreção de ácido na mucosa gástrica. Muitas vezes pode ser difícil determinar a causa etiológica dessa doença, já que fatores de risco como hereditariedade, fumo, *Helicobacter pylori*, abuso no consumo de álcool, dentre outros fatores, podem estar associados e tendem a interagir desencadeando a geração de radicais livres, além disso, levam à isquemia da mucosa (THORSEN et al., 2013; PALLE; KANAKALATHA; KAVITHA, 2018). Em pacientes com cirrose hepática, diabetes mellitus tipo 2 e distúrbios de saúde mental a UG é mais comum e sua ocorrência à longo prazo aumentam o risco de câncer de estômago (RAHMAN; DWIVEDI; JENA, 2020).

2.2.1 Fisiologia do etanol na úlcera gastrica

Uma das principais causas das lesões gástricas é o desequilíbrio entre fatores defensivos e agressivos, sendo, as úlceras induzidas pelo etanol provocadas por uma heterogeneidade de fatores, incluindo redução do fluxo sanguíneo na mucosa, liberação de metabólitos derivados do ácido araquidônico e histamina, como também dano ao endotélio capilar (JAISWAL; RAO, 2016).

A fisiopatologia dessa injúria ainda não está bem clara, porém acredita-se que o etanol leva a um dano direto na mucosa, através da liberação de mediadores inflamatórios e elevando os níveis de EROs, citocinas e substâncias vasoativas, ocasionando um processo inflamatório, com vasoconstrição e isquemia, que conseqüentemente resulta em morte celular, (KRON, 2008; KLEIN-JÚNIOR et al., 2017).

O consumo de álcool pode causar congestão da mucosa gástrica, edema, infiltração de células inflamatórias, apoptose de células epiteliais e hemorragia, resultando em ulceração da mucosa via sinalização oxidativa e inflamatória (MOAWAD et al., 2019). Assim como, aumentar as concentrações de EROs e conseqüentemente, o estresse oxidativo, no qual afeta proteínas, lipídeos, polissacarídeos, DNA, desencadeando a via intrínseca da apoptose (RICHTER; PARK; AMES, 1988; RUBBO et al., 1994; LEDOUX et al., 1999; STADTMAN; LEVINE, 2000; FAHMI et al., 2020).

2.2.2 Epidemiologia da úlcera gastrica

Nas últimas décadas há relatos que descrevem uma redução da prevalência da úlcera péptica tanto gástrica como duodenal, entretanto ainda permanece como uma das patologias que prevalece em todo o mundo. As complicações geradas pela úlcera tais como, sangramento e perfuração, são causas importantes de morbimortalidade (OLIVEIRA, 2019).

Analisando por faixa etária, o consumo abusivo de bebidas alcoólicas (ingestão de quatro ou mais doses de bebidas alcoólicas para mulheres, ou cinco ou mais doses para homens) cresce em todos os estados, exceto entre os adultos mais jovens (18 a 24 anos), onde há estabilidade de 2006 a 2017. (WHO, 2018a). No que diz respeito ao consumo diário de álcool no Brasil, a média, em 2016, foi de 41,7 g de álcool puro, o equivalente a cerca de 3 doses por dia. Essa estimativa é aproximadamente 27% superior à média mundial (WHO, 2018b).

A proporção dos óbitos atribuíveis ao álcool em relação ao total de óbitos apresenta discreta variação, com tendência à redução, de 5,83% em 2010 para 5,35% em 2017, sendo uma das maiores causas desses óbitos as doenças gastrointestinais (BRASIL, 2019). De acordo com a publicação Global Burden of Disease (GBD), o uso de álcool se destacou, em 2016, como o sétimo principal fator de risco para mortes prematuras e incapacitação no mundo todo. Pessoas com idades entre 15 e 49 anos foram as mais expostas. A carga total de danos à saúde atribuíveis aumenta com a progressão da quantidade de álcool consumida, sendo que a partir de 10g de álcool por dia já aumentaria o risco relativo de danos à saúde (GBD, 2016).

Diante dos dados discutidos, o consumo de álcool é um problema de saúde pública afetando a qualidade de vida de muitas pessoas, e aumentando riscos de doenças gastrointestinais. Portanto, novas pesquisas com o objetivo de reduzir ou prevenir esse tipo de dano tornam-se relevante.

2.2.2 Tratamento da Úlcera Gástrica

O tratamento da UG visa reestabelecer o equilíbrio da mucosa gastrointestinal que foi rompido, seja pelo aumento de fatores agressores ou pela diminuição de fatores defensivos locais ou por ambos (VIEIRA, 2013). Os medicamentos para o tratamento de úlcera gástrica são utilizados para a cura e/ou prevenção de úlceras recorrentes e alívio dos sintomas. Eles são destinados a neutralizar os fatores agressivos ou então estimular as defesas da mucosa (GADEKAR et al., 2010).

Os fármacos utilizados no tratamento da úlcera são divididos em: antiácidos, agentes anticolinérgicos, antagonistas de receptores H₂, inibidores da bomba de prótons e antibióticos usados para combater o *Helicobacter pylori*. (GADEKAR et al., 2010). Estudos para o desenvolvimento de medicamentos no tratamento de úlceras vêm apresentando avanços, porém, apontam limite em seu uso, devido aos diversos efeitos colaterais e alta taxa de recorrência de úlceras (AIHARA et al., 2003; JAIN et al., 2007).

A utilização de plantas medicinais para a gastroproteção foi avaliada em diversos estudos (ROZZA et al., 2011; CALDAS et al., 2014; BRITO et al., 2018). A busca por produtos

naturais eficazes, com menor toxicidade e de menor custo se deve ao fato dos fármacos sintéticos atualmente empregados na terapia muitas vezes agravarem a doença após o uso prolongado (GADEKAR et al., 2010).

2.3 PRODUTOS NATURAIS – POLISSACARÍDEOS

Os Produtos naturais como os derivados de plantas têm sido utilizados na medicina popular em todo o mundo para o tratamento de várias doenças e enfermidades como disfunção cognitiva, epilepsia, tosse, lepra, asma, paralisia, gota, reumatismo e distúrbios gastrointestinais, incluindo dispepsia e úlceras gástricas (PALLE; KANAKALATHA; KAVITHA, 2018). Atualmente os tratamentos ou prevenções de doenças através do uso de plantas mostram-se promissores para possíveis descobertas com grande potencial farmacológico, baseando-se em seu menor custo, eficácia, disponibilidade, pouco ou nenhum efeito adverso e variedade (SHARIFI-RAD et al., 2018).

Dessa forma os produtos naturais destacam-se como uma alternativa promissora para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos, com capacidade de minimizarem lesões e causar poucos efeitos colaterais no organismo vivo (LAHLOU, 2013). Uma vez que as plantas são as fontes de mais de 25% dos medicamentos prescritos e de venda livre, a medicina convencional está se tornando cada vez mais receptiva ao uso de medicamentos derivados de plantas e outros produtos naturais (CHINSEMBU, 2016).

Existe grande variedade de substâncias químicas isoladas de plantas, e extratos vegetais cujas atividades terapêuticas foram comprovadas em modelos experimentais de indução de úlcera, indicando, portanto, o grande potencial das plantas e de seus princípios ativos na descoberta de terapêuticas para úlceras pépticas (MOTA et al., 2009).

Os polissacarídeos são considerados polímeros macromoleculares essenciais nas atividades vitais e desempenha papéis importantes na adesão celular e reconhecimento molecular no sistema imunológico, composto por mais de 10 monossacarídeos através de ligações glicosídicas em cadeias lineares ou ramificadas e podem ser extraídos de plantas, microrganismos e algas, possuem baixa toxicidade e não causam efeitos colaterais significativos (DWEK et al., 1996; XU et al., 2016; YU et al., 2018).

O interesse pela bioatividade dos polissacarídeos, resultam em numerosos estudos que buscam sua utilização em tratamento de doenças devido a sua ampla variedade de atividades farmacológicas, como antitumoral e antioxidantes (YU et al., 2018). Seus efeitos também são demonstrados em processos inflamatórios nas respostas imunológicas, atuando na ativação ou suprimindo a resposta de células como leucócitos, eosinófilos e linfócitos, assim como, apresentam atividade antiulcerogênica e cicatrizante (YE et al., 2003; SRIKANTA et al., 2007).

A natureza aniônica desses polissacarídeos e sua alta capacidade de ligar-se a resíduos de aminoácidos de mucina, carregados positivamente, atuam de forma benéfica com efeitos antagonistas e imunitários sobre o trato gastrointestinal (ABBAS; LICHTMAN, 2005; SRIKANTA et al., 2007). As modificações químicas na estrutura desses polímeros pela introdução de novos grupos funcionais originam moléculas com grande potencial de aplicações biotecnológicas, sendo estas, alvo de estudos a fim de obter novas características físico-químicas com a caracterização química desses compostos (SILVA et al., 2004; LEUNG et al., 2006; QUELEMES et al., 2013; DOURADO, 2019).

2.4 GOMA DO CAJUEIRO

A goma do cajueiro é adquirida a partir da planta *Anacardium occidentale* conhecida como cajueiro, na qual é considerada de extrema importância e de valor econômico do nordeste brasileiro (SILVA, 2007). A partir dos frutos desta árvore são obtidos vários derivados, como por exemplo, refrigerantes, sucos, amêndoas, doces e polpas (AGUIAR et al., 2000; SILVA et al., 2018). As células epiteliais da casca do cajueiro produzem e armazenam de forma natural um exsudato conhecido como goma do cajueiro, sendo este, liberado em resposta a lesões mecânicas ou ataques de patógenos, como uma forma de proteção (MIRANDA, 2009).

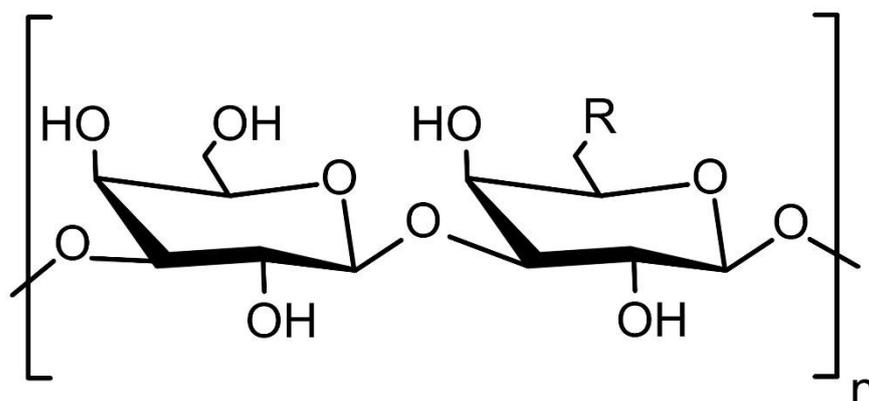
Figura 2: Fotografia mostrando o tronco do cajueiro (*Anacardium occidentale*).



Fonte: CHAVES, 2020.

O exsudado do cajueiro possui uma cor marrom escura e depois de ser secretado pela planta se torna rígido (SILVA, 2013). É um composto solúvel em água, mas que precipita em contato com solventes orgânicos polares, classificado como um heteropolissacarídeo complexo com estrutura bastante ramificada formada por uma cadeia principal de β -D-galactose ligada a cadeias laterais de glicose e galactose (PITOMBEIRA et al., 2015). É composta de aproximadamente 61% de galactose, 14% de arabinose, 8% de glicose, 7% de ramnose, 5% de ácido glicurônico, 1% de xilose e 2% de resíduos de açúcar. (SILVA et al, 2009).

