



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**PAULO ROBERTO PAVÃO FREIRE**

**AVALIAÇÃO DO EFEITO GASTROPROTETOR DA LOCUST BEAN GUM  
(*Ceratonia siliqua Linn*) & GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA NO MODELO  
DE GASTRITE AGUDA EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ETANOL**

**FORTALEZA**

**2022**

PAULO ROBERTO PAVÃO FREIRE

AVALIAÇÃO DO EFEITO GASTROPROTETOR DA LOCUST BEAN GUM (*Ceratonia siliqua linn*) & GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA NO MODELO DE GASTRITE AGUDA EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ETANOL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

**Orientador:** Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares

**FORTALEZA**

**2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- F934a Freire, Paulo Roberto Pavão.  
Avaliação do efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum (*Ceratonia siliqua* linn) & galactomanana de Cassia fistula no modelo de gastrite aguda experimental induzida por etanol / Paulo Roberto Pavão Freire.  
– 2022.  
78 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2022.  
Orientação: Prof. Dr. Pedro Marcos Gomes Soares .
1. Gastrite. 2. Biopolímeros. 3. Polissacarídeos. I. Título.

CDD 615.1

---

**A Deus. A mim.**

Aos meus pais, Marcia Pavão e Paulo Costa.

PAULO ROBERTO PAVÃO FREIRE

AVALIAÇÃO DO EFEITO GASTROPROTETOR DA LOCUST BEAN GUM (*Ceratonia siliqua Linn*) & GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA NO MODELO DE GASTRITE AGUDA EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ETANOL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em: 07 / 04 / 2022

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Pedro Marcos Gomes Soares  
(Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr<sup>o</sup>. Jand Venes Rolim Medeiros

Universidade Federal do Delta do Parnaíba (UFDPAr)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Pablyana Leila Rodrigues da Cunha

Universidade Federal do Ceará (UFC)

## AGRADECIMENTOS

À Instituição de fomento CNPq, pelo apoio financeiro através da manutenção da bolsa de auxílio.

Ao Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. **Pedro Marcos Gomes Soares**, pela orientação, pela confiança depositada, por tamanho privilégio e oportunidade de poder aprender mais sobre pesquisa, ciência e por ter tido tanta paciência. Sempre serei grato por me trazer para a realidade, ao me mostrar o que é certo e melhor para mim.

Ao Dr<sup>o</sup>. **Álvaro Franco** pelas orientações e por ter sido meu guia na pesquisa.

A Dr<sup>a</sup>. **Priscilla Fernanda Campos Justino**, por ter me inserido na pesquisa desde a iniciação científica e ser essa profissional referência na vida, serei eternamente grato.

Aos professores participantes da banca examinadora, pelo aceitei, e suas considerações construtivas.

Aos alunos de iniciação científica **Thiago Andrade e Lara Mara**, pela maturidade e ciência dos percalços da pesquisa, por terem me auxiliado em tantos experimentos e contribuído diretamente com os resultados desse estudo.

A meu grupo auxiliar nos experimentos de mestrado, **Maria Klayre, Francisca Géssica e Maria de Fathima** que serviram também de apoio físico e emocional no dia a dia do laboratório, obrigado por cada conhecimento dividido comigo.

À minha mãe, **Marcia Moraes Pavão**, que tanto luta pelo alcance dos meus objetivos, dando-me suporte e fazendo todo o possível por mim. Aos meus avós, exemplo de luta e determinação. À minha família, ao meu pai, **Paulo Costa** que me permitiu estar defendendo meu mestrado hoje. Ao meu padrinho **Welton Tenório** pelo apoio e em especial a minha madrinha **Giane Barros**, obrigado por ser essa pessoa de luz em minha vida. A minha irmã **Marla Teresa**. Ao meu companheiro **Cristian Albuquerque**.

Aos companheiros de jornada, no laboratório e de vida, **Renata, Sarah, Humberto, Thiago, Bela, Carlos, Suliana**, (minha segunda coorientadora), pelos experimentos e os cafés compartilhados, pelos momentos, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Ao professor **Roberto César**, coordenador do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e às secretárias do departamento **Laura e Milena**, pela excelência ao sempre me auxiliar, paciência e toda a dedicação em se esforçar para ajudar nos trâmites burocráticos.

“Tempus fugit.” (Públio Virgílio Maro, 70 a 19  
a.C, livro Geórgicas).

**AVALIAÇÃO DO EFEITO GASTROPROTETOR DA LOCUST BEAN GUM (*Ceratonia siliqua* Linn) & GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA NO MODELO DE GASTRITE AGUDA EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ETANOL**

**RESUMO**

A gastrite é definida como uma alteração na mucosa estomacal, influenciada, principalmente, pela má ingestão de conteúdo alimentar ou substâncias nocivas como o etanol. Essa patologia, atualmente possui intervenções com diversas limitações. Devido a isso, o presente estudo teve por objetivo avaliar os possíveis efeitos gastroprotetores da Locust Bean Gum (LBG) & galactomananas de Cassia Fistula (GMNN de CF) frente a ação do etanol a mucosa gástrica de camundongos swiss, nos quais esses foram divididos (n de 6) em grupos: salina, omeprazol (OME - 40mg/kg), lesão gástrica (LG - etanol 50%) e pré-tratados com a LBG, GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg, com subsequentes análises macroscópicas, histológicas, mensuração de mieloperoxidase (MPO), glutatona reduzida (GSH), níveis de malonaldeído (MDA), hemoglobina tecidual e citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ) nos estômagos dos animais. As análises iniciais do tecido estomacal dos animais pré-tratados com as galactomananas nas doses de 5, 10 e 30mg/kg respectivamente, evidenciaram que a LBG (32, 34 e 28%) e GMNN de CF (36, 29 e 21%), destacaram índices de lesões hemorrágicas significativamente ( $p < 0,05$ ) menos expressivos que o grupo LG, sendo esses similares ao grupo OME (33%). Assim como para os dados histológicos, em que foi exibido a capacidade da LBG e GMNN de CF em reduzir significativamente ( $p < 0,05$ ) alterações como edema, perda de células epiteliais e infiltrado celular, com exceção da hemorragia para o grupo LBG, quando comparados ao grupo LG. Os níveis da MPO foram reduzidos durante as análises do pré-tratamento com OME (46%) e de forma semelhante e estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) nos grupos LBG (50, 58 e 48%) e GMNN de CF (46, 44.7 e 48%), nas doses de 5, 10 e 30mg/kg, quando comparados ao grupo LG. As mensurações dos índices de GSH se mostraram reduzidas no grupo LG (73%), sendo seu consumo menos elevado somente com o tratamento com OME (124%), não se encontrando atividade moduladora significativa ( $p < 0,05$ ) da LBG (99,102 e 92%) e GMNN de CF (97, 93 e 111%) nas doses iniciais. Contudo frente as análises de MDA nas concentrações anteriormente citadas, a LBG (31, 59 e 40%) e GMNN de CF (38, 52 e 43%) se mostram eficazes em reduzir estatisticamente ( $p < 0,05$ ) seus índices, e assim como esperado no pré-tratamento com OME (41%). Mediante os resultados, a dose de 10mg/kg foi a escolhida para dar continuidade aos testes de hemoglobina tecidual, onde foi observado níveis estatisticamente ( $p < 0,05$ ) reduzidos nos grupos OME (64%) e GMNN de CF (79%), sendo esse efeito não observado para o grupo LBG (120%); e para mensuração dos níveis de citocinas pró-inflamatórias, em que as análises de IL-1 $\beta$  se mostraram significativamente ( $p < 0,05$ ) reduzidas para os grupos OME, e nos pré-tratamentos com a LBG e GMNN de CF. Em quanto os índices de TNF- $\alpha$  se mostram significativamente ( $p < 0,05$ ) reduzidos somente nos grupos OME e LBG. Dado pelo exposto se pode observar os efeitos gastroprotetores da LBG e GMNN de CF ao reduzirem aspectos lesivos, hemorrágicos, inflamatórios e parâmetros de estresse oxidativo, em níveis de MDA.

