MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA – UFDPar
CAMPUS MINISTRO REIS VELOSO
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA

YASSER DA SILVEIRA KRÜGER

AVALIAÇÃO DO EFEITO ESOFAGOPROTETOR DA GOMA DO CAJUEIRO TIOLADA EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE ESOFAGITE

Parnaíba-PI

2025

YASSER DA SILVEIRA KRÜGER

AVALIAÇÃO DO EFEITO ESOFAGOPROTETOR DA GOMA DO CAJUEIRO TIOLADA EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE ESOFAGITE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPar), como parte das exigências para a obtenção do título de bacharelado em medicina.

Orientador:
Prof. Dr. Lucas Antonio Duarte Nicolau
Coorientador:
Profª. Drª. Angelita da Silveira Moreira

Parnaíba-PI

2025

“Eu sou forte, mas não queria usar minha força apenas para aguentar o sofrimento. Queria usá-la para o tanto de alegria que desejo viver”

(Geni Núñez, 2025)

AGRADECIMENTOS

"*Existirmos a que será que se destina?"*

Inicialmente sou agradecido a Deus e meus guias, por todo cuidado invisível e constante; em um plano terreno beirando o divino, sou grato aos meus pais, **Delmar Krüger** e **Helenita Krüger**, pelo apoio incondicional, por serem meu alicerce em toda minha trajetória estudantil e serem meus primeiros professores, ensinando-me o que é o amor. Aos meus irmãos, **Emilyn** e **Reydner,** pois com eles aprendi que a vida só vale quando podemos dividir esse amor e, mesmo assim, o resultado é uma multiplicação de afetos, como consequências, meus pequenos sobrinhos **Adler** e **Silyla**.

Assim, como famílias não são formadas apenas por consanguinidade, são formadas diante adversidades, alegrias, choros, companheirismo e amor, agradeço aos meus amores que Parnaíba trouxe, essa vitória é nossa: **Luiz Sabino Júnior**, **Jaira Porta Variolo, Isabel Luz.**

Somos feitos de marcas, cicatrizes e histórias: marcada em minha pele, cicatrizada em minha alma e detentora dos meus maiores segredos, agradeço imensamente à **Paloma Teixeira**, que sempre esteve dando suporte mesmo quando eu perdia a fé.

Provando que o amor supera o tempo de uma faculdade e a distância de um Brasil inteiro, quero agradecer aos meus amores de Pelotas, **Juliana Noales**, **Emmanuele Machado**, **Jessica Nunes, Pedro Renan, Diana Rodrigues, Rosanna Castello e Lucas Serpa,** não houve um dia sequer que eu não pensasse em vocês.

Mostrando que a vida é uma balada musical que deve ser ouvida e apreciada, quero muito *sorrir e agradecer* ao meu grande amigão **Douglas Goulart**, você me traz sorte na vida.

Meu mais sincero muito obrigado a todos os profissionais que pavimentaram o caminho da ciência em minha trajetória, ensinaram com afeto e carinho, aos meus orientadores **Lucas Nicolau** e **Angelita Moreira**, a qual carinhosamente posso chamar de "**TiGelita"**; também a **Gabrielle Sousa** por toda ajuda durante meu período no LIGAT e as minhas professoras que ensinaram o que é lecionar com afeto e carinho: **Ana Paula** e **Karina Santos.**

Mostrando que sempre há luz mesmo quando estamos vagando pela penumbra, sou extremamente grato a minha psicóloga, **Isabel Vieira**, que mesmo em meu momento de maior

dúvida, medo, incerteza, depressão e ansiedade, conseguiu nortear meus passos e fazer eu encontrar todo meu potencial que outrora achei estar perdido.

Não poderia deixar de agradecer aos meus companheiros de jogos e desabafos da madrugada, que com sua escuta e gentileza sempre me acolheram e tornaram o processo da formação acadêmica suportável: **Andrey "Drey" Gomes**, **Matheus "Kibe" Costa** e **Daniel "Miss Vanjie" Araujo**, com vocês a arte também pulsou comigo.

Aos meus companheiros de jornada: **Bruno Lima, Natalya Lima, Ivy Louise, Juliana Lyra, Tiago Lima, Lorena Araruna e Sofia Cunha,** sou grato por dividir o caminho com vocês, descontraindo quando possível e surtando quando precisávamos.

A vida, sobretudo, é morte e renovação, mostrando que enquanto eu existir sempre acharei espaço para mais amores; agradeço aos meus presentes do ano de 2025: **Anna Clara, André Leite, Maria Eunice, Salatiel Bezerra, Wellington Júnior.**

Dançando eu espanto o mal, girando eu encontro meu eixo, por isso quero agradecer a minha *365 party girl* **Ivã Sales** por me ajudar a escrever esse TCC.

A fugacidade da vida é diariamente evidenciada na medicina, algumas pessoas esbarram em nosso caminho por acidente e mudam toda sua trajetória. Você meu amigo, foi uma estrela cadente em minha história… Fugaz, único, inesquecível, brilhante, encantador. Tanto cuidou de minhas mágoas e dores quando estava aqui nesse plano e agora sei que sou zelado por você ai do céu, eu te amo de sempre para sempre, **Luiz Henrique Oliveira** ***(****in memorian*).

Ainda, a vida não é linear e muito menos imutável, ora e outrora nossos amores podem se metamorfosear em outros sentimentos. Por isso, agradeço a todos que dantes foram meus companheiros e amigos nessa jornada, mas hoje o afastamento é necessário.

Por fim, quero agradecer a mim mesmo, por sempre me tratar com respeito e carinho, abrindo mão de batalhas que não venceria, mesmo que isso alterasse o trajeto de minha caminhada, tendo a certeza, sempre, que sou uma pessoa rodeada de afeto, pois eu sou amor da cabeça aos pés.