Figura 3: Representação de um fragmento estrutural da goma do cajueiro (GC).



Fonte: CHAVES, 2020.

A GC possui uma cor amarelada, alta solubilidade em fluidos aquosos originando soluções de baixa viscosidade, e é facilmente precipitado com solventes orgânicos polares, como etanol, formando substâncias incolores, inodoras, insípidas e atóxicas. (SILVA et al., 2018) Sua estrutura molecular é composta principalmente de glicose, manose, galactose, arabinose, ramnose e ácido glucurônico (HASNAIN et al., 2018).

As características estruturais da GC se assemelham à goma arábica, despertando interesse em pesquisas que visam substituí-las. Dessa forma, utiliza-la na indústria farmacêutica apresentando-se como uma proposta para o desenvolvimento de produtos, no tratamento de doenças como a diarreia e agente anti-inflamatório, em cosméticos, como aglutinante de cápsulas e comprimidos, na indústria alimentícia como estabilizante de sucos, cervejas e sorvetes (ANDRADE; DE CARVALHO; TAKEITI, 2013). Em comparação a goma arábica, a GC possui alta disponibilidade no Nordeste do Brasil, podendo gerar lucros no

período da entressafra do caju, sendo, portanto, uma proposta economicamente atrativa no cenário brasileiro, devido ao elevado custo da goma arábica (ARAÚJO et al., 2015; BOTREL et al., 2017).

2.5 CARBOXIMETILAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS

Atualmente a utilização de polissacarídeos em pesquisas científicas tem crescido bastante. A modificação química de gomas é um método utilizado para alterar suas propriedades originais, dessa forma, melhorar a estrutura dessas moléculas para sua utilização, com o objetivo de aumentar o desempenho das suas atividades biológicas, assim como, minimizar as desvantagens associadas ao seu uso, tais como: taxas descontroladas de hidratação, solubilidade dependente do pH, espessamento, queda de viscosidade sob armazenamento, e além disso, de possível contaminação microbiana (LIANG et al., 2011; RANA et al., 2011; LIU et al., 2017; WANG et al., 2018).

Dentre os procedimentos de modificação, destacam-se acetilação a ligação cruzada, a ligação covalente com unidades de açúcar e unidades proteicas e a carboximetilação. (OLIVEIRA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2009; KUMAR et al., 2012; KARIMI; MOHAMMADIFAR, 2014) A carboximetilação trata-se de um processo de modificação química, na qual o polissacarídeo reage com o ácido monocloroacético e os grupos álcoois primário e secundário são substituídos por grupos carboxilas (SILVA et al., 2004).

A adição destes agrupamentos na cadeia polimérica, proporciona um aumento no caráter hidrofílico das gomas, tornando-a mais solúvel em soluções aquosas. Os biopolímeros hidrofílicos possuem unidades repetidas em sua estrutura, que em contato com qualquer solvente ionizante forma uma cadeia polimérica eletrolítica. Devido a esse caráter, as gomas carboximetiladas são consideradas polieletrólitos complexos (MICHAELS, 1965; SILVA et al., 2004; LANKALAPALLI; KOLAPALLI, 2009; DODI et al., 2011; MEKA et al., 2017).

Apesar de estudos demonstrarem vantagens relacionadas à goma do cajueiro, a sua utilização pode se limitar devido algumas características como, sua baixa viscosidade e pouca energia de ativação de fluxo, característico de um sistema com poucas interações intra e intermoleculares (DE PAULA; RODRIGUES, 1995; RICHTER, 2019). Portanto, a produção de um composto polieletrólítico pela carboximetilação da goma melhora suas atividades, propriedades possibilitando novos grupos reacionais.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar modificação química da goma do cajueiro pelo processo de carboximetilação, como também fazer ensaios *in vivo*, para avaliar possível atividade gastroprotetora da goma do cajueiro carboximetilada em modelo de lesão gástrica induzida por etanol em camundongos swiss.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar características físico-químicas;
- Realizar FTIR das gomas natural e carboximetilada;
- Realizar modelo de lesão gástrica induzida por etanol a 50%;
- Avaliar os efeitos macroscópicos da goma carboximetilada na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos;
- Analisar as alterações histopatológicas após a lesão ocasionada por etanol a 50%;
- Avaliar a atividade protetora da goma em dosagem da enzima antioxidante Superóxido dismutase (SOD);
- Verificar o efeito protetor da goma do cajueiro carboximetilada na mucosa gástrica, utilizando marcadores do estresse oxidativo através da concentração de Malondialdeído (MDA).

4 METODOLOGIA

4.1 DROGAS E REAGENTES

As amostras brutas do polissacarídeo foram obtidas pelo Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia – BIOTEC da Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Parnaíba-PI. O etanol utilizado foi obtido da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA) e os outros compostos químicos usados foram de grau analítico, e adquiridos por fornecedores comerciais padrão. Quando necessário para diluições, foi utilizada solução em salina (0,9%).

4.2 OBTENÇÃO DA GOMA DO CAJUEIRO

O exsudato da goma foi adquirido a partir do tronco da árvore do cajueiro (*Anacardium occidentale*) proveniente do município de Ilha Grande do Piauí localizado na Planície Litorânea Piauiense.

4.3 ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DA GOMA

O processo de isolamento e purificação da goma foi realizado seguindo a metodologia de Rodrigues, De Paula e Costa (1993). Com esse processo o rendimento foi de 87% da goma do cajueiro. A goma purificada, foi doada pelo Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC).

4.4 MODIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS POLISSACARÍDEOS OBTIDOS DA GOMA DO CAJUEIRO

O procedimento de modificação química por carboximetilação dos polissacarídeos foi realizado de acordo com o protocolo proposto por Silva et al. (2004), com alterações. Foram adicionados 5 ml de água nas gomas purificadas (5g) até se formar uma pasta homogênea. Logo após, foi adicionado uma solução de NaOH 10 M (volume de 11 ml) e essa combinação foi pressionada por 10 min. Em seguida, ácido monocloroacético (AMC) (5,25 g) foi cuidadosamente misturado com a pasta formada. A mistura foi conservada à temperatura aquecida de 55 °C, durante 3 horas. O conjunto foi neutralizado com HCl 1 M e dialisado contra água destilada até que todos os reagentes restantes ou sal adicionado fossem eliminados (4-5 dias). Os compostos sólidos carboximetilados foram recuperados pelo processo de liofilização. A razão molar de goma/NaOH /AMC utilizada foi de 1:4:2 e os derivados obtido foi denominado GCC.

4.1 Espectroscopia no infravermelho com transformada de fourier (FTIR)

Para observar os grupos funcionais presentes na GC isoladas e após a modificação GCC, foi realizada a análise por meio da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) (SHIMADZU IRAffinity-1S) (modelo 8300) entre 400 e 4000 cm^{-1} , usando a técnica de reflexão total atenuada (ATR).

4.5 ANIMAIS E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Para a execução dos experimentos foram utilizados camundongos Swiss (machos e fêmeas), com peso entre 25-30g, adquiridos do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí (UFPI). Os procedimentos foram realizados como especificado pelo Guia de Cuidado e Uso com Animais de Laboratório (National Institute of Health, Bethesda, MD, USA). Os animais foram acondicionados em caixas com xilana, com temperatura média de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e luminosidade controlada em ciclos de claro/escuro de 12 horas, com acesso a água e ração padrão *ad libitum*. Os grupos experimentais apresentaram um número entre 5 e 8 animais.

Todos os princípios e normas internacionalmente aceitas para o uso de animais em projetos de pesquisa, como também as normas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) foram respeitadas e seguidas. Todos os procedimentos estiveram de acordo com a Lei Federal 11.794 de outubro de 2008, ditada pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, com número de protocolo 009/19.

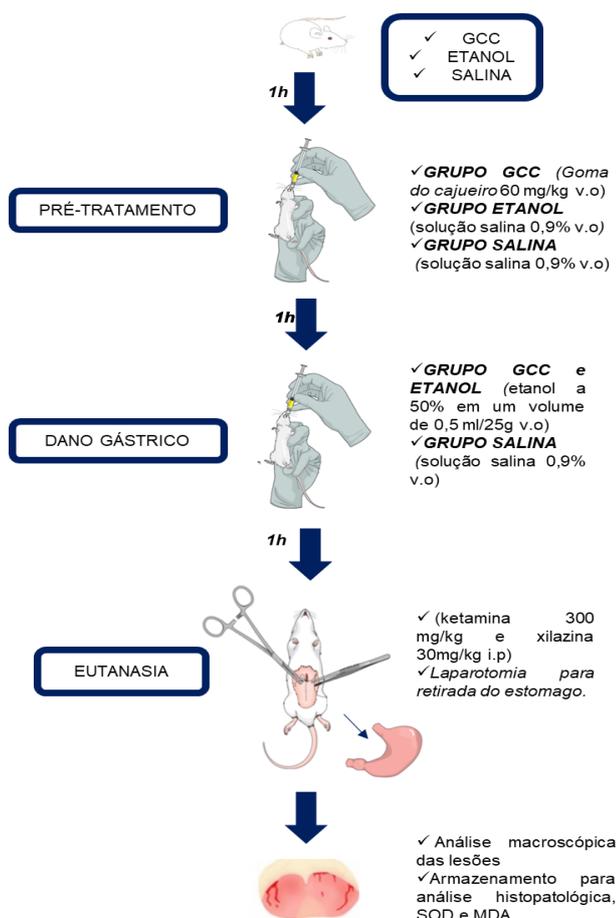
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA GOMA CARBOXIMETILADA NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS

Para a investigação de um possível efeito protetor da goma carboximetiladas na mucosa gástrica, foi realizado o protocolo seguindo Medeiros (2009a) e Pinto (2019) com modificações. Os animais foram divididos em 3 grupos ($n=5-7$) GCC (60mg/kg), salina (controle saudável) e etanol 50% (controle lesado), todos os grupos receberam administração por via oral (v.o).

4.7 MODELO DE LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL E ANÁLISE MACROSCÓPICA

Os animais do grupo GCC foram pré-tratados com dose de 60 mg/kg por v.o de goma do cajueiro carboximetilada. Os grupos salina e etanol receberam solução salina para sofrerem o mesmo estresse. Após 1 hora do pré-tratamento, o dano gástrico foi induzido pela administração de etanol a 50% (Sigma-Aldrich/ St. Louis, MO, EUA) em um volume de 0,5 ml/25g (v.o), e o grupo salina recebeu apenas salina, na proporção de 0,5ml/25g (v.o). Os animais foram eutanasiados 1 hora após a indução da lesão por etanol. Em seguida, foi feita uma incisão abdominal para retirada do estômago, na qual foi cuidadosamente lavado e aberto ao longo da curvatura maior, depois estirado em um suporte para ser fotografado com câmera digital para a análise macroscópica (MEDEIROS et al, 2008). No que diz respeito a área das lesões hemorrágicas, foi analisada por meio do software Image J. Além disso, amostras foram retiradas de tecido do corpo do estômago e fixadas em formol 10% para análises histológicas, e o restante de tecido foi congelado para análises posteriores. A figura abaixo representa o delineamento do protocolo experimental (Figura 4).

Figura 4: Representação esquemática – Protocolo Lesão Gástrica induzida por etanol a 50%.