**Palavras chaves:** Gastrite aguda. Polissacarídeos. Galactomananas. Biopolímeros.



**EVALUATION OF THE GASTROPROTECTIVE EFFECT OF LOCUST BEAN GUM  
(*Ceratonia siliqua* Linn) & CASSIA FISTULA GALACTOMANAN IN THE ETHANOL-  
INDUCED EXPERIMENTAL ACUTE GASTRITIS MODEL**

**ABSTRACT**

Gastritis is defined as a change in the stomach mucosa, mainly influenced by poor intake of food content or harmful substances such as ethanol. This pathology currently has interventions with several limitations. Therefore, the present study aimed to evaluate the possible gastroprotective effects of Locust Bean Gum (LBG) & galactomannans from Cassia Fistula (GMNN from CF) against the action of ethanol on the gastric mucosa of Swiss mice, in which they were divided (n of 6) in groups: saline, omeprazole (OME - 40mg/kg), gastric lesion (LG - 50% ethanol) and pre-treated with LBG, GMNN of CF at doses of 5, 10 and 30 mg/kg, with subsequent macroscopic and histological analyses, measurement of myeloperoxidase (MPO), reduced glutathione (GSH), levels of malonaldehyde (MDA), tissue hemoglobin and pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ ) in the animals' stomachs. Initial analyzes of the stomach tissue of animals pre-treated with galactomannans at doses of 5, 10 and 30mg/kg, respectively, showed that LBG (32, 34 and 28%) and CF GMNN (36, 29 and 21%), highlighted significantly ( $p < 0.05$ ) less significant rates of hemorrhagic lesions than the LG group, which were similar to the OME group (33%). As for the histological data, the ability of LBG and GMNN of CF to significantly reduce ( $p < 0.05$ ) alterations such as edema, loss of epithelial cells and cellular infiltrate was shown, with the exception of hemorrhage for the LBG group, when compared to the LG group. MPO levels were reduced during pretreatment analyzes with OME (46%) and similarly and statistically significantly ( $p < 0.05$ ) in the LBG (50, 58 and 48%) and CF GMNN groups (46, 44.7 and 48%), at doses of 5, 10 and 30mg/kg. The measurements of GSH indices were reduced in the LG group (73%), and its consumption was lower only with the treatment with OME (124%), with no significant modulating activity ( $p < 0.05$ ) of LBG (99.102 and 92%) and CF GMNN (97, 93 and 111%) in the initial doses. However, in view of the MDA analyzes at the concentrations mentioned above, LBG (31, 59 and 40%) and CF GMNN (38, 52 and 43%) are shown to be effective in statistically reducing ( $p < 0.05$ ) their indices, and as expected in pretreatment with OME (41%). Based on the results, the dose of 10mg/kg was chosen to continue the tissue hemoglobin tests, where statistically ( $p < 0.05$ ) reduced levels were observed in the OME (64%) and GMNN CF groups (79%), and this effect was not observed for the LBG group (120%); and to measure the levels of pro-inflammatory cytokines, in which the IL-1 $\beta$  analyzes were significantly ( $p < 0.05$ ) reduced for the OME groups, and in the pre-treatments with LBG and GMNN of CF. While the TNF- $\alpha$  indices are shown to be significantly ( $p < 0.05$ ) reduced only in the OME and LBG groups. Given the above, it is possible to observe the gastroprotective effects of LBG and GMNN of CF by reducing harmful, hemorrhagic, inflammatory aspects and oxidative stress parameters, in MDA levels.

**Keywords:** Acute gastritis. Polysaccharides. Galactomannans. Biopolymers.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Anatomohistologia do estômago.....	04
Figura 2	– Estimulo fisiológico da secreção ácida e mecanismos gastroreguladores.....	05
Figura 3	– Secreções iônicas das células parietais e atuantes da regulação.....	06
Figura 4	– Estrutura geral das galactomananas.....	17
Figura 5	– Descrição botânica da Alfarrobeira .....	19
Figura 6	– Descrição botânica da Cassia Fistula.....	20
Figura 7	– Efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum e Galactomanana de Cassia fistula na representação macroscópica e sobre índices de lesões hemorrágicas.....	31
Figura 8	– Fotomicrografias do tecido estomacal de camundongos submetidos ao protocolo experimental de gastrite aguda alcoólica.....	34
Figura 9	– Efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum e Galactomanana de Cassia fistula sobre a atividade da MPO no tecido estomacal de camundongos.....	35
Figura 10	– Atividade da Locust Bean Gum e Galactomanana de Cassia fistula sobre o consumo de GSH no tecido estomacal causado pelo etanol.....	36
Figura 11	– Efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum e Galactomanana de Cassia fistula sobre a produção do produto derivado da peroxidação lipídica advindos da exposição do etanol ao tecido gástrico.....	37
Figura 12	– Capacidade moduladora da Locust Bean Gum e Galactomanana de Cassia Fistula sobre a presença de hemoglobina no tecido estomacal de animais submetidos ao protocolo GA alcoólica.....	38
Figura 13	– Efeito modulador da Locust Bean Gum e Galactomanana de Cassia fistula sobre os níveis das citocinas proinflamatórias IL-1 $\beta$ e TNF- $\alpha$ presentes no tecido gástrico de animais durante os efeitos lesivos causados pelo etanol.....	39
Figura 14	– Modelo hipotético referente a gastroproteção da Locust Bean Gum e galactomanana de Cassia Fistula frente a ação patológica do etanol .....	51

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Escores histológicos do tecido estomacal de animais submetidos ao protocolo de lesão gástrica por etanol e pré-tratados com Locust Bean Gum.....	32
<b>Tabela 2</b> – Escores histológicos do tecido estomacal de animais submetidos ao protocolo de lesão gástrica por etanol e pré-tratados com galactomanana de Cassia Fistula.....	32

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs	Anti-inflamatórios não esteróides
ARH2	Antagonista do Receptor de Histamina 2
CCK2	Colecistoquinina 2
CCKB	Gastrina-colecistocinina B
CEUA	Comissão de ética em pesquisa animais
CF	Cássia Fistula
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
COX 1	Ciclooxigenase 1
COX 2	Ciclooxigenase 2
CP	Células Parietais
DPAs	Doenças Pépticas ácidas
DRGE	Doença do refluxo gastresofágico
EDTA	ácido etilenodiaminotetraacético
GA	Gastrite Aguda
GMNNs	Galactomananas
GSH	Glutationa Reduzida
<i>H. pylori</i>	Helicobacter pylori
IBPs	Inibidores da bomba de prótons
IGF-1	Fator de Crescimento
IL-1 $\beta$	Interleucina um beta
IL-6	Interleucina seis
LBG	Locust Bean Gum
LG	Lesão Gástrica
M/G	Monose/Galactose
MDA	Malonaldeído
MG	Mucosa Gástrica
MPA	Membrana Plasmática Apical
MPO	Mieloperoxidase
NO	Óxido Nitrico
OME	Omeprazol
PGE2	Prostaglandinas E2

PGI	Prostaciclina
PGs	Prostaglandinas
PLD	Polissacarídeos
SOD	Superóxido dismutase
SUS	Sistema Único de Saúde
TCA	Ácido tricloroacético
TGF $\alpha$	Fator de Crescimento
TGI	Trato Gastrointestinal
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral- $\alpha$
UFC	Universidade Federal do Ceará
UG	Úlceras Gástricas
V.O	Via Oral

## LISTA DE SÍMBOLOS

H <sup>+</sup>	Hidrogênio
K <sup>+</sup>	Potássio
Cl <sup>-</sup>	Cloreto
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Bicarbonato
μL	Microlitros
mL	Mililitros
Mg	Miligramas
g	Gramas
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peroxido de hidrogênio
g	Gramas
h	Hora
H <sub>2</sub> S	Sulfeto de Hidrogênio
K <sup>+</sup>	Íon Potássio
kg	Quilograma
log	Logaritmo
M	Molar
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mm <sup>3</sup>	Milímetro cúbico
mmol	Milimolar
Na <sup>+</sup>	Íon Sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanômetro
nmol	Nanomolar
NP-SH	Grupo sulfidrílico não-protéico
°C	Graus Celsius
pg	Picograma
pH	Potencial hidrogeniônico
rpm	Rotação por minuto
UMPO	Unidade de Mieloperoxidase