"*Não mexe comigo, que eu não ando só*"

“... Polir a jóia rara, SER o pseudofruto, a pele do caju...” (Liniker, 2024)

RESUMO

A Doença do Refluxo Gastroesofágico (DRGE) acomete em torno de 20% da população ocidental, sendo uma enfermidade comum, podendo apresentar-se de diversas formas, como a esofagite erosiva (EE) caracterizada por erosões na mucosa, ou mesmo como esofago de Barret com grande potencial carcinogênico. Atualmente a primeira linha de tratamento para essa patologia dá-se pelo uso de inibidores de bomba de prótons (IBP). Nesse ínterim, a goma do cajueiro é um exsudato extraído de uma árvore perene comum na região nordeste, *Anacardium occidentale*, a qual possui atividades anti-inflamatórias e evidências de proteção esofágica quando utilizada de maneira tópica na mucosa. Entretanto, ainda há poucos estudos em relação às modificações químicas nesse polissacarídeo e seu uso no tratamento da DRGE. A tiolação, processo que objetifica o aprimoramento das características do polímero a fim de melhorar sua mucoadesão e permanência em contato íntimo com a mucosa esofágica. A partir de dados obtidos de experimentos que induziram a DRGE em camundongos e com tratamento da goma do cajueiro tiolada (GCT), com posterior análises quantitativas e qualitativas. Entre as qualitativas podemos evidenciar a concentração de grupos tióis na amostra, confirmando se houve sucesso no processo de tiolação a partir da adição de ácido tioglicólico. Também foi avaliado a atividade da mieloperoxidase (MPO), peso úmido das amostras e análise de lâminas microscópicas do esôfago das amostras. O presente estudo desenvolveu-se para cumprir as formalidades do trabalho de conclusão de curso de bacharelado em medicina, tendo como principal objetivo análisar o efeito esofagoprotetor da goma do cajueiro tiolada em um modelo experimental de DRGE induzida em ratos. Concluindo assim, que os efeitos anti-inflamatórios e protetores da GCT se assemelham aos da goma do cajueiro, diminuindo os efeitos inflamatórios e lesivos da EE.

Palavras-chave: Anacardium occidentale; polímero; tiolação; DRGE; esofagite.

ABSTRACT

Gastroesophageal reflux disease (GERD) affects approximately 20% of the Western population and is considered a common condition that may present in various forms, such as erosive esophagitis (EE), characterized by mucosal erosions, or Barrett's esophagus, which carries significant carcinogenic potential. Currently, the first-line therapy for GERD relies on proton pump inhibitors (PPIs). In this context, cashew gum is an exudate extracted from Anacardium occidentale, a perennial tree native to Northeastern Brazil, and has demonstrated anti-inflammatory properties and evidence of esophageal protection when applied topically to the mucosa. However, few studies have investigated chemical modifications of this polysaccharide and its potential use in GERD treatment. Thiolation is a process aimed at enhancing the polymer's characteristics, improving mucoadhesion and its intimate contact with the esophageal mucosa. This study presents data obtained from experiments in which GERD was induced in mice treated with thiolated cashew gum, followed by both quantitative and qualitative analyses. Qualitative assessments included measuring thiol group concentration to confirm successful thiolation via thioglycolic acid addition. Additional evaluations comprised myeloperoxidase (MPO) activity, wet tissue weight, and histological analysis of esophageal samples. The present study was conducted as part of the requirements for the undergraduate medical thesis and aimed to evaluate the esophagoprotective effects of thiolated cashew gum in an experimental model of GERD induced in rats. The findings indicate that the anti-inflammatory and protective effects of thiolated cashew gum are comparable to those of native cashew gum, reducing the inflammatory response and mucosal injury associated with erosive esophagitis.

Keywords: Anacardium occidentale; polymer; thiolation; GERD; esophagitis.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARH2	Antagonistas dos Receptores de Histamina Tipo 2
DRGE	Doença do Refluxo Gastroesofágico
EE	Esofagite Erosiva
EDA	Endoscopia Digestiva Alta
GC	Goma do cajueiro
GCT	Goma do cajueiro tiolada
HCL	Ácido clorídrico
IBP	Inibidores de Bombas de Prótons
IMC	Índice De Massa Corpórea
MPO	Mieloperoxidase
NERD	Doença do Refluxo Não-Erosiva
VO	Via oral

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO:.....12
1.1 Doença do refluxo gastroesofágico (DRGE):.....13
1.2. Incidência da DRGE:..... 14
1.3. Doença do refluxo não erosiva (NERD):.....15
1.4. Esofagite erosiva (EE):..... 15
1.5. Gomas naturais:.....15
1.6. Goma do Cajueiro:.....16
1.7. Modificação da goma por tiolação:..... 16
2. OBJETIVOS.....17
2.1. Objetivo Geral.....17
2.1. Objetivos Específicos.....17
3. METODOLOGIA..... 17
3.1. Isolamento e purificação da goma do cajueiro:..... 18
3.2. Síntese da goma do cajueiro tiolada:.....18
3.3. Determinação do teor de tiol:.....18
3.4 Avaliação do comportamento da GCT em resposta a exposição inflamatória em modelos experimentais de esofagite erosiva em ratos:.....18
3.5. Avaliação do peso úmido:.....19
3.6. Avaliação dos níveis de mieloperoxidase (MPO):.....19
4. RESULTADOS..... 20
4.1. Determinação do conteúdo do grupo tiol:.....20
4.2. Avaliação de parâmetro inflamatório da DRGE através do peso úmido esofágico de ratos:.....20
4.3. Atividade da mieloperoxidase (MPO):..... 21
4.4. Análise histopatológica:..... 22
5. DISCUSSÃO:..... 23
6. Conclusão:..... 25
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA..... 26

1. INTRODUÇÃO:

A doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) é uma disfunção orgânica resultante do retorno anormal do conteúdo gástrico para o esôfago, acarretando em agressão ao epitélio esofágico, principalmente devido a presença de ácido clorídrico (HCL), um ácido de caráter forte, no líquido regurgitado.

Ademais, a barreira de proteção que cobre o epitélio mucoso esofágico é rico em pepsinas, conferindo um mecanismo protetor aos danos celulares causados pelo retorno não fisiológico do suco gástrico, portanto, a disfuncionalidade dessa barreira, pode gerar danos inflamatórios à mucosa esofágica (Sarosiek; Mccallum, 2000).

Diversos medicamentos têm sido amplamente utilizados para conferir uma melhor qualidade de vida aos pacientes que sofrem dessa condição patológica, contudo, a maioria dos produtos disponíveis no mercado são fármacos que agem diretamente na produção do suco gástrico, ou na neutralização parcial de sua acidez, com o objetivo de diminuir lesões celulares (Scarpellini *et al*., 2016).