4.8 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA MUCOSA GÁSTRICA

Para a avaliação histopatológica, amostras da mucosa gástrica de camundongos foi fixada em uma solução de formalina 10%, onde permaneceu por 18 horas. Logo após, as amostras foram transferidas para uma solução de etanol 70%. Para começar o processo de análise histológica, as amostras foram seccionadas e embebidas em parafina. Com auxílio de um micrótomo, foram cortadas seções de 4 micrometros de espessura, logo depois foram retiradas da parafina e colocadas numa lâmina e coradas com hematoxilina-eosina e examinadas com ajuda de um microscópio óptico de forma cega. Em resumo, a severidade da lesão gástrica foi avaliada seguindo os critérios descritos por Laine e Weinstein (1988): perda de células epiteliais (escores de 0 a 3), edema na superfície da mucosa (escores de 0 a 4), danos hemorrágicos (escores de 0 a 4) e infiltração de células inflamatórias (escores de 0 a 3), sendo 14 o escore máximo.

4.9 AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO COM GCC NOS NÍVEIS DE SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL 50%

A atividade de SOD foi avaliada seguindo o proposto por Sun, Oberley e Li (1988). A partir de amostras do tecido do estômago foi feito um homogenato a 10%, que em seguida foi centrifugado a 3000 rpm, por 15 minutos com temperatura de 4°C. Logo após, foi retirado 100µL do sobrenadante e colocado em outro tubo, e adicionado 1110 µL de tampão fosfato, descontando o que já foi adicionado desse tampão no homogenato, 40 µL de Triton X-100 (1% v/v), 75 µL de L-metionina (20mM), 100 µL de EDTA (50 µM) e 75 µL de cloreto de hidroxilamina (10 mM). Após adicionados todos os reagentes, os tubos foram colocados em banho-maria na temperatura de 37°C durante 5 minutos. Depois de um período necessário, com pouca luz, foi adicionado 80 µL de riboflavina (50 µM) e todos os tubos foram colocados em uma caixa adequada com luz branca no tempo de 10 minutos. Logo após, ainda sob pouca luz, 100 µL da solução preparada foi adicionada a poços da placa para Ensaio de Imunoabsorbância ligado a enzima (ELISA), com adição de 100 µL do reagente de Griess. Após 10 minutos, em temperatura ambiente, foi realizada a leitura em leitor de Elisa (550nm). No que diz respeito a dosagem de proteínas totais foi usado um kit do LABTEST. Com o valor da dosagem de proteínas totais foi calculado o valor de Unidade de SOD (ug) / ug de proteínas totais.

4.10 AVALIAÇÃO DO PRÉ-TRATAMENTO COM GCC NOS NÍVEIS DE MALONDIALDEÍDO (MDA) NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL 50%

Para avaliação da injúria tecidual após os tratamentos, a metodologia foi realizada de acordo com Uchiyama e Mihara (1978). De forma sucinta, as amostras da região glandular do estômago foram homogeneizadas em KCl a 1,15%, e alíquotas de 250 µl do homogenato foram colocadas em tubos contendo 1,5 mL de H₃PO₄ a 1% e 500 µl de uma solução de ácido Tiobarbitúrico 0,6%. Os tubos foram agitados e a solução foi aquecida em banho-maria a 100°C por 45 min. Após o tempo necessário realizou-se um choque térmico com a utilização de água gelada e cubos de gelo, depois do resfriamento foram adicionados 2 mL de n-butanol, os conteúdos foram misturados por 1 minuto com a utilização de um vortex e em seguida as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 4000 rpm. Nesta análise, a absorbância do sobrenadante foi mensurada em 520 e 530 nm. E com relação as concentrações de MDA, foram expressas como nmol/g de tecido, de acordo com uma curva padrão.

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

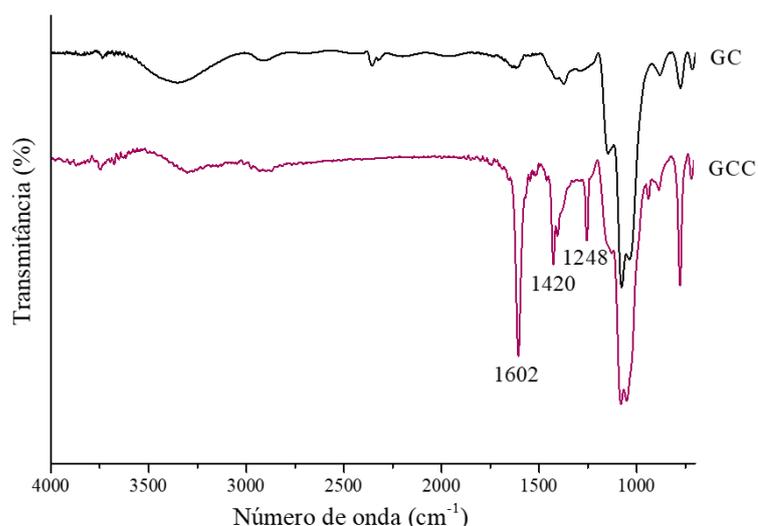
Para realizar as análises da significância estatística da diferença entre os grupos foi utilizado o teste pela análise de variância unidirecional (ANOVA), seguido pelo pós-teste de Student-Newman-Keuls. Os resultados foram tabelados como média ± erro padrão da média (E.P.M), sendo as diferenças consideradas significativas quando $p < 0,05$. Para avaliação da análise histológica, foi usado o teste não para métrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunn para comparações múltiplas, onde diferenças consideradas significativas quando $p < 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas a partir do programa GraphPad Prism, software versão 7.

5 RESULTADOS

5.1 MODIFICAÇÃO QUÍMICA DA GOMA DO CAJUEIRO

Após isoladas e purificadas, foram realizadas as análises de FTIR da goma do cajueiro natural e da goma do cajueiro após as modificações estruturais. É possível observar as diferenças em relação aos espectros da goma após a modificação na figura 3, que exibe o espectro de FTIR da GC e GCC. A caracterização da GC se dá pela vibração de alongamento de C-H na banda de 1649 cm^{-1} , com picos em 1150 , 1080 e 1030 cm^{-1} pelas vibrações de alongamento de C-O-C de ligações glicosídicas com flexão de O-H de álcoois (SILVA et al., 2009). O resultado dos espectros de infravermelho apresentou bandas de absorção características de polissacarídeos entre 4000 cm^{-1} e 700 cm^{-1} . A presença de bandas na região de 1602 cm^{-1} nos espectros (GCC) na figura 3, está relacionada à vibração de COO - do carboxilato; 1420 cm^{-1} (GC) referente à vibração da adição de carboxil e hidroxila (C-H) e 1248 cm^{-1} (GC) corresponde modo de alongamento de C-O-C presentes nas unidades glicosídicas (ARARUNA, 2020). Observa-se um aumento considerável na intensidade dessas bandas após o processo de carboximetilação relacionadas a introdução de novos grupos carboxílicos.

Figura 5: Espectros FTIR correspondente à goma do cajueiro (GC) e goma do cajueiro carboximetilada (GCC).

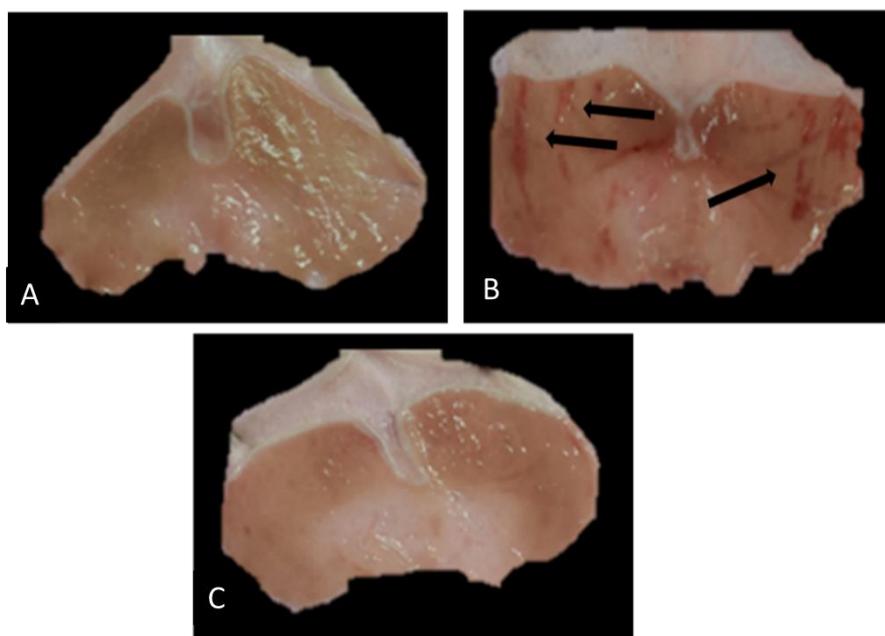


Legenda: Estudos das mudanças estruturais ocasionadas na goma do cajueiro em decorrência do processo de carboximetilação. Espectros de FTIR da modificação por carboximetilação da goma do cajueiro (GCC) apresentando bandas de modificação em 1602 cm^{-1} ; 1420 cm^{-1} ; 1248 cm^{-1} .

5.2 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DO EFEITO GASTROPROTETOR DA GCC NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL EM CAMUNDONGOS SWISS.

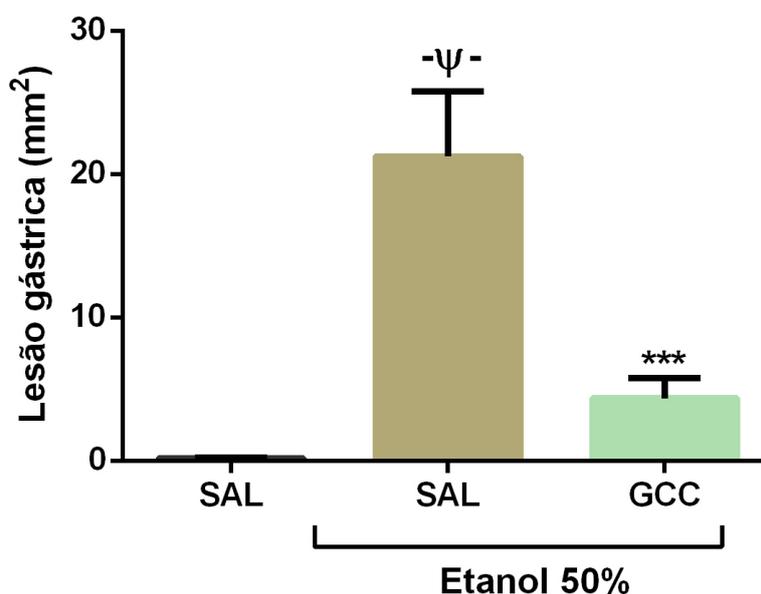
Na figura 4 observa-se os efeitos macroscópicos com a utilização da goma carboximetiladas na lesão gástrica induzida por etanol. E a figura 5 mostra o gráfico da análise macroscópica da mucosa gástrica. Na figura **4A** é possível observar que os animais que receberam somente etanol 50% (0,5 mL / 25 g v.o), tiveram grandes lesões hemorrágicas na mucosa ($23,91 \pm 3,05 \text{ mm}^2$), quando comparadas ao grupo tratados apenas com salina (**Figura 4B**) que não apresentaram lesões na mucosa gástrica. Ainda na figura **4C** observa-se que o pré-tratamento com a GCC (na dose de 60mg/kg v.o) 1 hora antes da indução da lesão, reduziram de forma significativa as lesões provocadas pelo etanol na mucosa gástrica quando comparado ao grupo etanol ($P < 0,0001$). Considerando que o grupo que recebeu o pré-tratamento com as GCC reduziu de forma significativa a área das lesões em 87,11%, quando comparado ao grupo etanol.