$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Gama
$\mu\text{l}$	Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
2.1	Morfofisiologia gástrica .....	4
2.1.2	Papel das prostaglandinas, do muco e do óxido nítrico na proteção gástrica ...	7
2.1.3	Sistema antioxidante da mucosa gástrica.....	9
2.2	Gastrite.....	10
2.2.1	Etanol e lesão gástrica.....	11
2.2.2	Terapias atuais para gastrite.....	12
2.3	Produtos naturais e as doenças pépticas ácidas.....	13
2.4	Polissacarídeos e suas aplicações terapêuticas.....	14
2.5	Galactomananas.....	16
2.5.1	Galactomanana de Alfarroba (Locust Bean Gum) .....	17
2.5.2	Galactomanana de Cassia Fistula .....	20
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA E RELEVANCIA .....</b>	<b>22</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>24</b>
4.1	Objetivos específicos .....	24
<b>5</b>	<b>MATERIAIS E METODOS.....</b>	<b>25</b>
5.1	Analises e obtenção das galactomananas de <i>Cassia fistula</i> e de alfarroba (Locust Bean Gum) .....	25
5.2	Animais.....	26
5.3	Lesão gástrica induzida por etanol.....	26
5.4	Delineamento experimental (pré-tratamento e indução da gastrite) .....	26
5.5	Avaliação Macroscópica .....	27
5.6	Análise histológica do tecido gástrico .....	27
5.7	Avaliações Bioquímicas do estresse oxidativo .....	28
5.7.1	Mensurações dos níveis de glutathione (GSH) .....	28
5.7.2	Mensurações dos níveis de malondialdeído (MDA) .....	28
5.8	Quantificação de Hemoglobina .....	28
5.9	Avaliação da Atividade da Mieloperoxidase (MPO) .....	29
5.10	Quantificação de Citocinas .....	29
5.11	Analises estatísticas .....	30



<b>6</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>31</b>
6.1	Efeito protetor da Locust Bean Gum & galactomanana de Cassia Fistula sobre as alterações macroscópicas na parede do estômago causadas pela exposição do etanol .....	31
6.2	Efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum & galactomanana de Cassia Fistula sobre as alterações histológicas causa pelo etanol .....	32
6.3	Efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum & galactomanana de Cassia Fistula sobre a atividade da mieloperoxidase.....	35
6.4	Avaliação gastroprotetora da Locust Bean Gum & galactomanana de Cassia Fistula sobre o estresse oxidativo, através da dosagem de glutathiona (GSH).....	36
6.5	Efeito da Locust Bean Gum & galactomanana de Cassia Fistula sobre os índices de peroxidação lipídica (MDA) .....	37
6.6	Ação da Locust Bean Gum & galactomanana de Cassia Fistula sobre os níveis de hemoglobina presentes no tecido estomacal de camundongos submetidos ao protocolo de gastrite aguda .....	38
6.7	Efeito da Locust Bean Gum & galactomanana de Cassia Fistula sobre os níveis de citocinas proinflamatórias IL-1 $\beta$ e TNF- $\alpha$ no tecido estomacal de camundongos exposto ao etanol .....	39
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>9</b>	<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>52</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>61</b>
	ANEXO A: Termo de aprovação pelo comitê de ética e uso de animais (CEUA) .....	61

## 1. INTRODUÇÃO

O estômago é considerado um dos principais órgãos responsável pela digestão de conteúdos alimentares no organismo, desempenhando a função de prepara-los para absorção, metabolização e eliminação pelo intestino. O conteúdo gástrico presente no interior do compartimento estomacal é formado por uma grande quantidade de íons de hidrogênio associado ao cloreto, formando o ácido clorídrico e proteases, tornando esse um componente único e central do processo digestivo (RAMSAY, CARR, 2011). Contudo como um órgão de grande papel funcional, o estômago se torna susceptível a alterações de caráter patológico como o câncer, úlceras gástricas (UG) e a gastrite, definida como uma alteração na mucosa estomacal, de caráter agudo e crônico, influenciada, principalmente, pela má ingestão de conteúdo alimentar ou substâncias nocivas, o que modifica o funcionamento do órgão (DANI; PASSOS, 2011; KIM; SHIVDASANI, 2016).

O desequilíbrio entre os fatores agressores e protetores é a principal causa da gastrite aguda (GA), evidenciada pela participação de vários mediadores inflamatórios liberados por células do próprio epitélio gástrico, tendo como consequência o desenvolvimento de lesões, como as úlceras gástricas (WALLACE, MA, 2001).

No Brasil, é evidenciado altos custos pelos serviços de saúde relacionados ao diagnóstico, tratamento e internações hospitalares envolvendo doenças do aparelho digestivo, incluindo entre essas a gastrite. Sendo destacado também a falta do diagnóstico precoce, com um tratamento adequado e eficaz. Além do fato do último boletim do sistema de informações do SUS, o DATASUS, referente ao período de março de 2016 a outubro de 2021, contabilizar 6.087 internações por gastrites, duodenites, úlceras gástricas e/ou duodenais, com custos para o governo federal de R\$ 3.071.484,16 em serviços hospitalares (BRASIL, 2022).

A incidência da gastrite está associada a uma série de doenças e condições ambientais, como o estresse, genética e hábitos alimentares, sendo dessa forma de etiologia variada. A dieta é considerada um fator determinante na fisiologia gástrica, em que esse processo permite que haja a exposição de substâncias como o etanol e alimentos de temperaturas variáveis a mucosa gástrica (MG), causando danos significativos como erosões e eritemas (SILVA, CORRADI, ZAMBERLAN, 2006). O consumo abusivo do etanol está relacionado a aproximadamente 60 tipos diferentes de doenças, dentre elas a GA na qual a exposição desse agente, em primeira instância, causa distúrbios estomacais, seguido de gastrite hemorrágica erosiva aguda, e com o uso prolongado, a gastrite atrófica crônica. (LI et al., 2018).

Diante das desregulações dos fatores protetores, como a solubilização do muco e a excedente da capacidade protetora das prostaglandinas e do óxido nítrico, o etanol é citado também por influenciar uma maior formação de espécies reativas de oxigênio causando o processo chamando de peroxidação lipídica, que ocorre através da produção de radicais livres agindo sobre lipídios insaturados de membranas celulares, gerando produtos como o malondialdeído (MDA). Além da desregulação do sistema antioxidante celular, que atua de modo geral, através da enzima superóxido dismutase, que catalisa a dismutação do radical superóxido em oxigênio molecular, então decomposto em um radical menos nocivo, o peróxido de hidrogênio, seguido da sua degradação pelas enzimas catalase e o sistema da glutathione peroxidase, que tem como principal marcador a glutathione reduzida (GSH), gerando em última instância o oxigênio e/ou água (WEYDERT; CULLEN, 2010; LUANGWATTANANUN et al., 2017).

As doenças pépticas ácidas (DPAs), que incluem a gastrite e as UGs, atualmente possuem como tratamento dieta nutricional direcionada, com a descontinuação dos agentes agressores e, principalmente, a utilização de medicamentos que causam supressão da produção de ácido, como os antiácidos, os inibidores da bomba de prótons, principal intervenção utilizada, e os antagonistas dos receptores de histamina tipo 2 (ARH2). Esses fármacos promovem o alívio dos sintomas com a melhora e diminuição das UGs, entretanto, suas utilizações possuem diversas limitações, em destaque para efeitos tóxicos ao sistema gastrointestinal (DONG; KAUNITZ, 2006; HUNT et al., 2015; SIERRA et al., 2018).