A utilização de produtos naturais com propósitos de cura é conhecido desde a antiguidade, portanto o tratamento de doenças por meio desses mecanismos terapêuticos têm sido abordados em literaturas e estudos, buscando uma alternativa aos tratamentos farmacológicos já conhecidos, uma vez que, cerca de 30% dos medicamentos provém do extrativismo biológico natural (Chaves *et al*., 2013).

O cajueiro, *Anacardium occidentale*, árvore frutífera facilmente encontrada na região nordeste do Brasil, possui a capacidade de produzir um biopolímero denominado goma do cajueiro (GC), produto esse de fácil obtenção e baixo custo, características essenciais para o extrativismo e utilização para produção medicamentosa. A GC já vêm sendo estudada por diversos pesquisadores brasileiros, os quais relatam um seguro e eficiente mecanismo de proteção da barreira esofágica devido sua adesão ao epitélio, além de seu conhecido potencial anti-inflamatório (Nicolau *et al*., 2019).

Nesse ínterim, modificações químicas e físicas tornam-se essenciais para potencializar os efeitos terapêuticos da GC. A tiolação, em especial, aumenta a capacidade mucoadesiva do biopolímero ao promover a formação de ligações dissulfeto entre o epitélio e a rede

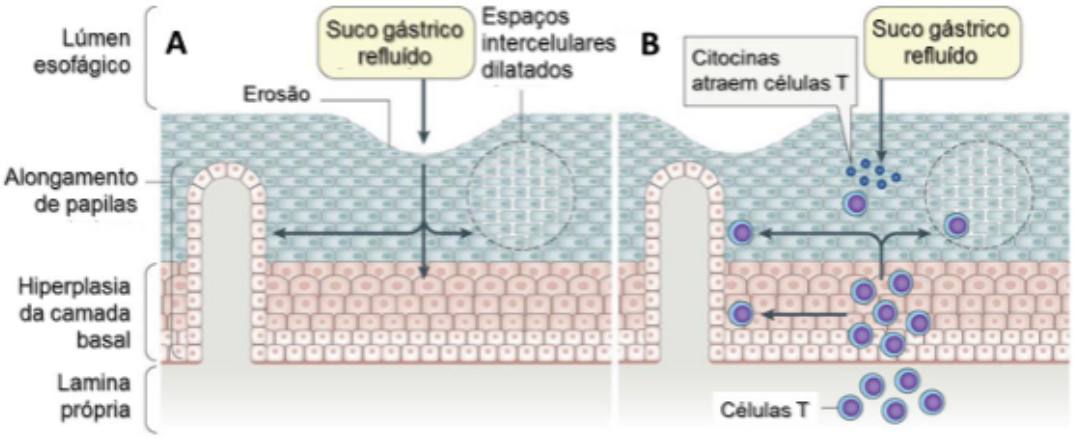
polimérica formada pela goma. Esse processo aprimora significativamente a bioadesão do fármaco ao tecido, garantindo uma mucoadesão mais eficiente e sustentada (Puri *et al*., 2021).

1.1 Doença do refluxo gastroesofágico (DRGE):

A DRGE, resultante do retorno anormal do conteúdo gástrico ao epitélio esofágico por um tempo prolongado, gera danos a essa camada celular, principalmente pela conversão do HCl e das pepsinas em pepsinogênios, em um meio de pH ácido, menor que 3,5. A DRGE pode vir a apresentar 3 padrões de lesões teciduais de acordo com as características observadas em exame endoscópio, são eles: Doença do Refluxo Não-Erosiva (NERD), Esofagite Erosiva (EE) e Esôfago de Barrett. (Nicolau *et al*., 2019).

Em pacientes que apresentam estas patologias, a manutenção da integridade epitelial da mucosa esofágica é de suma importância, principalmente para evitar danos oxidativos e inflamatórios que garantem um pior prognóstico ao curso de evolução da doença. A **Figura 1** apresenta a barreira protetora, evidenciada por mecanismos pré-epiteliais, epiteliais e pós epiteliais, ela desempenha um papel fundamental na prevenção do desenvolvimento de neoplasias, como o adenocarcinoma esofágico (Gywali *et al*., 2020).

Figura 1 – Alterações estruturais do epitélio esofágico associadas ao refluxo gastroesofágico, evidenciando hiperplasia celular basal, com alongamento de papilas e espaços celulares e mudança no lúmen celular com degeneração.



Fonte: Nicolau, 2018.

A utilização de medicamentos denominados antissecretores, que aumentam o pH do conteúdo gástrico, diminuindo sua acidez, como os Antagonistas dos Receptores de Histamina Tipo 2 (ARH2) e os inibidores de bomba de prótons (IBPs) atualmente são considerados padrão-ouro na clínica gastrointestinal, contudo, eles ainda são insuficientes em pacientes cronificados com a DRGE, muitas vezes, incapazes de produzirem uma barreira antirrefluxo eficaz, principalmente pelo fato da permanência de radicais livres no conteúdo do líquido retornado do estômago, possuindo ainda fator carcinogênico, piorando o prognóstico e curso natural da doença (Oh *et al*., 2001).

Assim, o prognóstico esperado da doença do refluxo gastroesofágico ainda é a inflamação da mucosa epitelial, outrossim, não há descrição na literatura de um produto medicamentoso que proteja o epitélio lesado através de atividade anti-inflamatória e de barreira protetora (Gilbert, 2012). Por isso, estima-se que a utilização da GC tiolada seja um excelente fármaco para o tratamento da DRGE, já que abrange duas características esperadas no controle dessa patologia, tanto o fator protetivo de barreira, quanto a capacidade natural antioxidante presente no polissacarídeo do cajueiro.

1.2. Incidência da DRGE:

O aumento da incidência da DRGE, e consequentemente, a evolução para EE vêm constituindo um problema de saúde, de acordo com estudos epidemiológicos. No ocidente, estima-se que o aumento desta patologia ocorre devido a associação de dieta e aumento da obesidade, juntamente com o envelhecimento populacional. Pacientes com índice de massa corpórea (IMC) elevado, apresentaram uma maior frequência na incidência e prevalência da DRGE (Ou *et al*., 2012).