Figura 6: Efeitos Macroscópicos da mucosa gástrica de camundongos swiss submetidos à lesões gástricas induzidas por etanol e pré-tratados com GCC.



Legenda: Imagens macroscópicas da lesão gástrica induzida por etanol em camundongos Swiss. (A) Grupo salina (controle saudável); (B) Grupo etanol (controle lesado); (C) camundongos pré-tratados com goma do cajueiro carboximetilada (GCC), seguido da administração de etanol 50%. As setas indicam as lesões hemorrágicas na mucosa do estômago.

Figura 7: Avaliação macroscópica do envolvimento da GCC na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos swiss.



Legenda: A GCC reduziu as lesões gástricas induzidas por etanol. Os camundongos foram pré-tratados, via oral, com dose de 60mg/kg de GCC e após 1 hora foi administrado etanol 50% (0,5ml/25g). (SAL) Grupo salina, controle saudável. (SAL) Grupo etanol 50% controle lesado. (GCC) Grupo pré-tratado com goma do cajueiro carboximetilada na dose de 60mg/kg seguido de etanol 50%. Os dados são apresentados como média \pm SEM com n=5 animais por grupo. Ψ P<0.0001 quando comparado com o grupo saudável; (***) P<0.0001 quando comparado com o grupo etanol. A análise de variância e teste de Newman-Keuls foram utilizados para a avaliação.

5.3 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DA MUCOSA GÁSTRICA DE CAMUNDONGOS PRÉ-TRATADOS COM GCC E/OU ETANOL EM CAMUNDONGOS SWISS.

Os resultados da análise histopatológica da mucosa gástrica estão demonstrados na Tabela 1 e na Figura 6. Foi possível observar que o grupo lesado, tratado apenas com etanol (Figura 6A), demonstrou lesões graves caracterizadas por hemorragia, perda de células epiteliais, edema e infiltrado de células inflamatórias. Demonstrando diferença macroscópica e microscópica em relação aos animais dos grupos pré-tratado com GCC 60mg/kg (**figura 6C**), que inibiu significativamente estes efeitos danosos do etanol na mucosa gástrica ($p < 0,05$), em relação aos parâmetros: danos hemorrágicos, edema, e perda de células epiteliais evidenciando uma redução das lesões promovidas pelo etanol, demonstrando características

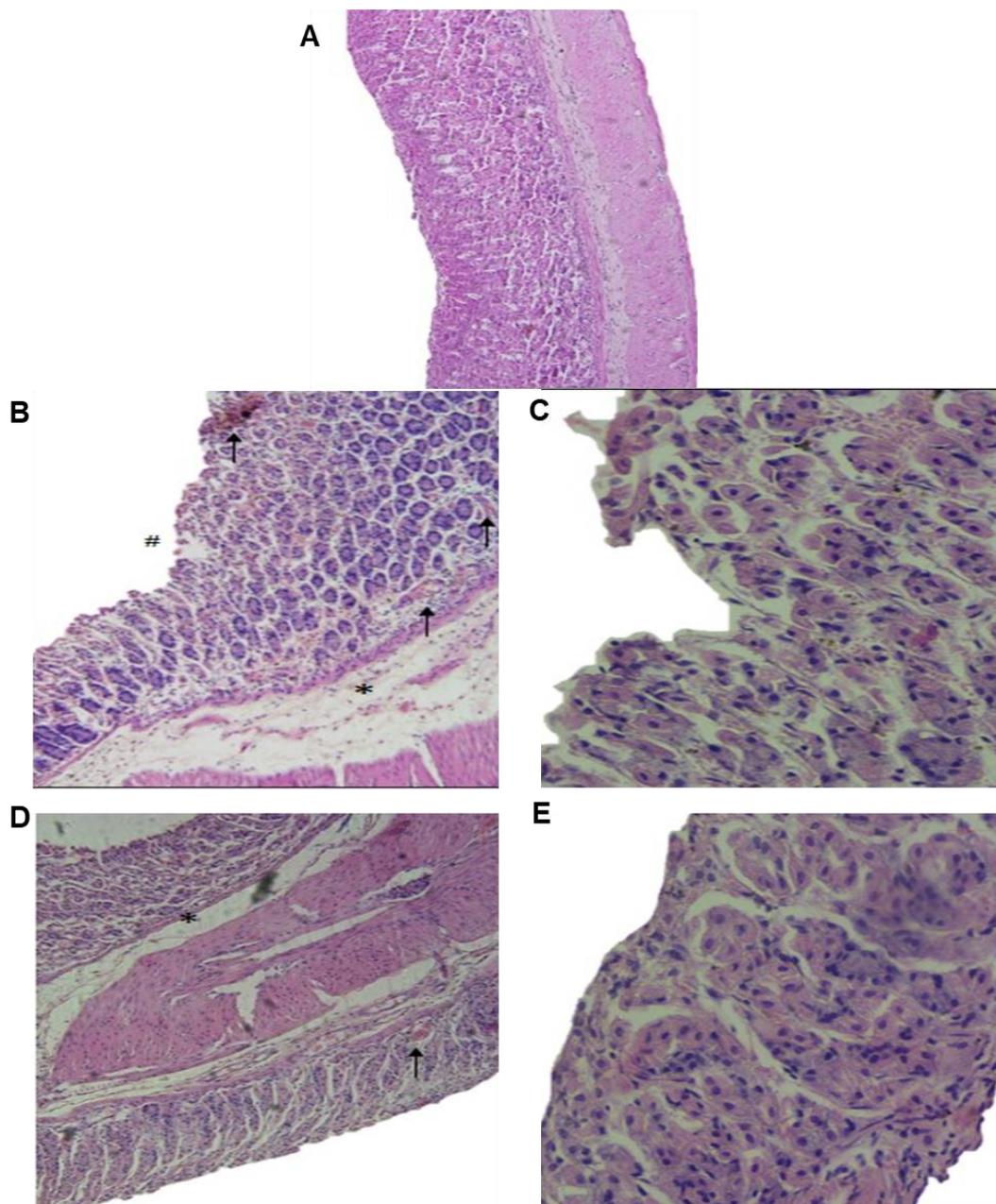
semelhantes ao grupo saudável. Assim, o somatório dos escores dos parâmetros histopatológicos avaliados estão representados na tabela 1, onde verifica-se que a GCC diminuiu de forma estatisticamente significativa ($p < 0,05$), os efeitos do etanol sobre os parâmetros: danos hemorrágicos (escores de 0-4), nos demais parâmetros, tais como, edema (escores de 0-4), perda de células epiteliais (escores de 0-3) e infiltrado inflamatório (escores de 0-3) não foi possível observar diferença estatística entre os grupos GCC e etanol.

Tabela 1: Escores histopatológicos na lesão aguda induzida por etanol.

Escore	SAL	ETH	GCC
Dano hemorrágico (0-4)	0	3 (3-4) ^Ψ	2 (0-2)*
Edema (0-4)	0	3,5 (3-4) ^Ψ	1,5 (1-2)
Perda celular (0-3)	0	2 (2-3) ^Ψ	1 (1-3)
Infiltrado inflamatório (0-3)	0	1 (1-1) ^Ψ	1 (0-1)
Total (0-14)	0	9,5 (9-12) ^Ψ	5,5 (2-8)*

Os resultados são apresentados como mediana, com valores mínimos e máximos mostrados entre parênteses. Kruskal–Wallis seguido do teste de Dunn. ^Ψ $P < 0,05$ quando comparado com o grupo salina; * $P < 0,05$ quando comparado com o grupo lesado (etanol). Abreviações: GCC: Goma do cajueiro carboximetilada.

Figura 8: Alterações histopatológicas na mucosa do estômago na lesão gástrica induzida por etanol em camundongos.

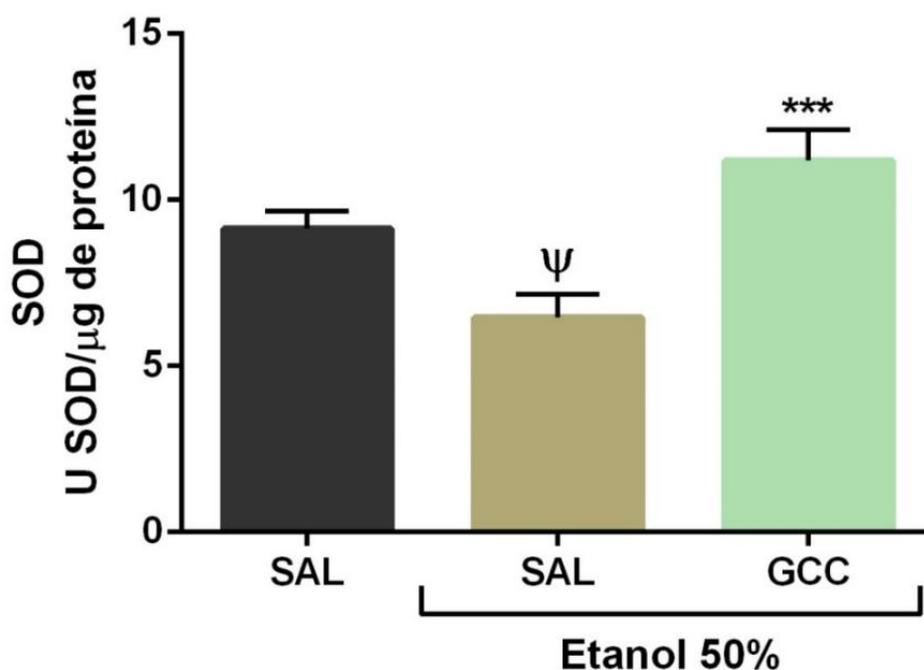


Legenda:(A-E) Fotomicrografia da mucosa gástrica de camundongos. Na primeira e segunda linha com aumento de 10x e na terceira linha aumento de 40x. (A) Grupo salina – evidenciando a integridade da mucosa, sem lesão. (B e C) Grupo etanol 50% (0,5 ml/25g), (D e E) Grupo GCC 60mg/kg (v.o). Perda de células epiteliais (#), hemorragia (seta) e edema (*). Foram utilizados testes não paramétricos Kruskal- Wallis, seguido do teste de Dunn.

5.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA GCC SOBRE A ATIVIDADE DA ENZIMA SUPERÓXIDO DISMUTASE (SOD) NO MODELO DE LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL

A análise da atividade da SOD quantificada e analisada ($\mu\text{SOD}/\text{mg}$ de proteína $p < 0,05$). a utilização de etanol a 50% levou a uma diminuição significativa desses níveis quando comparado ao grupo salina ($9,13 \pm 0,52 \mu\text{SOD} / \text{mg}$ de proteína). No entanto, a utilização de GCC ($11,18 \pm 0,94 \mu\text{SOD} / \text{mg}$ de proteína) levou a um aumento significativo ($p < 0,05$) dos níveis de superóxido dismutase na mucosa gástrica quando comparado com o grupo lesionado ($6,45 \pm 0,70 \mu\text{SOD} / \text{mg}$ de proteína) como demonstrado na **figura 7**.