Devido a isso, estudos científicos ao longo dos anos demonstraram e padronizaram modelos experimentais utilizando o etanol como agente etiológico para indução da gastrite aguda (GA), nos quais esses se tornaram frequentemente utilizados para rastrear e evidenciar compostos que possuem atividade gastroprotetoras, principalmente, aquelas que utilizam produtos naturais com propriedades anti-inflamatórias. Dentre esses compostos as moléculas com a capacidade gel adesiva vem se destacando, devido as suas propriedades bioaderentes que ocorrem ao entrarem em contato com o compartimento do estômago, formando uma segunda camada na mucosa gástrica a protegendo contra agentes agressivos (PANTOJA, 2015; MARQUES et al., 2019; LI et al., 2018; ZHANG et al., 2019).

Dentre as macromoléculas com capacidade bioadesivas estão as galactomananas (GMNNs), um grupo de polissacarídeos ricos em manano, presentes na semente de leguminosas e que possui grandes potenciais terapêuticos, em destaque algumas GMNNs que apresentam em sua composição grande quantidade de manose, o que favorece a formação de

um conteúdo gelatinoso ao entrarem em contato com a água, efeito esse denotado pelas GMNNs de alfarroba, ou Locust Bean Gum (LBG) e de Cássia Fistula (CF) (BARAK, MUDGIL, 2014; SILVA et al., 2020).

A LBG é um polissacarídeo amplamente empregado pela área biofarmacêutica como um biopolímero utilizado na forma de um excipiente eficaz na biodistribuição oral de fármacos, além disso a literatura demonstrou que sua utilização possibilitou a redução ou controle do *diabetes mellittus*. Já a GMNN de CF não possui publicações em periódicos de pesquisas que explorem seu potencial terapêutico, apenas estudos experimentais relacionados a outros constituintes derivados da planta, como o extrato do fruto da CF que demonstrou propriedades antioxidantes e hepatoprotetora em modelo de lesão hepática medicamentosa em murinos (KALANTARI et al., 2010). Além de outros componentes como os fenólicos, proantocianidinas e flavonoides que demonstraram propriedades moduladora do estresse oxidativo (LUXIMON-RAMMA et al., 2002). O que caracteriza esse trabalho como pioneiro em seu estudo, no qual se baseia na semelhança da sua composição a LBG, a tornando alvo de estudo comparativo, com o intuito de correlacionar um possível efeito terapêutico a suas estruturas (DIONÍSIO, GRENHA, 2012; PRAJAPATI et al., 2013; SILVA et al., 2020).

Diante disso o presente estudo tem como base para sua realização as evidentes limitações encontradas nos tratamentos das DPAs, incluindo entre essas a gastrite aguda. Além do fato de existirem hipóteses associando o uso prolongado IBPs a alterações no microambiente estomacal, o que favorecem quadros hiperplásicos e o então surgimento de processos neoplásicos malignos (KATO et al., 2006). Essas evidencias destacam a necessidade da busca de fármacos que demonstrem um potencial gastroprotetor e que permitam sanar os efeitos colaterais causados pelas terapias atuais para GA. Frente a isso, os compostos classificados como biopolímeros, demonstram eficácia na proteção contra agentes agressores a mucosa gástrica, além de serem produtos naturais que possuem características terapêuticas evidentes, com baixo custo e de fácil obtenção, em destaque também para aqueles que possuem pouca ou nenhuma toxicidade ao organismo humano como é o caso da Locust Bean Gum (bem descrito na literatura) e da GMNN de Cassia Fistula (ensaio de toxicidade realizado por Silva et al.(2020)) e que demonstram propriedades gelificantes com composições estruturais semelhantes o que pode possibilitar as suas utilizações no tratamento da GA.

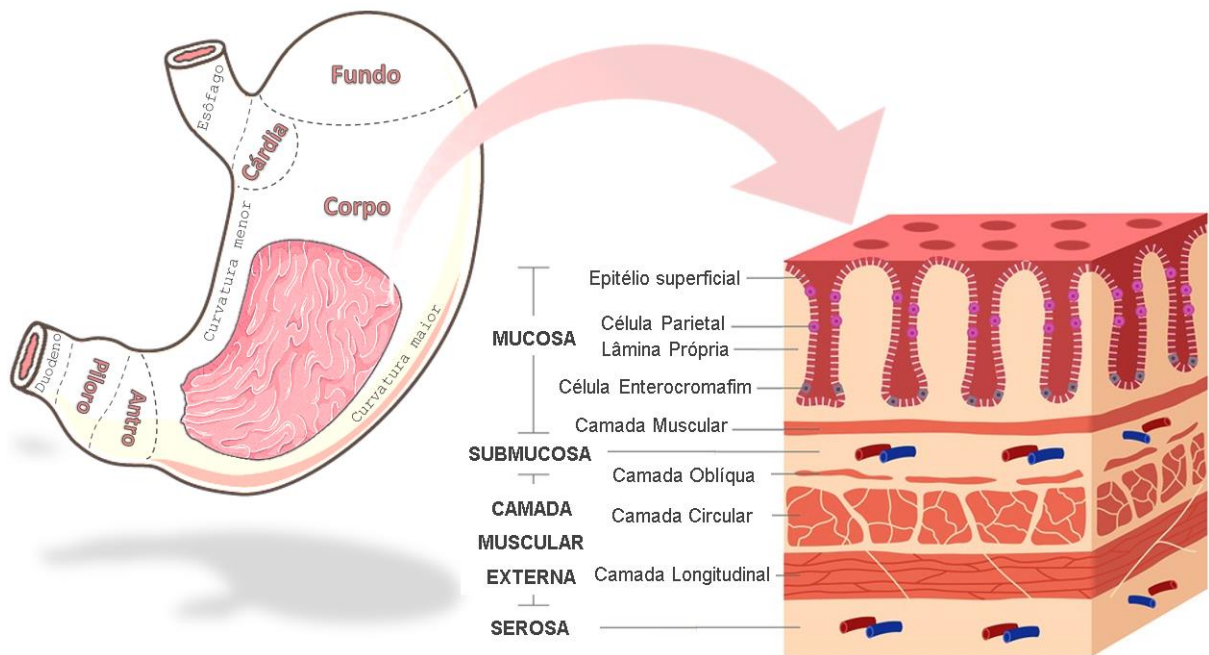
Dado pelo exposto, se tem como o objetivo desse estudo a avaliação do potencial gastroprotetor da Locust Bean Gum e da galactomanana de Cassia Fistula, através do modelo experimental de gastrite aguda induzida por etanol.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 MORFOFISIOLOGIA GÁSTRICA

O trato gastrointestinal (TGI) é considerado um sistema complexo composto por órgãos responsáveis pela digestão e metabolismo dos alimentos, no qual o estômago é considerado o órgão central da degradação do conteúdo alimentar, desempenhando a função de prepará-los para absorção, metabolização e eliminação pelo intestino. Caracterizado por ser um órgão dilatado, situado na cavidade abdominal, abaixo do diafragma; em continuação ao esôfago e precedendo o intestino. O estômago é considerado um compartimento tecidual que possui fortes paredes musculares, o que o permite grandes capacidades contráteis (movimentos peristálticos) e uma mecânica digestiva. Anatomicamente o compartimento estomacal é dividido, principalmente, em região da Cárdia, porção inicial interligada ao esôfago, corpo e fundo, segmentos com maior distribuição, e as porções distais antro e piloro. Já a sua constituição histológica é formada por mucosa, submucosa, camada muscular externa e serosa, em que a porção da mucosa possui uma complexa estrutura secretora responsável pela formação do conteúdo único e central do compartimento estomacal (figura 1) (SOYBEL et al., 2005; RAMSAY, CARR, 2011).