Regiões europeias, tiveram uma estimativa de prevalência de 11,8% na Itália e 12,4% na Espanha, correspondente a quase um oitavo da população adulta. Já no Brasil, em 2001, a prevalência da DRGE foi de 48,2% (Nader *et al*., 2003), assim, quase metade da população brasileira apresentava sintomas e características da doença do refluxo gastroesofágico.

A DRGE vem aumentando sua incidência no mundo todo, tornando-se o distúrbio gastrointestinal mais frequente em pacientes, por isso, nas últimas décadas a busca por terapias alternativas aos medicamentos utilizados em larga escala para a DRGE, como os antiácidos ricos em produtos de caráter básico (pH>7,5), antagonistas dos receptores de

histamina tipo 2 (ARH2) e inibidores de bombas de prótons (IBP) vem ganhando notoriedade na academia de pesquisa do mundo inteiro (Armstrong; Sifrim, 2011).

1.3. Doença do refluxo não erosiva (NERD):

A DRGE em sua forma fenotípica mais comum se apresenta sintomatologicamente por refluxos, pirose e regurgitação, com ausência de erosões na mucosa esofágica quando analisado por endoscopia digestiva alta (EDA). Pirose é caracterizada por uma sensação de queimadura que irradia da região epigástrica até o pescoço, podendo mimetizar uma dispneia. Geralmente os sintomas apresentam piora em decúbito dorsal e após refeições (NICOLAU *et al*., 2019; ZENTILIN *et al*., 2017).

Embora em uma análise macroscópica não haja presença de erosões no epitélio, em estudo Caviglia (2005) demonstrou que os espaços intercelulares de pacientes sintomáticos possuíam um alargamento em relação aos pacientes assintomáticos.

1.4. Esofagite erosiva (EE):

A esofagite erosiva é uma das formas graves da DRGE, ocorrendo quando o excesso de pepsina e HCl geram necrose celular nas camadas mais superficiais da mucosa esofágica, resultando em úlceras e erosões, condição encontrada em torno de 20% a 30% dos pacientes com DRGE (Cai *et al*., 2012).

A presença de EE em pacientes com DRGE é o principal fator de risco para o desenvolvimento de esôfago de Barrett, além do aumento significativo no desenvolvimento de adenocarcinoma esofágico (Sharma, 2013).

1.5. Gomas naturais:

As gomas são moléculas complexas de sacarídeos, denominados polissacarídeos, constituídas principalmente por galactose, arabinose, ramnose, interligados por ligações glicosídicas. Tais produtos podem ser obtidos por meio da exsudação, ou seja, uma resposta biológica natural e esperada de tecidos vegetais, tais produtos apresentam uma solubilidade

em água, principalmente pelas hidroxilas polares em sua estrutura, ademais, são biocompatíveis quimicamente com o epitélio humano, apresentam baixo custo de obtenção e são biodegradáveis (Ribeiro *et al*., 2023).

A constituição química e propriedades das gomas naturais tornam esse produto excelente na utilização da indústria alimentícia, principalmente pela capacidade espessante, geleificante, emulsificante e aglutinante, além de todas essas capacidades supracitadas, essas biomoléculas possuem potencial terapêutico almejada pela indústria farmacológica (Araújo *et al*., 2020; Figueiredo *et al*., 2018).

1.6. Goma do Cajueiro:

A goma extraída da *Anacardium occidentale L.* (Cajueiro) é um biopolímero de capacidades anti-inflamatórias ainda pouco explorado, mesmo que seja de fácil extrativismo e baixo custo, principalmente pelo método utilizado na retirada desta goma, feito por meio de uma incisão na casca da árvore (Oliveira, 2016).

Essa goma é hidrofílica, assim como a maioria dos biopolímeros, apresenta como principal constituinte de sua molécula o sacarídeo galactose, representando 73% de sua constituição (Ribeiro *et al*., 2016).

Em relação às características gerais, a GC possui caráter ácido, atóxico, hidrofílico, biocompatível e biodegradável (Oliveira, 2016).

Além dessa caracterização, esse biomolécula pode ser modificada quimicamente com facilidade, em um intuito de aprimorar suas capacidades biológicas como mucoadesividade e perfil anti-inflamatório, essa alteração no perfil químico e físico do produto demonstrou resultados satisfatórios na proteção da mucosa esofágica de camundongos em um modelo de esofagite não erosiva, também conferiu proteção tópica aos radicais livres presentes no líquido gástrico regurgitado (Nicolau, 2019).

1.7. Modificação da goma por tiolação:

Biopolímeros possuem a capacidade de serem mucoadesivos naturalmente, prolongando seu tempo de contato com a superfície mucosa, isso dá-se devido a conformação química dos polissacarídeos naturais, que formam pontes de hidrogênio, interação iônica e

força de Van der Waals, respectivamente em ordem decrescente de forças de interação. Assim, terapias medicamentosas que almejam o contato duradouro da molécula com a região de mucosa, necessitam de uma permanência prolongada para surtir o efeito terapêutico desejado (Kaur *et al*., 2012).

Por isso, a modificação química do goma, através da adição de ácido tioglicólico, têm como objetivo a inserção do grupo tiol no polissacarídeo, modificando suas características, porém não perdendo seu efeito terapêutico desejado. A inserção de um átomo de enxofre e um de hidrogênio, geram o grupo sulfidrila (-SH) na conformação molecular, os quais conferem a capacidade de formar ligações dissulfeto que interagem com as glicoproteínas da mucosa esofágica, aumentando o tempo de permanência da mucoadesividade (Bandyopadhyay; Nayak, 2023).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito esofagoprotetor de um exudato extraído do caule da árvore *Anacardium occidentale L*., goma do cajueiro, após a modificação química através do processo de tiolação.

2.1. Objetivos Específicos

- Entender o processo de isolamento e purificação da goma de cajueiro *in natura*.
- Alterar a GC quimicamente através da tiolação, a fim de obter a GC tiolada (GCT);
- Determinar o teor de tiol da goma quimicamente modificada através da espectrofotometria;
- Avaliar o comportamento antioxidante da goma no tecido esofágico;
- Compreender o efeito mucoadesivo da goma do cajueiro no epitélio;
- Avaliar o efeito esofagoprotetor da GC e GCT administrada em ratos após indução de esofagite erosiva pelo modelo cirúrgico.