Figura 9: Avaliação do efeito da GCC sobre os níveis SOD na mucosa gástrica lesionada por etanol em camundongos swiss.

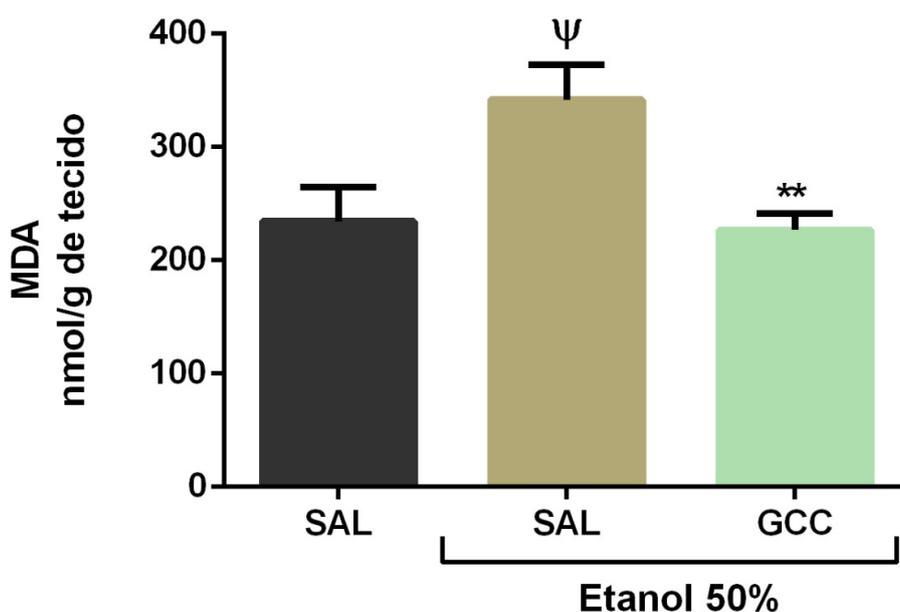


Legenda: Atividade da superóxido dismutase (SOD) na mucosa gástrica após pré-tratamento com GCC 60mg/kg (v.o) com consequente indução da lesão com administração de etanol a 50%. Os resultados estão expressos pela média \pm erro padrão da média de pelo menos 5 animais por grupo. (***) $P < 0,05$ quando comparado ao grupo tratado com etanol; (Ψ) $P < 0,05$ quando comparado ao grupo tratado com salina nas análises de SOD. Os resultados foram analisados por one-way ANOVA seguido por Newman–Keuls. Abreviaturas: SAL: salina; GCC: goma do cajueiro carboximetilada.

5.5 DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE MALONDIALDEÍDO (MDA) NO EFEITO GASTROPROTETOR DA GCC NO MODELO DE LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL 50%.

As análises da concentração de MDA na mucosa gástrica demonstraram que a administração de etanol 50% ($341,9 \pm 30,53$ nmol / g) apresentaram níveis aumentados ($p < 0,05$) desse marcador quando comparado ao grupo salina (saudável) ($234,5 \pm 29,82$ nmol / g), demonstrando com isso, uma intensa peroxidação lipídica por espécies reativas de oxigênio (ROS), produzidas pelo o etanol. Entretanto, nos estômagos dos animais pré-tratados com GCC (60mg/kg) ($227,0 \pm 14,06$ nmol / g) houve diminuição significativa desses níveis quando comparado com o grupo que recebeu apenas etanol 50% (**Figura 8**).

Figura 10: Determinação dos níveis de malondialdeído (MDA) em camundongos swiss pré-tratados com GCC na lesão gástrica induzida por etanol.



Legenda: Os resultados de MDA foram expressos pela média \pm erro padrão da média de pelo menos 5 animais por grupo. (**) $P < 0,05$ quando comparado ao grupo tratado apenas com etanol; (Ψ) $P < 0,05$ quando comparado ao grupo tratado com salina. Para a análise estatística os resultados foram analisados por one-way ANOVA seguido por Newman-Keuls. Abreviações: SAL: salina, GCC: goma do cajueiro carboximetilada.

6 DISCUSSÃO

A utilização dos polissacarídeos naturais e seus derivados é crescente devido sua viabilidade para aplicação em produtos industriais químicos (AVACHAT; DASH; SHROTRIYA, 2011; RINAUDO, 2008), além de possuírem grande capacidade em reduzir possíveis danos quanto ao uso de fármacos, e em seu baixo custo para sua obtenção (DOURADO, 2019). Uma das principais características das gomas é sua fácil hidratação para conduzir soluções aquosas com alta viscosidade em baixas concentrações, que podem produzir géis com diversos graus de estabilidade e rigidez que contêm ácidos carboxílicos em sua composição e podem interagir com íons metálicos (OLIVEIRA, 2005).

Por possuírem características susceptíveis a alterações de sua modificação estrutural os polissacarídeos, se tornaram alvo de estudos de modificações químicas (GERESH; DAWADI; ARAD, 2000), novos grupos funcionais podem ser adicionados para melhorar as propriedades físicas e químicas, o que é benéfico para sua interação com a drogas e absorção (MOCANU et al., 2014). Muitos estudos utilizando derivados de polissacarídeos modificados por reações de carboximetilação usando determinadas substâncias são descritos na literatura, tais como, pululano (PICTON et al., 1995), escleroglucano (NOOY et al., 2000), quitina (KURITA, 2001), celulose (TORUL; ARSLAN, 2003) e goma do angico (OLIVEIRA, 2005).

Os resultados demonstrados nesse estudo na qual foi realizado a análise por meio da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) (SHIMADZU IRAffinity-1S), utilizando a técnica de reflexão total atenuada (ATR) para modificação de carboximetilação, O espectro de FTIR da GCC possui bandas mais intensas quando comparadas com os espectros obtidos para a GC. Na GCC observa-se uma forte banda de absorção na região de 1602 cm^{-1} , é resultado das vibrações de estiramento do grupo COO-. Um pico maior foi observado nas regiões de 1420 cm^{-1} no que se refere à vibração da adição de carboxil e hidroxila (C-H) para GC, corroborando com estudos que indicam a carboximetilação do polímero (XU et al. 2009; WANG & ZHANG, 2009; ARARUNA, 2020). Esses resultados também estão coerentes as afirmações de que nas bandas 1248 cm^{-1} (GC) atribuída à presença de vibrações C-O-C de ligações glicosídicas (PITOMBEIRA et al., 2015; MOURA NETO, 2008).

A GC possui comportamento hidrofílico, por este motivo, algumas modificações químicas podem ser realizadas neste polissacarídeo. Logo, uma modificação por meio do processo de carboximetilação. As análises realizadas nesse estudo buscaram avaliar as alterações nas propriedades da GCC e verificar o efeito da modificação de carboximetilação e o uso desse polissacarídeo em modelos experimentais de lesões gástricas (XU et al., 2010; PITOMBEIRA et al., 2015).

A adição de agrupamentos na cadeia polimérica, proporciona um aumento no caráter hidrofílico das gomas, tornando-a mais solúvel em soluções aquosas. Em sua maioria, biopolímeros hidrofílicos possuem unidades repetidas em sua estrutura que em contato com qualquer solvente ionizante forma uma cadeia polimérica eletrolítica. Diante disso, as gomas carboximetiladas são consideradas polieletrólitos. Por apresentar regiões eletrolíticas carregadas negativamente a goma do cajueiro carboximetilada é chamada de poliânion, (SILVA et al., 2004; DODI; HRITCU; POPA, 2011; MEKA et al., 2017).

As análises realizadas nesse estudo buscou avaliar essas alterações nas propriedades dessa goma carboximetilada, avaliando o controle da solubilidade desse polissacarídeo e melhora da estrutura para seu uso no modelo experimental de lesão gástrica, logo que a carboximetilação atua alterando a hidrofiliidade e as propriedades físicas das gomas, tais como a absorção de água e o poder de intumescimento, o que possibilita uma melhor interação ao epitélio gastrointestinal facilitando e auxiliando na sua proteção (XU et al., 2010; PITOMBEIRA et al., 2015). Esses polieletrólitos desempenham o papel de facilitar na adesão dessas moléculas em células epiteliais da mucosa demonstrando agregações dessas partículas, atuando como uma camada protetora do estômago pela atividade eletrostática, de modo que, a goma carboximetilada possui carga negativa e as células da mucosa gastrointestinal carga positiva (RIBEIRO et al., 2020).

A escolha da dose de 60mg/kg da goma carboximetilada, foi baseada em estudos já presentes na literatura, na qual mostram a melhor dose da goma do cajueiro natural em processo inflamatório no intestino, atuando de forma satisfatória na melhora do quadro de diarreia (ARAÚJO et al., 2015). Neste estudo, o polissacarídeo da GCC foi usado em um modelo de lesão gástrica induzida por etanol de uma forma inédita. No entanto, outras atividades têm sido relatadas na literatura, como a goma do cajueiro com atividade cicatrizante (SCHIRATO et al., 2006), antibacteriana

(QUELEMES et al., 2013), gastroprotetora (CARVALHO et al., 2015) e antidiarreica (ARAÚJO et al., 2015).

O modelo de úlcera induzida pelo etanol assemelha-se às úlceras agudas em humanos, sendo comumente escolhido em experimentos com animais, uma vez que permite uma indução rápida, podendo ser amplamente utilizado para testar a eficácia de drogas potenciais (SONG et al., 2018). A administração por via oral de etanol reduz os mecanismos defensivos gástricos, a partir da formação de EROs, incluindo aniões superóxido, radicais hidroxílicos e peróxidos lipídicos (ZAMORA et al., 2007; ALVAREZ; SUAREZ et al., 2011).

A literatura relata que este agente necrozante provoca lesões hemorrágicas lineares, edema extenso da submucosa, friabilidade da mucosa, infiltração de células inflamatórias e perda de células epiteliais no estômago (FRANKE et al., 2005). Estes danos à mucosa gástrica podem estar associados a uma diminuição nos níveis de glutathione, estresse oxidativo intracelular, alterações na permeabilidade da membrana e despolarização da membrana mitocondrial, levando à morte celular (LU; CEDERBAUM, 2008).

O dano irreversível a mucosa estomacal associado à inflamação severa, aumentam riscos de sangramento na parte gástrica superior, úlcera ou até câncer gástrico. Assim, é necessário a proteção do tecido gástrico contra lesões, a fim de prevenir o desenvolvimento de potenciais doenças relacionadas (ZHANG et al., 2019). Esse estudo sugere que as lesões gástricas induzidas pelo etanol podem ser reduzidas pela GCC, atuando na proteção das células aos danos causados pelo etanol.

Inicialmente, de acordo com os achados macroscópicos e histopatológicos obtidos neste estudo, a eficácia do modelo foi comprovada, pois o etanol causou alterações compatíveis com úlceras gástricas. Confirmando esses dados, foi comprovado que o etanol é um irritante exógeno, que danifica as células da mucosa gastrointestinal e induz úlceras gástricas por diferentes mecanismos moleculares. A patogênese da doença inclui a produção de lesões hemorrágicas induzidas por etanol, edema, destruição da mucosa e infiltração de células inflamatórias (ABDELFATTAH et al., 2019), que são claramente observados em nossos resultados.

Na avaliação macroscópica foi analisado que o etanol 50% ocasionou diversas lesões eritematosas lineares e ulceradas como já descrito na literatura (TARNAWSKI et al., 1992). No grupo controle foi possível observar a ausência dessas lesões, ao

comparar com o grupo que foi pré-tratados com a GCC (60mg/kg, por via oral) nota-se a redução das áreas das lesões gástricas, demonstrando possível proteção dessa mucosa com o pré-tratamento.