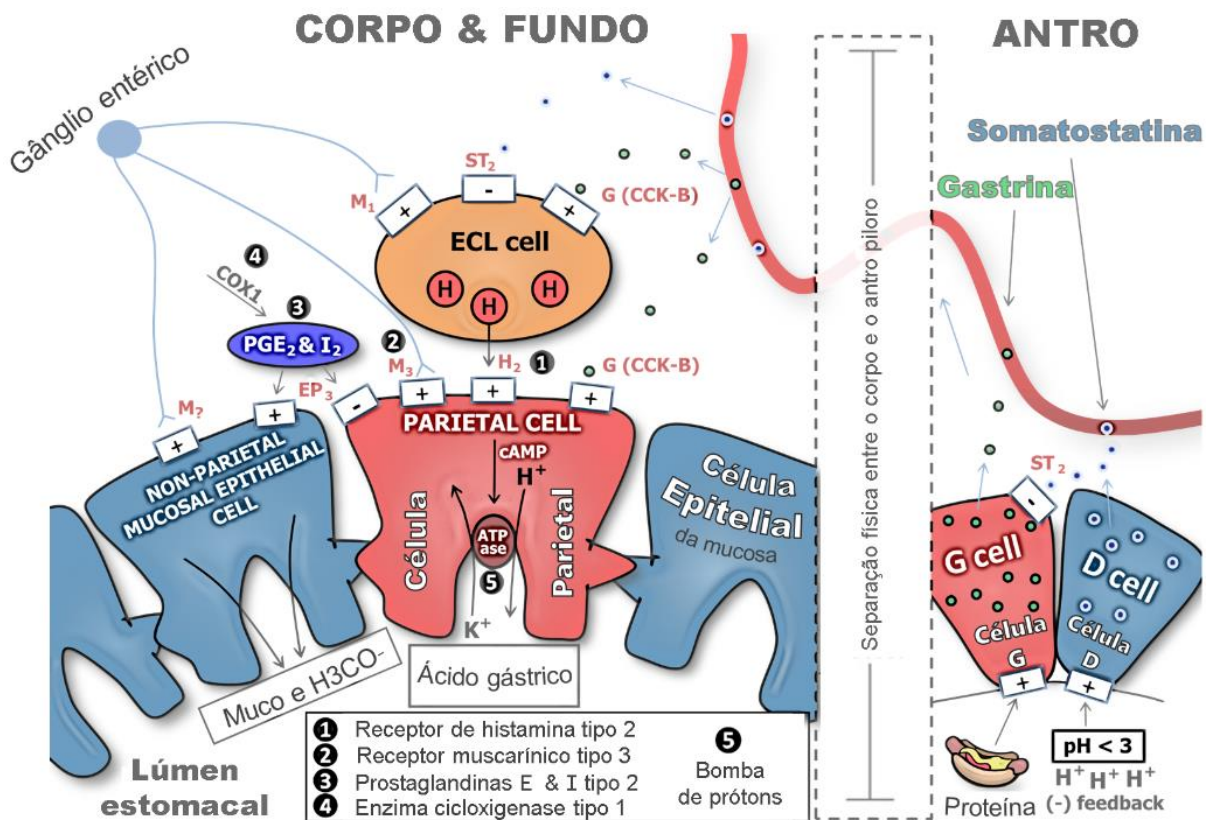
**Figura 1:** Anatomohistologia do estômago.



Fonte: adaptado de Rocha et al. 2009.

Como um órgão de caráter secretor o estômago, é composto por glândulas localizadas nas divisões anatômicas, como as mucossecretoras na região da Cárdia. E as glândulas oxínticas, distribuídas predominantemente nos segmentos do corpo e do fundo, sendo essas constituídas pelas células principais ou zimogênicas que produzem a pepsina, uma protease liberada na forma de pepsinogênio estimulada, principalmente, pela acetilcolina, histamina e colecistoquinina. Essas regiões são também composta pelas células parietais (CP), que produzem o ácido clorídrico, necessário para a ativação da pepsina e sua completa atuação em pH 2, permitindo a desnaturação de proteínas e ácidos nucleicos, além da destruição de microrganismos ingeridos. Observa-se ainda a liberação do fator intrínseco pelas CP, que é essencial para a absorção da vitamina B12 no íleo (Figura 1) (SOYBEL et al., 2005; RAMSAY, CARR, 2011; ELLIS, 2011; HUNT et al., 2014).

**Figura 2:** Estimulo fisiológico da secreção ácida e mecanismos gastroreguladores.

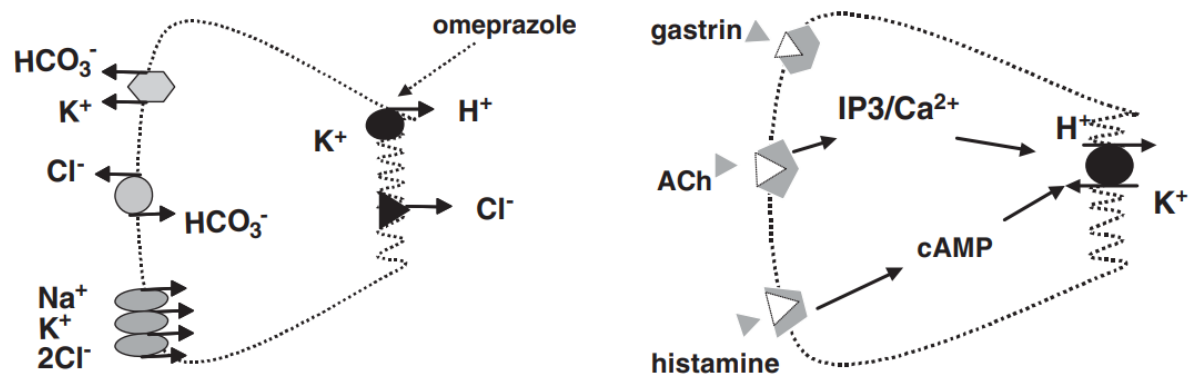


Fonte: adaptado de pngwing.

A secreção de ácido gástrico pela CP é regulada por três mecanismos principais são eles: neurais, por meio da ação da acetilcolina liberada pelas terminações dos neurônios dos gânglios entéricos, a partir da estimulação das fibras nervo vagal, que agem sobre os receptores muscarínicos do tipo 3 (M<sub>3</sub>), presentes na membrana basolateral das CP, induzindo

o aumento do cálcio intracelular. Além disso é observado a liberação de noradrenalina, purinas e óxido nítrico (NO) (MELO, 2008; RAMSAY, CARR, 2011). Outrossim é evidenciado a estimulação endócrina, que ocorre através do hormônio gastrina produzido pelas células G, presente na mucosa do antro piloro e da parede do duodeno, que se liga ao receptor gastrina-colecistocinina B (CCKB), causando o consequente aumento do cálcio intracelular. E os mecanismos parácrinos, que ocorrem devido à proximidade das células enterocromafins às CPs, em que essas produzem e liberam histamina o que desencadeia a ação desse mediador sobre os receptores de histamina tipo 2 (H2) presente na membrana basal lateral das CPs (Figura 2) (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2012). Todos esses mecanismos culminam na secreção de hidrogênio ( $H^+$ ), pela ativação de canais de potássio ( $K^+$ ) basolaterais, que é mediada, principalmente, pela expressão e ativação da  $H^+/K^+$ -ATPase (bomba de prótons) que transporta o  $H^+$  das células para o lúmen gástrico e o  $K^+$  do lúmen gástrico para as células. Além disso se evidencia o aumento da expressão de canais cloreto ( $Cl^-$ ) na membrana plasmática apical (MPA) (Figura 3) (SCHUBERT; PEURA, 2008; BERNE et al., 2009; RAMSAY, CARR, 2011).

**Figura 3:** Secreções iônicas das células parietais e atuantes da regulação.



Fonte: Soybel, 2005.

A MPA da mucosa estomacal é impermeável aos íons de  $H^+$ , contudo, esse pode se difundir entre as junções celulares para atingir as superfícies basolaterais das células e em altas concentrações podem causar lesões a mucosa. A MG é protegida através da contra regulação ácida realizada pelo bicarbonato ( $HCO_3^-$ ), um antiporte do  $HCO_3^-/Cl^-$ , no qual para cada  $H^+$  transportado para fora da célula, durante a secreção ácida, um  $HCO_3^-$  é transportado para o meio extracelular, fenômeno esse conhecido como maré alcalina, neutralizando qualquer  $H^+$  que atinja as membranas basolaterais (Figura 3) (RAMSAY, CARR, 2011; HUNT et al., 2014).