3. METODOLOGIA

3.1. Isolamento e purificação da goma do cajueiro:

Amostras brutas de goma do cajueiro foram coletadas pelo Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC), Parnaíba-PI, Brasil, a partir do tronco de árvores de cajueiro nativas (*Anacardium occidentale L.*), no município de Ilha Grande de Santa Isabel, Piauí, Brasil. Nódulos do caule foram selecionados e dissolvidos em água destilada à temperatura ambiente para dar origem a uma solução de 5% (peso/volume).

O pH da solução foi ajustado para aproximadamente 7.0 por adição de NaOH. A solução límpida foi sucessivamente filtrada e o polissacarídeo foi precipitado com etanol (Silva *et al*., 2009).

3.2. Síntese da goma do cajueiro tiolada:

A síntese dessa goma foi realizada de acordo com a literatura descrita por Bahulkar, Munor e Surwase (2015) através da adição de 2,5 mL de ácido tioglicólico e 4 mL de HCl (7N), sendo agitadas em banho-maria de 70º por uma duração de 4h. Após isso, realizou-se a precipitação do biopolímero com etanol e acetona P.A.

3.3. Determinação do teor de tiol:

A determinação do conteúdo do grupo tiol foi feita por meio do método de Ellman, com 1,5 mL do reagente adicionado em 1,5 mL da solução produzida na síntese, mantida em temperatura ambiente por 2h. Assim, o número de grupo tiol pode ser analisado através da espectrofotometria em um comprimento de onda de 412 nm.

3.4 Avaliação do comportamento da GCT em resposta a exposição inflamatória em modelos experimentais de esofagite erosiva em ratos:

Estudou-se a atividade esofagoprotetora baseada em experimentos previamente publicados na literatura, através da análise microscópica e química de ratos previamente preparados pelo método cirúrgico de indução da esofagite erosiva, a fim de gerar um estresse oxidativo nas amostras.

Nicolau (2018) avaliou o estresse oxidativo em camundongos tratados com a GC 10% com duração de uma semana após cirurgia indutiva de esofagite, utilizando três grupos: o primeiro (1) sendo controle (sham). O segundo (2) e terceiro (3) tratados com solução salina,

VO , e GC 10%, VO, respectivamente, então, verificou-se os parâmetros inflamatórios através do peso úmido, MPO e análise histopatológica.

Já em diferente análise, Sousa (2024) avaliou um espaço amostral de 20 camundongos, subdivididos em cinco grupos, cada um composto por 4 animais. O primeiro grupo (1) sendo controle (sham); (2) EE, (3) alginato comercial, por via oral (VO); (4) GC 10% VO; (5) GCT70 10%, VO. Os animais nos três últimos grupos (3, 4 e 5) foram tratados com suas respectivas soluções 30 minutos antes da cirurgia abdominal induzindo EE, após 10 horas, colheu-se amostras do epitélio esofágico para avaliação de peso úmido, análise histopatológica, níveis de mieloperoxidase (MPO).

3.5. Avaliação do peso úmido:

O peso úmido do esôfago foi utilizado como um indicador adicional de edema, um sinal clínico da inflamação. Para isso, o esôfago foi dissecado, lavado com solução de cloreto de sódio 0,9%, pesado e medido. Os resultados foram expressos em miligramas por centímetro (mg/cm).

3.6. Avaliação dos níveis de mieloperoxidase (MPO):

A atividade de MPO foi avaliada como um marcador bioquímico indireto da infiltração de granulócitos. Essa enzima encontra-se presente nos grânulos azurofílicos de neutrófilos e outras células da linhagem mielóide. Nesse sentido, realizou-se a avaliação dos níveis de MPO seguindo o protocolo proposto por Bradley e colaboradores (1982). Em síntese, uma amostra de tecido esofágico da região distal foi homogeneizada em uma solução tampão de potássio com 0,5% de Brometo de hexadeciltrimetilamônio (HTAB). Posteriormente foi homogeneizado e realizou-se a centrifugação a 4.000 rpm durante 7 minutos a 4° C. A atividade de MPO foi avaliada através medição da alteração na absorbância a 450 nm utilizando dicloridrato de o-dianisidina e 1% de peróxido de hidrogênio. Os resultados foram expressos em unidades de MPO por mg de tecido (U/mg de tecido).

3.7. Análise histopatológica de muco aderido ao epitélio:

Amostras do esôfago distal foram retiradas e fixadas em formol tamponado a 10%, onde permaneceram por 24h. A seguir, foram transferidas para uma solução de álcool a 70%, onde permaneceram até a realização dos procedimentos histológicos, avaliando a presença de

muco na porção do lúmen. Lâminas foram confeccionadas com coloração especial para mucinas ácidas e neutras através do kit de alcian blue/PAS/hematoxilina (Dako, AR178).

4. RESULTADOS

Após purificação e o processo de modificação química por tiolação na GC, obteve-se uma amostra de GCT utilizada no tratamento de camundongos com DRGE induzida por cirurgia. A partir da análise de dados provenientes dos principais estudos sobre os efeitos da GC e GCT em modelos de EE, inferiu-se uma comparação dos resultados encontrado após os diferentes tratamentos realizados

4.1. Determinação do conteúdo do grupo tiol:

Através da espectrofotometria, método de Ellman, determinou-se a concentração de grupo tiol nas amostras de biopolímeros, evidenciando uma concentração de 4,6 mM de grupo tiol para cada grama de GC (tiol/g) , enquanto para os polímeros tiolados com um volume de 50ml (GCT50) , 60ml (GCT60) e 70 ml (GCT70), respectivamente obteve-se 94,66 mM/g, 96 mM/g e 89,33 mM/g (**Figura 2**).

Figura 2 - Concentração de tiol encontrada em GC e GCT

Amostra	Concentração encontrada	mM/mg	mM/g
GC	0,07	0,0046	4,6
GCT50	1,49	0,0946	94,66
GCT60	1,51	0,096	96
GC70	1,41	0,0893	89,33

Legenda: GC = Goma do cajueiro; GCT50% = Goma do cajueiro tiolada volume de 50ml; GCT60 = Goma do cajueiro tiolada volume de 60ml e GC70 = Goma do cajueiro tiolada volume de 70ml.

Fonte: SOUSA, Gabrielle Costa. Síntese e caracterização da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*) tiolada: potencial uso na doença do refluxo gastroesofágico, 2024.