A partir do estudo histopatológico por microscopia óptica dos estômagos pré-tratados com GCC, foi possível verificar que o polissacarídeo demonstrou gastroproteção nas lesões das camadas superficiais da mucosa gástrica induzidas pelo etanol. A dose da goma foi eficaz no tratamento da úlcera gástrica, prevenindo o dano à mucosa e preservando o epitélio, quando comparados ao grupo etanol, corroborando com as análises macroscópicas.

Estes dados são histopatologicamente relevantes já que a mucosa gástrica é uma das mais importantes do organismo por suas funções (absortiva e secretora), estrutura e processos patológicos que nelas se desenvolvem. Os resultados mostraram que o etanol 50% provocou alterações em todos os parâmetros avaliados: hemorragia, edema e perda de células epiteliais. Os dados obtidos nesse estudo corroboram com estudos anteriores que utilizaram o etanol como agente indutor de ulceração (AWAAD et al., 2013; SELMI et al., 2017; MONTEIRO et al., 2019). No entanto, vários são os mecanismos implícitos para o surgimento de lesões induzidas pelo etanol nas membranas mucosas.

Com base nos resultados obtidos na nossa pesquisa mostrou que as lesões gástricas induzidas por esse agressor podem ser reduzidas com o pré-tratamento com a GCC, protegendo assim a integridade da mucosa dos danos causados pelo estresse oxidativo. Os resultados deste estudo confirmam os achados por Carvalho e colaboradores (2015) no qual relataram que a goma do cajueiro tem um efeito gastroprotetor no modelo de lesão induzida por naproxeno, tal como o estudo da goma arábica no aumento da proteção e manutenção da integridade da mucosa em modelo de lesão gástrica causada por etanol (TAHA; EL-SHERBINY; OSMAN, 2020).

Como também os resultados similares obtidos por Pinto e colaboradores (2019) em um estudo experimental de gastrite induzida por álcool, avaliando o efeito gastroprotetor da goma guar (*Cyamopsis tetragonolobus*) e galactomanana da fava danta (*Dimorphandra gardneriana*). A capacidade de eliminar os radicais livres é uma das propriedades biológicas mais promissoras das substâncias naturais (WOJTUNIK-KULESZA et al., 2016).

A superóxido dismutase (SOD) é considerada uma das principais enzimas antioxidantes, que tem a função de eliminar os ânions superóxidos por meio da

aceleração da conversão do peróxido de hidrogênio. Estudos têm demonstrado que a administração de etanol pode causar uma resposta imune, liberando radicais livres em excesso e citocinas inflamatórias, e a SOD desempenha um papel na proteção das membranas mucosas de forma benéfica (LI et al., 2017).

O malondialdeído (MDA) como marcador de peroxidação lipídica, é comumente utilizado como um estado oxidativo e antioxidante nas células (AVERY, 2011; MEDEIROS et al., 2008). O estresse oxidativo tem sido apontado como um passo essencial para a lesão gástrica provocada pelo etanol (LYKKESFELDT, 2007). No presente estudo, verificou-se que os níveis de enzimas antioxidantes (SOD) que foi marcadamente reduzida enquanto o teor de MDA foi significativamente elevado no grupo de modelo induzido por etanol. No entanto, os grupos pré-tratados com o polissacarídeo mostraram efeitos inibidores evidentes, os níveis de enzimas antioxidantes (SOD) com resultados elevados e redução do teor de MDA, obtendo dados similares ao grupo controle, o que demonstrou que a GCC exibiu um importante potencial antioxidante na úlcera gástrica induzida por etanol 50% em camundongos.

Com base no presente estudo, a administração por gavagem de GCC poderia proteger contra a ulceração gástrica, elevando as atividades SOD, e diminuindo os níveis de MDA. Os resultados deste estudo corroboram com os dados relatados na literatura, que a atividade de SOD foram elevadas em grupos tratados com compostos gastroprotetores utilizando animais tratados com etanol (HALABI et al., 2014; KETULY et al., 2013; SALGA et al., 2012). Além disso, a redução nos níveis de MDA foram relatados em estudos utilizando animais tratados com vários compostos, tais como as batatas *Dioscorea* (BYEON et al., 2018) e o extrato de *Artemisia capillaris* (YEO et al., 2018).

Nesse contexto, cada vez mais evidências mostram que o etanol está relacionado à produção excessiva de EROs no tecido gástrico, interferindo na integridade e permeabilidade das membranas celulares, levando à morte celular e promovendo a formação de úlceras da mucosa gástrica (AMIRSHAHROKHI; KHALILI, 2017). Neste trabalho, a GCC apresentou resultados satisfatórios, mostrando capacidade de eliminar os radicais livres. Esses achados corroboram com Carvalho e colaboradores (2015), onde concluíram que parte do efeito gastroprotetor da GC está relacionado aos seus efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, reduzindo a peroxidação lipídica.

Portanto, os resultados alcançados nesse estudo levam a uma análise sobre o efeito do tratamento com o polissacarídeo da Goma do cajueiro carboximetilada (*Anacardium occidentale*) na lesão gástrica induzida por etanol 50% com redução dos danos causados pelo etanol, demonstraram que a goma modificada pode ser uma possível candidata no tratamento de lesão gástrica. Os resultados apresentaram-se satisfatórios nas análises macroscópicas e histopatológicas das lesões causadas por etanol a 50%, reduzindo os danos causados pelo etanol, como também, resultados eficazes nas análises de SOD e MDA demonstrando melhora em parâmetros associados ao estresse oxidativo, contudo, outras avaliações desta possível atividade da GCC são necessárias para melhor compreensão do efeito gastroprotetor desse polissacarídeo neste modelo de lesão.

7 CONCLUSÃO

No presente estudo, a carboximetilação do polissacarídeo foi realizada na goma do cajueiro obtendo um polieletrólito. As análises físico-químicas de FT-IR da GCC demonstrou o estiramento das bandas em locais específicos de caracterização de polissacarídeos obtendo resultados que corroboram com resultados descritos na literatura.

A GCC apresentou atividade gastroprotetora desse polissacarídeo na lesão gástrica induzida por etanol diminuindo o estresse oxidativo a partir do pré-tratamento com a goma e fornecendo uma alternativa válida para melhorar a cicatrização da úlcera de forma a prevenir a recorrência da doença. O grupo pré-tratado com a goma carboximetilada mostrou diminuição dos danos causados na mucosa gástrica pela administração de etanol nas análises macroscópicas e histológicas. Como também apresentaram e manutenção do sistema antioxidante endógeno, pela análise de SOD após a lesão gástrica induzida por etanol 50% e diminuição dos parâmetros de estresse oxidativo na mucosa gástrica pela mensuração de MDA, obtendo resultados similares ao grupo controle, demonstrando que a GCC exibiu um importante potencial antioxidante na úlcera gástrica induzida por etanol 50% em camundongos.

A relevância desse estudo reside em importantes contribuições para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da úlcera gástrica que possuam melhor eficácia e segurança. Os dados obtidos neste estudo fornecem base científica preliminar para o uso da goma do cajueiro carboximetilada. Entretanto, sugerem-se mais experimentos *in vivo* e *in vitro* com intuito de estudar o mecanismo de ação gastroprotetora da goma, assim como investigar outras propriedades terapêuticas desse polissacarídeo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Cellular and Molecular Immunology**. 5. ed. São Paulo: Elsevier, 2005.

ABBDOUD, K. *et al.* Gastroprotective effect of soluble dietary fibres from yellow passion fruit (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) peel against ethanol-induced ulcer in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 54, p. 552-558, 2019.

ABDELFATTAH, M. S. *et al.* Prodigiosins from a marine sponge-associated actinomycete attenuate HCl/ethanol-induced gastric lesion via antioxidant and antiinflammatory mechanisms. **Plos One**, v. 14, n. 6, p. 1-20, 2019.

AGUIAR, M. J. N. *et al.* **Zoneamento pedoclimático para a cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) no Nordeste do Brasil e Norte de Minas Gerais**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical / Recife: Embrapa-CNPS-ERP-NE, 2000.

AIHARA, T. *et al.* Pharmacological control of gastric acid secretion for the treatment of acid-related peptic disease: past, present, and future. **Pharmacology & Therapeutics**, v.98, p.109-127, 2003.

AL-SAYED, E. *et al.* Protective role of casuarinin from *Melaleuca leucadendra* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **Planta medica**, v. 86, n. 01, p. 32-44, 2020.

ALLEN, A.; FLEMSTRÖM, G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 288, n. 1, p. C1-C19, 2005.

ALMEIDA, C. L. F. **Atividade gastroprotetora de *Spondias purpurea* L. (Anacardiaceae) em modelos animais**. 2013. 111f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF)- Universidade Estadual da Paraíba. Campina Grande, 2013.

ALVAREZ-SUAREZ, J. M., of antioxidant enzymes and attenuation of MDA increase. **Plos One**, v. 6, n. 10, p. e25878, 2011.

AMIRSHAHROKHI, K.; KHALILI, A. R. Methylsulfonylmethane is effective against gastric mucosal injury. **European Journal of Pharmacology**, v. 811, n. March, p. 240–248, 2017.

ANDRADE, K.; DE CARVALHO, C. W. P.; TAKEITI, C. Y. Goma de cajueiro (*Anacardium occidentale*): avaliação das modificações químicas e físicas por extrusão termoplástica. **Polímeros**, v. 23, n. 5, p. 667- 671, 2013.

ARAÚJO, T. S. L. *et al.* Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of *Anacardium occidentale* L. in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 174, p. 299-307, 2015.

ARAÚJO, T. S. L. *et al.* Biopolymer extracted from *Anadenanthera colubrina* (Red angico gum) exerts therapeutic potential in mice: antidiarrheal activity and safety assessment. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 1, p. 17, 2020.

ARARUNA, F. B. *et al.* Antibacterial application of natural and carboxymethylated cashew gum-based silver nanoparticles produced by microwave-assisted synthesis. **Carbohydrate Polymers**, v. 241, p. 115260, 2020.

AVACHAT, A. M.; DASH, R. R.; SHROTRIYA, S. N. Recent investigations of plant based natural gums, mucilages and resins in novel drug delivery systems. **Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 45, p. 86–99, 2011.

AVERY, S. V. Molecular targets of oxidative stress. **Biochemical Journal**, v. 434, n. 2, p. 201-210, 2011.

AWAAD, Amani S. *et al.* Antiulcerogenic activities of the extracts and isolated flavonoids of *Euphorbia cuneata* Vahl. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 1, p. 126-130, 2013.

BERDAI, M. A. *et al.* Case Report-Atropa Belladonna intoxication: A case report. **Pan African Medical Journal**, v. 11, n. 1, 2012.

BIANCHI, M. D. L. P.; ANTUNES, L. M. G.. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev Nutr**, v. 12, n. 2, p. 123-30, 1999.

BIGHETTI, A.E. ANTÔNIO, M. A.; DE CARVALHO, J.E. Regulação e modulação da secreção gástrica. **Revista de Ciências Médicas**, v. 11, n. 1, 2012.