Outros mecanismos protetores da MG são relatados, como a renovação celular contínua que ocorre pela migração de células epiteliais das glândulas gástricas, coordenadas e controladas por fatores de crescimento, podendo esses serem ativados ainda pela gastrina, através da via proteoquinase miogênica, assim como por prostaglandinas (PGs) que também estão envolvidas nos mecanismos de antiporte do  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  (RAMSAY, CARR, 2011; HUNT et al., 2014).

### **2.1.2. PAPEL DAS PROSTAGLADINAS, DO MUCO E ÓXIDO NÍTRICO NA PROTEÇÃO GÁSTRICA**

A ação das PGs na proteção gástrica vai além dos mecanismos de indução da proliferação celular, sendo evidenciado atividades anti-inflamatórias devido a capacidade de inibição da ativação de leucócitos e a liberação das citocinas proinflamatória, em destaque para o fator de necrose tumoral alfa ( $\text{TNF-}\alpha$ ), interleucina um beta ( $\text{IL-1}\beta$ ) e a interleucina seis ( $\text{IL-6}$ ). Como também a capacidade desses mediadores de limitar a secreção de ácido clorídrico, através da modulação dos receptores prostanóides (EPs) (LAINE; TAKEUCHI; TARNAWSKI, 2008; WALLACE, 2008).

As PGs, em destaque as do tipo E e I, exercem ações biológicas que favorecem a manutenção da integridade da MG e sua cicatrização. Esses mediadores são produzidos principalmente, a partir do ácido araquidônico por meio das enzimas cicloxigenases (COXs) que são classificadas de 1 a 3, sendo as COX 1 e 2 indicadas como as mais presentes no tecido estomacal. Com ênfase para a COX 1 que é considerada uma enzima constitutiva do estômago, responsável por manter a produção de fatores protetores, em particular a PG do tipo E2 ( $\text{PGE}_2$ ) que é citada por atuar no estômago através dos receptores  $\text{EP}_3$ , presentes na membrana das células parietais e das células epiteliais, reduzindo a secreção de ácido e aumento da secreção de muco e bicarbonato, respectivamente (Figura 2) (WALLACE, 2008; SULEYMAN et al., 2010).

A influência da  $\text{PGE}_2$  sobre o aumento do fluxo sanguíneo, via receptor  $\text{EP}_1$ , também é evidenciado na mucosa gástrica, o que acelera o processo de reparo tecidual (MAITY et al., 2003, AIHARA et al., 2007). Esses mecanismos benéficos são essenciais durante o desenvolvimento de patologias que podem acometer o tecido estomacal, dando evidencia para a produção do muco, que possui um papel crucial na barreira física e química da MG (LAINE, TAKEUCHI, TARNAWSKI, 2008; SQUIRE et al., 2013).



Liberado por exocitose das células da mucosa do colón, da superfície do estômago e das glândulas de Brunner no duodeno, o muco apresenta uma forma viscosa, elástica e aderente, sendo constituído de 95% de água e 5% de mucinas (MUCs), resíduos de DNA, lipídeos, íons, proteínas, células e restos celulares, formando uma camada protetora sobre o duodeno, o colo e a MG (MAITY et al., 2003, AIHARA et al., 2007). As MUCs são as principais glicoproteínas envolvidas na ação da barreira física realizada pelo muco, essas possuem diversas origens e classificações. Encontradas tanto em tecidos epiteliais quanto não epiteliais, as MUCs são destacadas também por favorecerem a formação de um gel adesivo o que permite o desenvolvimento de uma camada de proteção sobre o tecido (HAM; KAUNITZ, 2007).

As MUCs são citadas por atuarem na defesa imune, frente a enzimas proteolíticas, nas variações de pH e em agressões mecânicas, químicas e biológicas, além de mediar processos de crescimento e diferenciação celular. De outra forma, essas participam de interações com microrganismos patogênicos e medeiam mecanismos de inflamação e metástases. Durante o desenvolvimento do tecido estomacal, a MG passa a expressar dois tipos de mucinas em predominância, a MUC5AC secretada neutra e expressa no epitélio superficial e foveolar em todas as regiões da mucosa gástrica, e a MUC6 secretada ácida e expressa nas glândulas antrais, cárdicas e nas células mucossecretoras da mucosa oxíntica (FONESKA, KAUNITZ, 2010; SQUIRE et al., 2013).

Além da influência das PGs sobre o sistema circulatório estomacal, se evidencia também a participação do óxido nítrico (NO), que é liberado por células do sistema imune e pelas terminações nervosas aferentes presentes na MG ao detectarem a presença de ácido, o que causa uma vasodilatação e relaxamento do musculo liso, com conseqüente aumento do fluxo sanguíneo (WALLACE, 2008).

O NO é uma molécula de sinalização autócrina e parácrina, que pode ser sintetizada a partir da reação do oxigênio molecular ( $O_2$ ) com a L-arginina catalisada pela enzima sintase de óxido nítrico (NOS) em meio que forneça oxigênio ou pode ser produzido pela redução de nitrato para nitrito em meio com condições limitadas de oxigênio, como em situações de hipóxia no tecido gástrico (LUNDBERG; WEITZBERG; GLADWIN, 2008). Outra atribuição ao NO é a inibição da migração de leucócitos para a mucosa intestinal, através da modulação da expressão de molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) e Pselectina (ROCHA et al., 2016).

Ao longo das pesquisas foram identificadas três isoformas de sintase de óxido nítrico: a NOS endotelial (eNOS), NOS neuronal (nNOS) e NOS induzível (iNOS). A eNOS e nNOS são expressas em condições normais e são referidas como NOS constitutivas (cNOS). Ainda se discute o papel bifásico que o NO pode desempenhar, protegendo ou agredindo a mucosa gastrointestinal, tendo em vista seus níveis encontrados no tecido e o tipo de enzima sintase que o produz (NISHIO et al., 2006).

Além desses, vários outros fatores como enzimas antioxidantes, grupamentos sulfidrilas não proteicos e metaloproteinases de matriz fazem parte dos complexos mecanismos protetores da MG (AL-JIBOURY; KAUNITZ, 2012).

### **2.1.3. SISTEMA ANTIOXIDANTE DA MUCOSA GÁSTRICA**

O metabolismo normal de algumas células, como os macrófagos e as células do epitélio gástrico, envolve a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) ou de nitrogênio. As EROs são formadas pela redução parcial do oxigênio molecular para superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), peróxidos lipídicos (ROOH) e radicais peroxila. Sendo o ROOH considerado um mediador chave de diversos processos inflamatórios presente em patologias, como as úlceras gástricas, o câncer e doenças neurodegenerativas (GASCHLER; STOCKWELL, 2017).

O processo chamado de peroxidação lipídica ocorre através da produção de radicais livres que agem sobre lipídios insaturados de membranas celulares gerando produtos como o malondialdeído (MDA), que é um dos mais produzidos. Em níveis moderados os produtos dessa via são capazes de induzir resposta adaptativa, melhorando a tolerância das células ao estresse oxidativo, mas em altas concentrações causam alterações na membrana celular que levam a desordens no influxo e efluxo de íons e danos ao DNA, culminando em efeitos genotóxicos e a consequente morte celular (NIKI, 2012; ECKL, BRESGEN, 2017).

Com o objetivo de controlar os EROs produzidos pelo metabolismo do oxigênio, as células produzem substâncias e enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e a glutatona peroxidase (GPx). A SOD é uma enzima óxido-redutase classificada com base na localização do íon metálico que ocupa o seu sítio catalítico, podendo então ser subdividida em citoplasmática (Cu-Zn-SOD), mitocondrial (MnSOD) e extracelular (ECSOD). De modo geral, a função da SOD é catalisar a dismutação do radical superóxido em oxigênio molecular, em seguida esse é decomposto em um radical menos nocivo, o

peróxido de hidrogênio, que é degradado pelas enzimas CAT e GPx, gerando O<sub>2</sub> e/ou água (WEYDERT; CULLEN, 2010).