4.2. Avaliação de parâmetro inflamatório da DRGE através do peso úmido esofágico de ratos:

Animais que tiveram exposição ao processo inflamatório do esôfago por meio de cirurgia indutiva apresentam edema, consequentemente, aumentando o peso úmido. Nicolau

(2018) em sua análise de peso úmido em camundongos com NERD, após 7 dias de tratamento, evidenciou um aumento de peso úmido no grupo, verificando um aumento de (15,90 ± 1,68 mg/cm) em relação ao controle. Ademais, a adição da GC reduziu o edema esofágico nas amostras, com um aumento de apenas (10,52 ± 0,5 mg/cm) em relação ao grupo sham.

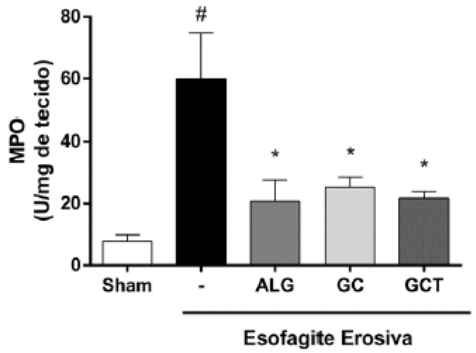
Sousa (2024) em seu modelo de EE obteve um resultado de (69,71 ± 10,99 mg/cm) quando comparados com o grupo sham (31,75 ± 2,326 mg/cm). Já os camundongos previamente tratados com a GCT 10% (57,61 ± 5,343 mg/cm), GC (57,03 ± 6,243 mg/cm) e alginato (58,01 ± 8,718 mg/cm), tiveram seus pesos úmidos similares, diminuindo o edema, porém, não havendo diferença significativa em seus resultados.

.

4.3. Atividade da mieloperoxidase (MPO):

O processo inflamatório também pode ser evidenciado através da avaliação da MPO. Em uma análise em NERD, Nicolau (2018) descreve um aumento de significativo na atividade da MPO (23,14 ± 9,3 U/mg de tecido) em comparação com o grupo sham, enquanto a administração diária da Goma do Cajueiro reduziu a expressão da enzima nos tecidos esofágicos murinos (6,11 ± 0,57 U/mg de tecido). Outrossim, Sousa (2024) demonstrou resultados similares em ratos com EE, com uma concentração de (59,89 ± 14,90 U/mg) e verificando que o grupo tratado com GCT gerou uma concentração de MPO por grama de tecido de (21,75 ± 2,189 U/mg), os grupos tratados com soluções, GC e alginato (ALG) demonstraram um valor próximo de MPO ao da GCT. (**Figura 3**)

Figura 3 - Atividade da MPO avaliada nas amostras



Legenda: Sham = controle; # = EE sem tratamento; ALG = alginato; GC = Goma do cajueiro; GCT = goma do cajueiro tiolada. Efeito da goma do cajueiro (GC), alginato (ALG) e goma do cajueiro tiolada 10% (GCT) na atividade de MPO esofágica em modelos de EE.

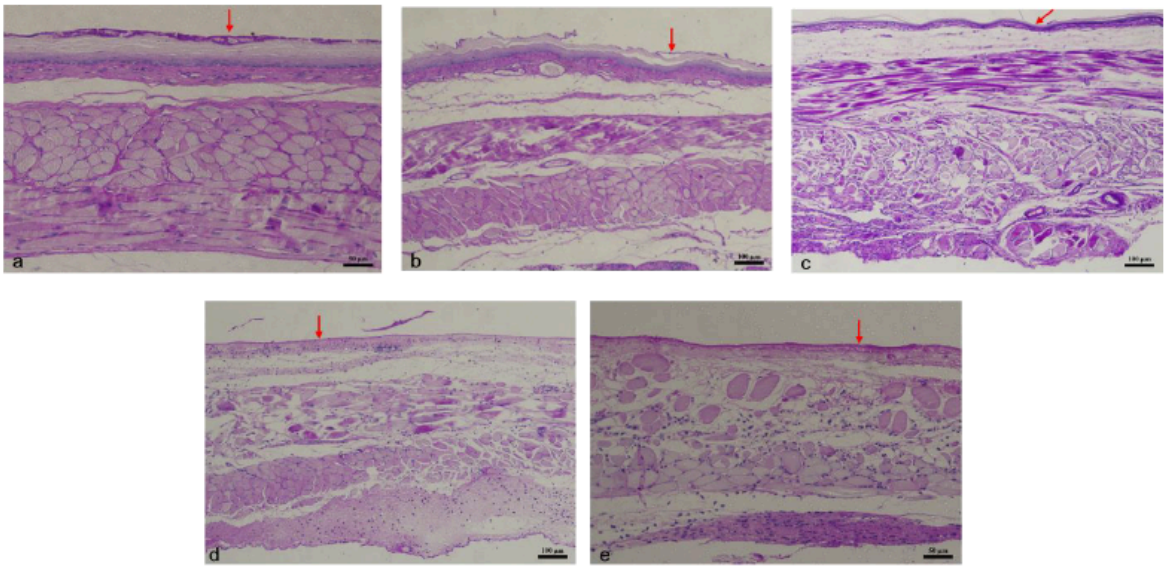
Fonte: Sousa, 2024.

4.4. Análise histopatológica:

Nos animais do grupo controle (sham) observa-se, **Figura 4a**, a integridade da superfície epitelial, bem como a preservação da camada de muco, evidenciada pela seta vermelha. Ademais, os animais do grupo da EE apresentaram perda epitelial evidente, desorganização da arquitetura tecidual e redução da espessura da camada de muco, **Figura 4b**.

Já nas amostras pré-tratadas com o alginato comercial, a superfície epitelial manteve-se preservada, também possibilitando identificar uma camada de muco mais espessa e intensamente corada recobrindo o epitélio esofágico (**Figura 4c**). Por fim, a análise histológica dos animais pré-tratados com GC e GCT a 10% demonstrou preservação da camada de muco em ambos os grupos, **Figuras 4d e 4e**; respectivamente (Sousa, 2024).