Brasil. Ministério da Saúde. Banco de dados do Vigitel. Disponível em: <<http://svs.aids.gov.br/download/Vigitel/>>. Acessado em: 15 mai. 2021

BRITO, S. A. *et al.* Antiulcer activity and potential mechanism of action of the leaves of *Spondias mombin* L. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, p. 1-20, 2018.

BOTREL, D. A. *et al.* Application of cashew tree gum on the production and stability of spray-dried fish oil. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1522-1529, 2017.

BOUTEMINE, Insaf-Meriem *et al.* Gastro-protective, therapeutic and anti-inflammatory activities of *Pistacia lentiscus* L. fatty oil against ethanol-induced gastric ulcers in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 224, p. 273-282, 2018.

BYEON, Siyul *et al.* Protective Effects of *Dioscorea batatas* Flesh and Peel Extracts against Ethanol-Induced Gastric Ulcer in Mice. **Nutrients, Basel**, v. 10, n. 11, p. 1680, nov. 2018.

CALDAS, G.F.R. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis martiusii* Benth. (Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 886-892, 2011.

CALDAS, G. F. *et al.* Gastroprotective and ulcer healing effects of essential oil of *Hyptis martiusii* Benth. (Lamiaceae). **Plos One**, v. 9, p. 1-10, 2014.

CARLOTTO, J. *et al.* A polysaccharide fraction from “ipê-roxo” (*Handroanthus heptaphyllus*) leaves with gastroprotective activity. **Carbohydrate Polymers**, v. 226, p. 115239, 2019.

CARVALHO, N. S. *et al.* Gastroprotective properties of cashew gum, a complex heteropolysaccharide of *Anacardium occidentale*, in naproxen-induced gastrointestinal damage in rats. **Drug Development Research**, v. 76, n. 3, p. 143-151, 2015.

CHAVES, L. S. **Goma do Angico (*Anadenanthera colubrina*) e Goma do Cajueiro (*Anacardium occidentale*) Carboximetiladas Apresentam Potencial Gastroprotetor em Camundongos: Caracterização Físico-química, Atividade Antioxidante *in vitro*, Avaliação da Toxicidade Exploratória Aguda e Proteção em Modelo de Lesão Gástrica**

Induzida por Etanol. 2020. 127f. Dissertação (Mestrado em CIÊNCIAS BIOMÉDICAS) – Universidade Federal do Delta do Parnaíba, Parnaíba, 2020

CHINSEMBU, K. C. Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. **Acta Tropica**, v. 154, p. 6-18, 2016.

DA LUZ, B. B. *et al.* Chemical composition, antioxidant and gastrointestinal properties of *Sedum dendroideum* Moc & Sessé ex DC leaves tea infusion. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 231, p. 141-151, 2019.

DA SILVA, D. P. B. *et al.* Chemical characterization and pharmacological assessment of polysaccharide free, standardized cashew gum extract (*Anacardium occidentale* L.). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 213, p. 395-402, 2018.

DE PAULA, R. C. M.; RODRIGUES, J. F. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Carbohydrate Polymers**, v. 26, n. 3, p. 177–181, 1995.

DODI, G. *et al.* Carboxymethylation of guar gum: synthesis and characterization. **Cellulose chemistry and Technology**, v. 45, n. 3, p. 171, 2011.

DOURADO, F. F. **Modificação química de polissacarídeo obtido a partir de exsudato com anidrido propiônico.** 2020. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, 2019.

DWEK, R. A. Glycobiology: toward understanding the function of sugars. **Chemical reviews**, v. 96, n. 2, p. 683-720, 1996.

ESTRELA, F. N.. **Atividades antiulcerogênica e antimicrobiana da espécie *Spiranthera odoratissima* A. ST. HIL. (RUTACEAE).** 2016. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

FAHMY, N. M. *et al.* Gastroprotective effects of *Erythrina speciosa* (Fabaceae) leaves cultivated in Egypt against ethanol-induced gastric ulcer in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 248, p. 112297, 2020.

FANG, Y. F. *et al.* Effect of Hydrotalcite on Indometacin-Induced Gastric Injury in Rats. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1-9, 2019.

FERREIRA, A.L. **Atividade Antiulcerogênica da espécie *Anacardium humile* St. Hil. (Anacardiaceae).** 2005. Dissertação (Mestrado em Farmacologia)- Faculdade de Farmácia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

FRANKE, A., TEYSSEN, S., SINGER, M. V. Alcohol-related diseases of the esophagus and stomach. **Digestive Diseases**, v. 23, n. 3-4, p. 204-213, 2005.

GADEKAR, R. *et al.* A potential of some medicinal plants as an antiulcer agents. **Pharmacognosy Review**, v.4, n8, p.136-146, 2010.

GBD 2016 Alcohol Collaborators. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990- 2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. **Lancet**: 2018;392:1015–1035.

GERESH, S.; DAWADI, R. P.; ARAD, S. M. Chemical modifications of biopolymers: quaternization of the extracellular polysaccharide of the red microalga *Porphyridium* sp. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, n. 1, p. 75-80, 2000.

HALABI, M. F. *et al.* Gastroprotective activity of ethyl-4-[(3, 5-di-tert-butyl-2-hydroxybenzylidene) amino] benzoate against ethanol-induced gastric mucosal ulcer in rats. **Plos One**, São Francisco, v. 9, n. 5, p. e95908, 2014.

HASNAIN, M. S. *et al.* Extraction and characterization of cashew tree (*Anacardium occidentale*) gum; use in aceclofenac dental pastes. **International journal of biological macromolecules**, v. 116, p. 1074-1081, 2018.

JAIN, K. S. *et al.* Recent advances in proton pump inhibitors and management of acid-peptic disorders. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.15, p. 1181–1205, 2007.

JAISWAL, S. K.; RAO, CH. V. Evaluation of standardized fractions of *Basella alba* leaves as gastroprotective activity on ulcerated rats. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 16, n. 4, p. 339-347, 2019.

KANG, H. C. *et al.* Beyond the GIST: Mesenchymal Tumors of the Stomach. **Radiographics**, v. 33, n. 6, p. 1679-1690, 2013

KARIMI, N.; MOHAMMADIFAR, M. A. Role of water soluble and water swellable fractions of gum tragacanth on stability and characteristic of model oil in water emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 124-133, 2014.

KETULY, K. A. *et al.* Acute toxicity and gastroprotection studies with a newly synthesized steroid. **Plos One**, São Francisco, v. 8, n. 3, p. e59296, 2013.

KLEIN-JÚNIOR, L. C. *et al.* The protective potential of *Phyllanthus niruri* and corilagin on 105 gastric lesions induced in rodents by different harmful agents. **Planta medica**, v. 83, 2017.

KINGHORN, A. D. *et al.* The relevance of higher plants in lead compound discovery programs. **Journal of Natural Products**, v. 74, n. 6, p. 1539-1555, 2011.

KRON, J. Peptic ulcer disease. **Journal of Complementary Medicine**, v. 7, n. 1, p. 12–19, 2008.

KUMAR, B. S. *et al.* Pullulan acetate nanoparticles based delivery system for hydrophobic drug. *Int. J. Pharma Biol. Sci*, v. 3, p. 24-32, 2012.

KURITA, K. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. **Progress in Polymer Science**, v. 26, n. 9, p. 1921-1971, 2001.

KWON, D. *et al.* Protective effects of a standardized extract (HemoHIM) using indomethacin-and ethanol/HCl-induced gastric mucosal injury models. **Pharmaceutical Biology**, v. 57, n. 1, p. 543-549, 2019.

LAHLOU, M. The success of natural products in drug discovery. **Pharmacology & Pharmacy**, v. 4, n. 3A, p. 17-31, 2013.

- LAJILI, S. *et al.* Characterization of sulfated polysaccharide from *Laurencia obtusa* and its apoptotic, gastroprotective and antioxidant activities. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 326-336, 2019.
- LANKALAPALLI, S.; KOLAPALLI, V. R. M. Polyelectrolyte complexes: A review of their applicability in drug delivery technology. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 71, n. 5, p. 481, 2009.
- LEDOUX, S. P. *et al.* Repair of alkylation and oxidative damage in mitochondrial DNA. **Mutation Research/DNA Repair**, v. 434, n. 3, p. 149-159, 1999.
- LEUNG, M. Y. K. *et al.* Polysaccharide biological response modifiers. **Immunol Lett**, v. 105, n. 2, p. 101-14, 2006.
- LI, Jiankuan *et al.* Structure Features and Anti-Gastric Ulcer Effects of Inulin-Type Fructan CP-A from the Roots of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. **Molecules**, v. 22, n. 12, p. 2258, dez. 2017.
- LIANG, S. *et al.* Comparative investigation of the molecular interactions in konjac gum/hydrocolloid blends: Concentration addition method (CAM) versus viscosity addition method (VAM). **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 3, p. 1062-1067, 2011.
- LIMA, V. *et al.* Fisiologia Das Secreções Salivares e Gastrintestinais. Sistema Digestório Integração básico clínica. São Paulo: Edgard Blucher, p. 479-521, 2016.
- LIU, Y. *et al.* Characterization of carboxymethylated polysaccharides from *Catathelasma ventricosum* and their antioxidant and antibacterial activities. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 355-362, 2017.
- LU, Y., CEDERBAUM, A. I. CYP2E1 and oxidative liver injury by alcohol. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 44, n. 5, p. 723-738, 2008.
- LYKKESFELDT, J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. **Clinica chimica acta**, v. 380, n. 1-2, p. 50-58, mai. 2007.
- MEDEIROS, J. V. R. *et al.* Role of the NO/cGMP/KATP pathway in the protective effects of sildenafil against ethanol induced gastric damage in rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 153, n. 4, p. 721-727, 2008.
- MELO, A. M. A. *et al.* Preparation and characterization of carboxymethyl cashew gum grafted with immobilized antibody for potential biosensor application. **Carbohydrate polymers**, v. 228, p. 115408, 2020.
- MEKA, V. S. *et al.* A comprehensive review on polyelectrolyte complexes. **Drug discovery today**, v. 22, n. 11, p. 1697-1706, 2017.
- MICHAELS, A. S. Polyelectrolyte complexes. **Industrial & Engineering Chemistry**, v. 57, n. 10, p. 32-40, 1965.
- MILANI, S.; CALABRÒ, A. Role of growth factors and their receptors in gastric ulcer healing. **Microscopy Rese arch and Technique**, v. 53, p. 360-371, 2001.

MIRANDA, R. L. Cashew Tree Bark Secretion—Perspectives for its Use in Protein Isolation Strategies. **Open Glycoscience**, v. 2, n. 1, 2009.

MOAWAD, H. *et al.* Gastroprotective effect of cilostazol against ethanol-and pylorus ligation–induced gastric lesions in rats. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 392, n. 12, p. 1605-1616, 2019.

MOCANU, G. *et al.* Preparation and characterization of anionic pullulan thermo associative nanoparticles for drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v.111, p. 92-900, 2014.

MONTEIRO, C. E. S. *et al.* Gastroprotective effects of N-acylarylhydrazone derivatives on ethanol-induced gastric lesions in mice are dependent on the NO/cGMP/KATP pathway. **Biochemical pharmacology**, v. 169, p. 113629, 2019.

MOTA, G. S. *et al.* Bark anatomy, chemical composition and ethanol-water extract composition of *Anadenanthera peregrina* and *Anadenanthera colubrina*. **PLoS ONE**. v. 12, n. 12, p. e0189263, 2017.