A CAT é encontrada principalmente em peroxissomas e no citoplasma celular, já a GPx pode ser encontrada em diferentes compartimentos celulares incluindo mitocôndria e núcleo. A GPx é uma enzima dependente de selênio e necessita de outros cofatores para desempenhar suas funções, tais como: glutatona reduzida (GSH), glutatona redutase (GR) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH). Assim, a Gpx catalisa a degradação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em água, convertendo a glutatona reduzida (GSH) em oxidada (GSSH), a qual pode ser reconvertida em GSH pela ação da GR em um processo que utiliza como doador de elétrons o NADPH (LUANGWATTANANUN et al., 2017).

Contudo devido a funcionalidade central da participação do estômago no processo digestivo, esse órgão pode se tornar suscetível a alterações de caráter patológico, sendo influenciado principalmente pelo contato constante da MG com substâncias externas, que podem desenvolver modificações nos mecanismos secretórios, regulatórios e protetores, causando enfermidades como o câncer, UGs e a gastrite (DANI; PASSOS, 2011).

## **2.2. GASTRITE**

Definida como uma alteração das porções iniciais da parede do estômago, de caráter agudo e crônico, a gastrite é influenciada, principalmente, pela má ingestão de conteúdo alimentar ou substâncias nocivas, como o etanol, o que modifica o funcionamento desse órgão. O desequilíbrio entre os fatores agressores e protetores, é destacado como a principal causa da gastrite aguda (GA), se observando também a participação de vários mediadores inflamatórios liberados por células do próprio epitélio gástrico, tendo como consequência o desenvolvimento de lesões, como as UGs (WALLACE; MA, 2001). Já em sua forma crônica, possui além dos fatores presentes na GA a influência da bactéria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) que é uma das responsáveis pelas infecções mais comuns em humanos, comprometendo cerca de metade da população mundial. A infecção pela *H. pylori* possui correlação com idade, nível socioeconômico e raça, além de estar prevalente em países em desenvolvimento (SILVA, CORRADI, ZAMBERLAN, 2006; LIMA et al., 2011).

A incidência da gastrite está associada a uma série de doenças e condições ambientais, como o estresse, genética e hábitos alimentares, sendo dessa forma de etiologia variada. A dieta é considerada um fator determinante na fisiologia gástrica, no qual esse processo permite que haja a exposição de substâncias como o etanol e alimentos de temperaturas

variáveis a MG, causando danos significativos como erosões e eritemas (SILVA, CORRADI, ZAMBERLAN, 2006).

A utilização de medicamentos como anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) são citados também na causa da gastrite, estando em destaque aqueles não seletivos ou com menor seletividade pela enzima COX 2, que atua em processos inflamatórios, causando a consequente inibição de COX 1 o que torna favorável a diminuição da proteção gástrica, deixando o estômago suscetível a lesões. Como exemplos desses fármacos se tem a indometacina e o diclofenaco (CARVALHO, 2000; DONG; KAUNITZ, 2006; NISHIDA; TSUJII; TSUJII, 2004).

A incidência da gastrite no Brasil é crescente, sendo evidenciados altos custos pelos serviços de saúde no âmbito do diagnóstico, tratamento e internações hospitalares, no que se refere a doenças do aparelho digestivo, em detrimento a falta do diagnóstico precoce e um tratamento adequado e eficaz. De acordo com o último boletim do sistema de informações do sistema único de saúde (SUS), o DATASUS, referente ao período de março de 2016 a outubro de 2021, foram contabilizadas 6.087 internações por gastrites, duodenites, úlceras gástricas e/ou duodenais, com custos para o Governo Federal de R\$ 3.071.484,16 em serviços hospitalares, em que as regiões nordeste e sudeste possuem maiores incidências de internações com cerca de 32% e 26%, respectivamente, além dos maiores índices de óbitos com cerca de 28% e 47%, respectivamente (BRASIL, 2021).

### **2.2.1. ETANOL E A LESÃO GÁSTRICA**

O Etanol (EtOH) é uma das drogas licitas mais comumente ingeridas no mundo, abrangendo pessoas de todas as faixas etárias, em que seu consumo excessivo, principalmente nas últimas décadas, constitui um problema global de saúde pública com efeitos patológicos evidentes (SIERRA et al., 2018; KATZUNG, 2005; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2003). Os efeitos do EtOH ao TGI são bastante diversificados, estudos destacam uma importante mudança na microbiota intestinal com alterações metabólicas, que podem contribuir para a formação de estresse oxidativo, aumento da permeabilidade intestinal a produtos bacterianos luminiais e o desenvolvimento subsequente de doença hepática alcoólica, bem como outras doenças, como a gastrite (ZELALEM, WOLDEAMANUEL, 2021)

Considerado um agente etiológico nocivo a MG, o EtOH quando exposto ao tecido estomacal resulta em quimiotaxia e infiltração de neutrófilos no local da lesão, aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e a IL-6, que desempenham um

papel importante na regulação e intensificação da inflamação nas doenças pépticas ácidas agudas. Além disso, o EtOH reduz efetivamente os níveis de NO, retardando o fluxo de sangue estomacal. Todos esses fatores levam ao desenvolvimento de lesões hemorrágicas e, conseqüentemente, à solubilização dos constituintes do muco gástrico. Alguns estudos também evidenciaram a participação de radicais livres na instalação e desenvolvimento da GA resultando em estresse oxidativo, tendo em vista que os principais marcadores como NO, MDA, GSH e SOD estão alterados (ELSEWEIDY, 2017).

Devido a isso, estudos científicos ao longo dos anos demonstraram e padronizaram modelos experimentais utilizando o EtOH como agente etiológico para indução da GA, nos quais esses se tornaram frequentemente utilizados para rastrear e evidenciar compostos que possuem atividades gastroprotetoras, principalmente aquelas que utilizam produtos naturais com propriedades anti-inflamatórias. Todos esses estudos utilizaram como controle positivo os fármacos atuais para o tratamento da GA (PANTOJA, 2015; MARQUES et al., 2019; LI et al., 2018; ZHANG et al., 2019).

### **2.2.2. TERAPIAS ATUAIS PARA GASTRITE**

As gastropatias, que incluem a gastrite e UGs, são coletivamente conhecidas como doenças pépticas ácidas (DPAs), em que essas atualmente possuem como tratamento dieta nutricional direcionada, com a descontinuação dos agentes agressores e, principalmente, a utilização de medicamentos que causam supressão da produção de ácido, promovendo alívio dos sintomas e a melhora na diminuição das UGs. Os fármacos disponíveis no mercado incluem antiácidos como: hidróxido de alumínio, hidróxido de magnésio, carbonato de cálcio e bicarbonato de sódio, que são considerados suplementares no tratamento das DPAs, neutralizando rapidamente o ácido estomacal, o que permite rápido alívio dos sintomas como a dor, a azia e sensação de queimação (LIMA et al., 2011; NICOLAU, 2018).

Os Inibidores da Bomba de Prótons (IBPs) são considerados a principal intervenção utilizada no tratamento das DPAs, essas substâncias são prófarmacos ativados em um ambiente ácido que de forma subsequente se ligam irreversivelmente a bomba de prótons, induzindo a supressão e inibição da produção de ácido. Como exemplos são citados o omeprazol, esomeprazol, pantoprazol e lansoprazol. Outra metodologia empregada nas terapias das DPAs são os antagonistas do receptor de histamina tipo 2 (ARH2), que agem inibindo o estímulo fisiológico da produção de ácido causado pela histamina endógena,

exemplos desses fármacos são a Ranitidina e a Famotidina (DONG; KAUNITZ, 2006; HUNT et al., 2014; SIERRA et al., 2018)

A utilização desses medicamentos possui certas limitações, no sentido de que os antiácidos possuem ação rápida, necessitando da utilização frequente e em algumas vezes ineficazes dependendo do grau das DPAs. Já os IBPs possuem relativa eficácia, principalmente na GA e nas UG, entretanto, a clínica denota a tolerância desenvolvida pelos pacientes desencadeando uma utilização prolongada com doses maiores, que pode levar a quadros clínicos como a anemia causada pela diminuição de vitamina B12. No que diz respeito a utilização dos ARH2, esses estão associados a taquifilaxia, fenômeno de rápida diminuição do efeito de um fármaco em doses consecutivas, e sintomas de rebote, efeito causado pelo retorno dos sintomas quando ocorre a interrupção do tratamento. Outros efeitos colaterais associados a essas drogas, incluem disfunção erétil, arritmia, ginecomastia e alterações hematopoiéticas (DONG; KAUNITZ, 2006; SIERRA et al., 2018).