Figura 4 - Análise histológica de esôfagos analisados



Legenda: As imagens de a, b, c, d e e representam análise qualitativa do tecido epitelial esofágico retirado das amostras, as setas vermelhas evidenciam a preservação do muco ou a perda dessa continuidade. **(a)** representa grupo sham. **(b)** grupo da ee, nota-se a perda de muco. **(c)** representando o grupo alginato, mantendo integridade. **(d)** percebe-se a integridade da camada de muco, justamente como a imagem **(e)**

Fonte: Sousa, 2024.

5. DISCUSSÃO:

A goma do cajueiro (GC) é um exsudato extraído da planta *Anacardium occidentale L.*, um heteropolissacarídeo de estrutura ramificada e portadora de uma cadeia principal de β-D-galactose ligada a cadeias laterais de glicose e galactose (PITOMBEIRA et al., 2015).

Não obstante, esse sacarídeo possui atividades terapêuticas promissoras como já evidenciadas em literatura, seja uma atividade cicatrizante (SCHIRATO *et al.*, 2006), antibacteriana (QUELEMES *et al.*, 2013), antidiarreica (ARAÚJO *et al.*, 2015) e antiinflamatória (NICOLAU *et al.,* 2019). Outros ensaios também demonstraram um mecanismo gastroprotetor em modelo de lesão etílica. Tais ações dão-se devido a natureza aniônica do exsudato e sua capacidade de ligação em aminoácidos de mucina, servindo como um biofilme protetor (SRIKANTA; SIDDARAJU; DHARMESH, 2007).

Alterações químicas e físicas em biopolímeros, com o objetivo de implementar suas características naturais, potencializando assim seus benefícios medicinais têm sido cada vez mais explorados na indústria farmacológica. Dentre diversas técnicas, como reticulação, enxerto, carboximetilação, a tiolação mostra-se eficiente no implemento de capacidades mucoadesivas (HASNAIN; NAYAK, 2022).

Polímeros naturais, os biopolímeros, possuem intrinsecamente capacidade de formar ligações de hidrogênio, força de Van der Waals e ligações iônicas. Contudo, são ligações frágeis, diminuindo consequentemente o contato da solução com o local desejado no epitélio. Nesse ínterim, adição do ácido tioglicólico foi utilizado com intuito de potencializar os efeitos mucoadesivos. (NAYAK, 2022)

Os polissacarídeos vêm ganhando notoriedade em terapias alternativas aos fármacos amplamente utilizados, como os ARH2 e IBP. Dentre os benefícios dos biopolímeros podemos citar suas atividades antioxidantes, analgésicas, anti-hemorrágicas e anti-inflamatórias (ARAÚJO 2020, PINTO *et al.,* 2019).

O método de Ellman, o qual consiste na adição do reagente de Ellman em solução, que interage com os tióis livres através da ligação dissulfeto, formando um produto de coloração amarelada, o ácido 2-nitro-5-tiobenzóico, podendo ser analisado em um comprimento de onda de 412 nm, como proposto por Bahulkar; Munot e Surwase (2015).

Em sua análise quantitativa, Silva e colaboradores (2024), após processo de tiolação, foram encontradas as seguintes concentrações: a GC apresentou 4,6 mM/g de grupo tiol,

enquanto que GCT50 apresentou 94,66 mM/g de grupo tiol; GCT60 apresentou 96 mM/g de grupo tiol e GCT70 apresentou 89,33 mM/g de grupo tiol.

Com relação a DRGE, estudos evidenciam e demonstram os efeitos benéficos da GC, seus mecanismos de ação anti-inflamatórios e efeitos tópicos devido à adesividade para com a mucosa esofágica (NICOLAU *et al*., 2019). No supracitado estudo, Nicolau e seus colaboradores verificaram que a integridade epitelial se manteve após tratamento de camundongos com doença do refluxo não erosiva induzida experimentalmente (NERD), os autores demonstraram que a natureza aniônica, bem como sua mucoadesão serviram como uma barreira natural e protetora ao lúmen esofágico. Ademais, verificou-se que a aplicação desse polímero não gera toxicidade sistêmica, garantindo segurança e tolerabilidade ao tratamento.

O processo inflamatório do epitélio, caracterizado por lesões microvasculares, edema, e infiltrado de leucócitos que acabam liberando substâncias vasoativas são evidências das alterações proporcionadas pela DRGE. (OH *et al.,*2001) Assim, é possível verificar através do peso úmido esofágico o quadro de edema e recrutamento de células inflamatórias, sendo o peso úmido proporcional ao dano inflamatório que cursa com edema (SILVA *et al*., 2017).

Durante os últimos anos, acreditou-se que a patogênese da inflamação da mucosa esofágica decorria primariamente de um processo de dano direto às células epiteliais pelo conteúdo ácido refluído, conforme proposto por Winkelstein *et al.* (1954). Esse modelo clássico sustentava que o contato do ácido com o epitélio induzia inicialmente a morte das células superficiais, desencadeando uma resposta inflamatória aguda caracterizada por infiltração de neutrófilos e eosinófilos desde o epitélio até a lâmina própria. Consequentemente, as estratégias terapêuticas concentravam-se exclusivamente na supressão da acidez gástrica. No entanto, tal hipótese foi contestada por estudos recentes, que propõem um modelo alternativo no qual a inflamação esofágica induzida pelo refluxo é mediada predominantemente por citocinas, e não pelo dano direto do ácido. Nesse novo entendimento, o contato do conteúdo gástrico com o esôfago não causa necrose imediata das células epiteliais, mas estimula essas células a secretar citocinas pró-inflamatórias, promovendo a migração de linfócitos e neutrófilos, alterações microscópicas progressivas e, por fim, erosões da mucosa (DUNBAR *et al*., 2016). Assim, faz-se necessário alternativas de abordagens terapêuticas que considerem a importância da proteção epitelial da DRGE.

Análises atuais demonstram a capacidade antioxidante dos polissacarídeos vegetais, principalmente da goma do cajueiro, como proposto por Nicolau e colaboradores (2019), confirmando a teoria de que o uso dessa substância melhora marcas inflamatórias causadas pelo refluxo na mucosa, reduzindo seu peso úmido e atividade da MPO no grupo de animais com NERD tratados com a GC.