MOURA NETO, É. **Desenvolvimento de Novos Materiais à base de Goma do Cajueiro (*Anacardium Occidentale*): Derivados e Microesferas com Gelatina**. 2008. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Universidade Federal do Ceará, 2008.

NOOY, A.E.J. *et al.* Synthesis and preliminary characterisation of charged derivatives and hydrogels from scleroglucan. **Carbohydrate Research**, v.324, p. 116-126, 2000.

OLIVEIRA, A. P. *et al.* Lactobacillus reuteri DSM 17938 Protects against Gastric Damage Induced by Ethanol Administration in Mice: Role of TRPV1/Substance P Axis. **Nutrients**, v. 11, n. 1, p. 208, 2019.

OLIVEIRA, M. A. *et al.* Chitosan/“angico” gum nanoparticles: synthesis and characterization. **Materials Science and Engineering: C**, v. 29, n. 2, p. 448-451, 2009.

OLIVEIRA, M. A. *et al.* Synthesis and characterization of carboxymethylated red angico (*Anadenanthera macrocarpa*) exudate polysaccharide. **Journal of applied polymer science**, v. 103, n. 5, p. 2985-2991, 2007.

OLIVEIRA, M. A. **Modificação química da goma do angico (*Anadenanthera macrocarpa* Benth): utilização como adsorvente de metais pesados**. 2005. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

PALLE, S.; KANAKALATHA, A.; KAVITHA, C. N. Gastroprotective and antiulcer effects of *Celastrus paniculatus* seed oil against several gastric ulcer models in rats. **Journal of dietary supplements**, v. 15, n. 4, p. 373-385, 2018.

PICTON, L. *et al.* Chemically modified exopolysaccharide pullulans: physico-chemical characteristics of ionic derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 28, n. 2, p. 131-136, 1995.

PINTO, I. R. *et al.* Antiulcer and antioxidant activity of lectin from *Mucuna pruriens* seeds on ethanol-induced gastropathy: involvement of alpha-2 adrenoceptors and prostaglandin. **Current Pharmaceutical Design**, v. 25, n. 12, p. 1430-1439, 2019.

- PITOMBEIRA, N. A. O. *et al.* Self-assembled nanoparticles of acetylated cashew gum: Characterization and evaluation as potential drug carrier. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 610-615, 2015.
- QUELEMES, P. V. *et al.* Development and antibacterial activity of cashew gum-based silver nanoparticles. **Int J Mol Sci**, v. 14, n. 3, p. 4969–4981, 2013.
- RAHMAN, Z.; DWIVEDI, D. K.; JENA, G. B. Ethanol-induced gastric ulcer in rats and intervention of tert-butylhydroquinone: Involvement of Nrf2/HO-1 signalling pathway. **Human & Experimental Toxicology**, v. 39, n. 4, p. 547-562, 2020.
- RANA, V. *et al.* Modified gums: Approaches and applications in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 3, p. 1031-1047, 2011.
- RICHTER, A. R. **Preparação e caracterização de nanocarreadores de anfotericina B à base de goma do cajueiro hidrofobizada com anidridos propiônico e butírico**. 2019. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.
- RICHTER, C.; PARK, J. W.; AMES, B. N. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. **Proc Natl Acad Sci**, v. 85, n. 17, p. 6465-6467, 1988.
- RINAUDO, M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. **Polymer International**, v. 57, n. 3, p. 397-430, 2008.
- ROZZA, A.L. *et al.* Gastroprotective mechanisms of Citrus lemon (Rutaceae) essential oil and its majority compounds limonene and β -pinene: Involvement of heat-shock protein-70, vasoactive intestinal peptide, glutathione, sulfhydryl compounds, nitric oxide and prostaglandin E2. **Chemico-Biological Interactions**, v.189, p.82-89, out. 2011.
- RUBBO, H. *et al.* Nitric oxide regulation of superoxide and peroxynitrite-dependent lipid peroxidation. Formation of novel nitrogen-containing oxidized lipid derivatives. **J Biolog Chem**, v. 269, n. 42, p. 26066-26075, 1994.
- SALGA, M. S. *et al.* Acute oral toxicity evaluations of some zinc (II) complexes derived from 1-(2-Salicylaldiminoethyl) piperazine schiff bases in rats. **International journal of molecular sciences, Basel**, v. 13, n. 2, p. 1393-1404, 2012.
- SCHIRATO, G. V. *et al.* The polysaccharide from *Anacardium occidentale L.* in the inflammatory phase of the cutaneous wound healing. **Ciência Rural**, v. 36, p. 149-154, 2006.
- SCHNEIDER, R E G. **Avaliação do Efeito Gastroprotetor da Cutícula Coilina Retirada do Ventrículo de Gallus Gallus Domesticus em Ratos**. 2014. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2014.
- SCHUBERT, M.L.; PEURA, D.A. Control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v. 134, p. 1842, 2008.
- Schubert, M.L. Gastric Secretion. **Current Opinion Gastroenterology**. v.134, p.578- 82, 2014.
- SELMI, S. *et al.* Protective effects of orange (*Citrus sinensis L.*) peel aqueous extract and hesperidin on oxidative stress and peptic ulcer induced by alcohol in rat. **Lipids in health and disease**, v. 16, n. 1, p. 152, ago. 2017.

SHARIFI-RAD, M. *et al.* Antiulcer agents: From plant extracts to phytochemicals in healing promotion. **Molecules**, v. 23, n. 7, p. 1751, 2018.

SILVA, D. A. *et al.* Carboxymethylation of cashew tree exudate polysaccharide. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n. 2, p. 163-171, 2004.

SILVA, F. *et al.* Cashew gum and maltodextrin particles for green tea (*Camellia sinensis* var *Assamica*) extract encapsulation. **Food chemistry**, v. 261, p. 169-175, 2018.

SONG, S. H. *et al.* Anti-ulcer effect of Gallarhois extract with anti-oxidant activity in an ICR model of ethanol/hydrochloride acid-induced gastric injury. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, p. 1–11, 2018.

SRIKANTA, B. M.; SIDDARAJU, M. N.; DHARMESH, S.M. A novel phenol-bound pectic polysaccharide from *Decalepis hamiltonii* with multi-step ulcer preventive activity. **World J Gastroenterol**, v. 13, n. 39, p. 5196, 2007.

STADTMAN, E. R.; LEVINE, R. L. Protein oxidation. **Ann N Y Acad Sci**, v. 899, n. 1, p. 191-208, 2000.

TAHA, M. S.; EL-SHERBINY, E. M.; OSMAN, H. F. Anti-ulcerogenic Activity of Arabic Gum in Gastric Mucosal Injury Induced by Ethanol in Male Albino Rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, 2020.

TARNAWSKI, A. *et al.* Adaptation of gastric mucosa to chronic alcohol administration is associated with increased mucosal expression of growth factors and their receptor. **Scandinavian Journal of Gastroenterology, Scadinavian**, v. 27, n. 193, p. 59- 63, 1992.

THORSEN, K. *et al.* Epidemiology of perforated peptic ulcer: Age- and gender adjusted analysis of incidence and mortality. **World Journal of Gastroenterology**, v.19, p.347-354, 2013.

TONETO, M.G., MOCELIN, F.J., ITAQUI, M.H. Evolução histórica da úlcera péptica: da etiologia ao tratamento. **Scientia Medica**, v. 21, n. 1, p. 23-30, 2011.

TORQUATO, D. S. *et al.* Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 20, n. 5, p. 505-507, 2004.

TORUL, H., ARSLAN, N. Production of carboxymethyl cellulose from sugar beet pulp cellulose and rheological behaviour of carboxymethyl cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 54, n.1, p. 73-82, 2003.

VIEIRA, C. F. X. **Atividade Antiulcerogênica Do Óleo Essencial De Hyptis Crenata (Pohl) Ex Benth.** 2013. 78 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico ou Profissional em 2013) - Universidade Estadual do Ceará, 2013.

WANG, X. Y. *et al.* Gastroprotective activity of polysaccharide from *Herichium erinaceus* against ethanolinduced gastric mucosal lesion and pylorus ligation-induced gastric ulcer, and its antioxidant activities. **Carbohydrate Polymers**, v. 186, p. 100-109, 2018.

WHO. Status Report on Alcohol and Health-2018 ed. Geneva: World Health Organization; 2018a. Disponível em: <<https://www.who.int/publications-detail/global-status-report-on-alcohol-and-health-2018>> Acessado em: 15 abr. 2021.

WHO. Status Report on Alcohol and Health-2018 ed. Geneva: World Health Organization; 2018b. Disponível em: <www.who.int/publications/i/item/9789241565639>. Acessado em: 15 abr. 2021.

WOJTUNIK-KULESZA, K. A. *et al.* The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's Disease. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 78, p. 39-49, 2016.

XU, Xin *et al.* Anti-diabetic properties of *Momordica charantia* L. polysaccharide in alloxan-induced diabetic mice. **International journal of biological macromolecules**, v. 81, p. 538-543, 2016.

XU, C. *et al.* Acetylation and characterization of spruce (*Picea abies*) galactoglucomannans. **Carbohydrate Research**, v. 345, n. 6, p. 810-816, 2010.

YE, Y. N. *et al.* Effect of polysaccharides from *Angelica sinensis* on gastric ulcer healing. **Life Sci**, v.72, p.925-932, 2003.

YEO, D. *et al.* The aqueous extract from *Artemisia capillaris* inhibits acute gastric mucosal injury by inhibition of ROS and NF-kB. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 99, p. 681-687, 2018.

YU, Y. *et al.* Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review. **Carbohydrate polymers**, v. 183, p. 91-101, 2018.

ZAMORA R. Z.B. *et al.* Antioxidant mechanism is involved in the gastroprotective effects of ozonized sunflower oil in ethanolinduced ulcers in rats. **Mediators of inflammation**, v. 2007, 2007.

ZHANG, C. *et al.* Chemical characterization and gastroprotective effect of an isolated polysaccharide fraction from *Bletilla striata* against ethanol-induced acute gastric ulcer. **Food and Chemical Toxicology**, v. 131, p. 110539, 2019.

ZHANG, L.; REN, J.W.; WONG, C.C. Effects of cigarette smoke and its active components on ulcer formation and healing in the gastrointestinal mucosa. **Curr Med Chem**, v.19, n.1, p. 63-9, 2012.

ANEXO – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
 Campus Ministro Reis Velloso, Av. São Sebastião, n. 2819, Parnaíba, Piauí, Brasil; CEP: 64204-035
 Telefone (86) 3323-5251 e-mail: ceuacmrv@ufpi.edu.br



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Desenvolvimento de Gomas Naturais e Modificadas para o tratamento de Desordens Gástricas, Doenças Diarreicas Infeciosas e Decorrentes de Processo Inflamatório Intestinal**”, registrada nº **009/19**, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Jand Venes Rolim Medeiros do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Campus Ministro Reis Velloso/UFPI** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de Pesquisa Científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **Aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPI) da Universidade Federal do Piauí, em Reunião na presente data **28/06/2019**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da Autorização	Setembro/ 2019 a novembro/ 2022
Espécie/Linhagem/raça	Camundongos (<i>Mus musculus/ Swiss</i>)
Nº de Animais	261
Peso/ Idade	20-25g/1 mês
Sexo	Machos(118) e Fêmeas(117)
Origem	Biotério Central da Universidade Federal do Piauí

Parnaíba, 23 de agosto de 2019.


 Prof. Dr. Daniel Fernando Pereira Vasconcelos
 (Coordenador da CEUA/CMRV-UFPI)