Já Sousa e colaboradores (2024), demonstraram que a indução do refluxo gastroesofágico (RGE) promoveu aumento da infiltração de células inflamatórias, evidenciado pelo incremento significativo da atividade de mieloperoxidase (MPO), que é um marcador bioquímico indireto da infiltração de granulócitos no tecido. Essa enzima encontra-se presente em grânulos azurofílicos e neutrófilos. Observou-se, ainda, que tanto a goma do cajueiro (GC) quanto sua forma tiolada (GCT) reduziram o edema e o infiltrado neutrofílico, indicando que esse polissacarídeo desempenha um papel relevante na atenuação da resposta inflamatória esofágica, conforme evidenciado pela redução desses marcadores inflamatórios.

6. Conclusão:

O estudo do efeito esofagoprotetor da GC e GCT foi confirmado através das análises presentes, uma vez que a avaliação histológica e de marcadores inflamatórios demonstrou uma diminuição desses marcadores nas amostras tratadas com a solução do biopolímero. Esses achados evidenciam e reforçam o potencial terapêutico do polissacarídeo e suas possíveis alterações químicas que potencializam seus efeitos protetores com as lesões provocadas pela DRGE.

Assim, pode-se afirmar que há efeito esofagoprotetor com o tratamento alternativo com goma do cajueiro tiolada, principalmente devido a boa mucoadesão, atividade anti-inflamatória e baixa toxicidade, por se tratar de um biopolímero.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

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 a*l. 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.

ARMSTRONG, D.; SIFRIM, D. New pharmacologic approaches in gastroesophageal reflux disease. **Thoracic Surgery Clinics**, v. 21, n. 4, p. 557-574, 2011.

BAHULKAR S.S.; MUNOT N. M.; SURWASE S. S. Synthesis, characterization of thiolated karaya gum, and evaluation of the effect of pH on its mucoadhesive and sustained release properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 183-190, 2015.

BANDYOPADHYAY, P. K.; NAYAK, A. K. **Synthesis of Thiolated Cashew Gum and Its Evaluation as an Improved Mucoadhesive Agent in Drug Delivery.** International Journal Of Drug Delivery Technology, v. 13, n. 1, 2023a.

BRADLEY, P. P. et al. Cellular and extracellular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood**., v. 60, p. 618–622, 1982.

CAI, N. *et al.* Association between body mass index and erosive esophagitis: a meta-analysis. **World Journal of Gastroenterology**: WJG, v. 18, n. 20, p. 2545-2553, 2012.

CAVIGLIA, R.; RIBOLSI, M.; MAGGIANO, N.; GABBRIELLI, A.M.; EMERENZIANI, S. et al. Dilated intercellular spaces of esophageal epithelium in nonerosive reflux disease patients with physiological esophageal acid exposure. **Am J Gastroenterol**., n.100, v.3, p. 543-8, Mar, 2005.

CHAVES, L. S. *et al*. Antiinflammatory and antinociceptive effects in mice of a sulfated polysaccharide fraction extracted from the marine red algae Gracilaria caudata. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 35, n. 1, 2013.

FIGUEIREDO, A. A. *et al*. Topical protection of mice laryngeal mucosa using the natural product cashew gum. **The Laryngoscope**, v. 128, n. 5, p. 1157-1162, 2018.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. Cordia verbenacea DC Boraginaceae. **Revista Fitos**, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 17- 25, 2012.

GYAWALI, C. P. *et al*. The esophageal mucosal barrier in health and disease: mucosal pathophysiology and protective mechanisms. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1482, n. 1, p. 49-60, 2020.

KAUR, H. *et al*. **Synthesis, characterization and evaluation of thiolated tamarind seed polysaccharide as a mucoadhesive polymer**. Carbohydrate Polymers, v. 90, n. 4, p. 1543-1549, 2012.

NADER F, COSTA JSD, NADER GA, MOTTA GLCZ. **Prevalência de pirose em Pelotas, RS, Brasil: estudo de base populacional**. Arq Gastroenterol 2003;40:31-4.

NICOLAU, L. A. D. *et al*. Cashew gum, a biopolymer, topically protects oesophageal mucosa in Non erosive reflux disease: A promising translational study. **Carbohydrate Polymers**, v. 226, p. 1-11, 2019.

OH, T-Y. *et al.* Oxidative damages are critical in pathogenesis of reflux esophagitis: implication of antioxidants in its treatment. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 30, n. 8, p. 905-915, 2001.

OLIVEIRA, A. C. **Avaliação do polissacarídeo da goma do cajueiro (Annacardium occidentale L.) como agente mucoadesivo e controlador da liberação em comprimidos matriciais**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.

OLIVEIRA SS, SANTOS IS, SILVA JFP. **Prevalência e fatores associados a doença do refluxo gastroesofágico.** Arq Gastroenterol. 2005; 42(2):116-121.

OU, J. L. *et a*l. **Prevalence and risk factors of erosive esophagitis in Taiwan**. Journal of the Chinese Medical Association, v. 75, n. 2, p. 60-64, 2012.

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.

PURI, V. *et al*. Synthesis and characterization of thiolated gum ghatti as a Novel excipient: development of compression-coated mucoadhesive tablets of domperidone. **ACS Omega**, v. 6, n. 24, p. 15844-15854, 2021.

QUELEMES, P. V. et al. Development and antibacterial activity of cashew gum- based silver nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v.14, n. 3, p. 4969–4981, 2013.

RIBEIRO, F. O. S. *et a*l. Structural characterization, antifungal and cytotoxic profiles of quaternized heteropolysaccharide from Anadenanthera colubrina. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 279-290, 2020.

SAROSIEK, J.; MCCALLUM, R. W.. Mechanisms of oesophageal mucosal defence. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 14, n. 5, p. 701-717, 2000.

SCARPELLINI, E. *et al*. **Management of refractory typical GERD symptoms.** Nat Rev Gastroenterol Hepatol., v. 13, p. 281–294, 2016.

SCHIRATO, G. V. et al. O polissacarídeo do Anacardium occidentale L. na fase inflamatória do processo cicatricial de lesões cutâneas. **Ciência Rural**, v. 36, p. 149- 154, 2006.

SILVA, D. R. **Obtenção e caracterização de micropartículas utilizando goma de cajueiro**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.

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 Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 39, p. 5196, 2007.

ZENTILIN, P. et al. Complexity and diversity of gastroesophageal reflux disease pheNotypes. **Minerva Gastroenterologica e Dietologica**, v. 63, n. 3, p. 198-204, 2017.