Existem ainda hipóteses associando o câncer gástrico ao uso prolongado de IBPs, que tem em vista a ocorrência de uma hipergastrinemia, que reduz a acidez gástrica levando a uma proliferação das enterocromafins promovendo um quadro hiperplásico, além de essas células serem as células-alvo da gastrina na mucosa oxíntica para a formação de tumores neuroendócrinos. Além disso, outra hipótese sugere que a intensa presença da gastrina promove um efeito trófico na mucosa oxíntica, levando a um processo inflamatório de continuidade, deixando o ambiente favorável ao surgimento de processos neoplásicos malignos (KATO et al., 2006). Contudo, essas hipóteses ainda estão em processo de validação, já que outros trabalhos apontam que esses medicamentos não alteram a microbiota gástrica e nem contribuem significativamente para o desenvolvimento do câncer (PARSONS et al., 2017).

Devido as limitações evidentes no tratamento das doenças gástricas e efeitos colaterais causados pelas terapias atuais para o tratamento das DPAs, com destaque para a gastrite, faz-se necessário a procura e desenvolvimento de fármacos-terapias que possibilitem uma melhora no quadro clínico dos pacientes com DPAs e que demostrem uma boa eficácia, além da possibilidade de suprir ou atenuar as limitações encontradas pelos fármacos atuais.

### **2.3 PRODUTOS NATURAIS E AS DOENÇAS PEPTICAS ÁCIDAS**

Alguns trabalhos científicos evidenciaram que a utilização de produtos naturais em algumas DPAs pode desempenhar papéis importantes no tratamento, como o alginato, um

polissacarídeo aniônico presente naturalmente em algas marrons, comercialmente associado ao bicarbonato e que possui a capacidade de formar um gel espumoso flutuante na superfície do conteúdo gástrico, atuando na diminuição da acidez estomacal e na formação de uma barreira que protege a junção esofagogástrica do refluxo ácido. Esse mecanismo permitiu a sua utilização no tratamento da doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), uma DPA (SWEIS et al., 2013). Outro produto natural recentemente evidenciado como eficaz no tratamento da DRGE, foi a Goma do Cajueiro, em que sua aplicação tanto oral em camundongos quanto tópica em esôfago humano demonstrou, *in vivo* e *in vitro*, uma proteção da mucosa esofágica contra danos induzidos pelo ácido (NICOLAU, 2018).

Em relação a GA, estudos experimentais demonstraram que a utilização de produtos naturais desempenhou um grande potencial terapêutico. Um estudo experimental utilizando o extrato aquoso da casca de *Citrus sinensis L.* e seu principal flavonóide, hesperidina, evidenciou uma proteção da mucosa gástrica contra úlcera induzida por etanol em ratos, reduzindo citocinas pró-inflamatória e a peroxidação lipídica (SELMÍ et al., 2017).

Outro estudo experimental demonstrou também que o extrato hidroalcoólico da *Polygala paniculata L.*, causou um efeito gastroprotetor em ratos submetidos ao modelo experimental de GA alcoólica (LAPA et al., 2007). Ao avaliar o potencial gastroprotetor do flavonóide kaempferol (3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona), um composto comumente encontrado em muitas plantas comestíveis (brócolis, feijão, morango e uva) e em produtos botânicos, um estudo experimental destacou sua atividade antiulcerogênica induzidas por etanol, com efeitos relacionados a inibição da infiltração de neutrófilos, redução da formação de citocinas inflamatórias (TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ), regulação negativa da IL-6 e regulação positiva do NO (LI et al., 2018).

Os estudos envolvendo polissacarídeos em aplicações terapêuticas também vêm se destacando, tendo em vista que esses possuem funções bem conhecidas nas membranas e na comunicação intracelular.

## **2.4 POLISSACARÍDEOS E SUAS APLICAÇÕES TERAPÊUTICAS**

Os polissacarídeos (PLD) são considerados macromoléculas formadas por polímeros de carboidratos com longas cadeias de unidades de açúcares simples, sendo essas unidas por ligações glicosídicas (LEHNINGER, 2006). Na natureza, os PLDs podem ser encontrados em quase todos os organismos vivos, inclusive em sementes, caules, folhas de plantas herbáceas, paredes celulares e em fluidos de animais, bactérias, leveduras e fungos (COSGROVE, 2005;

SINGH et al., 2012). Essas macromoléculas variam de estrutura linear a altamente ramificada e seus exemplos incluem os PLDs de armazenamento, amido e o glicogênio, e os estruturais, como celulose e quitina. Além das variações na composição, as sequências e a massa molar dessas substâncias dão origem a uma infinidade de estruturas químicas e conformações, refletindo diferentes propriedades, o que direcionam muitas de suas aplicações (SILVA, 2012).

Com destaque por apresentarem inúmeras qualidades farmacológicas, os PLDs são citados por atuarem em respostas imunológicas mediante a eventos inflamatórios, ativando ou suprimindo a resposta de células do sistema imune. De mesmo modo esses são reconhecidos como modificadores exógenos de respostas biológicas e por isso são sugeridos por atuarem como macromoléculas protetoras do tecido gástrico frente a agentes agressores (PANTOJA, 2015).

Os PLDs derivados de plantas têm motivado interesse em aplicações para cicatrização e proteção contra UGs, a exemplo se tem o PLD derivado da *Aloe vera L.*, o APS-F1, que apresentou efeito antiapoptóticos e preveniu o estresse oxidativo ao modular marcadores das EROs (ácido tiobarbitúrico, a atividade da SOD, catalase e GSH) em cultura de células do epitélio gástrico humano exposta ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, além de atenuar o aumento de cálcio intracelular e a disfunção do potencial de membrana mitocondrial. De mesmo modo o APS-F1 limitou in vivo as lesões hemorrágicas causada pela exposição do etanol ao tecido gástrico de camundongos (XU et al., 2016).

Esses efeitos antioxidantes são os mecanismos mais evidenciados pelos PLDs como possíveis agentes gastroprotetores (CANTU-JUNGLES et al., 2013; MANJEGOWDA et al., 2017; LIAN et al., 2020). Como é o caso do PLD derivado da *Bletilla striata*, uma planta medicinal empregada como adstringente hemostático, que demonstrou além dos mecanismos antioxidantes a capacidade de reduzir citocinas próinflamatória, incluindo TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-18, como também a redução da atividade da MPO no tecido gástrico. Além disso, essa fração de PLD exibiu a habilidade de aumentar os níveis da PEG<sub>2</sub> e suprimiu a via de sinalização MAPK/NF- $\kappa$ B no estômago de animais (ZHANG et al., 2019).

Em um estudo experimental que utilizou a associação entre o alginato, um PLD aniônico, o quitosan, um PLD policatiônico, e o peptídeo de colágeno da tilápia, evidenciou que essa combinação permitiu uma melhora na eficácia do tratamento dos efeitos lesivos causados pelo etanol na MG de animais. Essa potencialização foi relatada através dos ensaios



do estresse oxidativo, com a redução do consumo de GSH e a consequente elevação da atividade das enzimas SOD e CAT, além da redução da expressão da MPO e de dos níveis de citocinas pró-inflamatória. Esse trabalho relata ainda que essa associação permitiu um aumento nos níveis de NO no estômago dos animais (LU et al., 2022).

Dados de pesquisadores que analisaram duas frações de PLDs obtidas da *Hericium erinaceus*, um fungo medicinal comestível que tem efeitos funcionais no tratamento de neurastenia e doenças digestivas, destacaram que a porção H6PC20 demonstrou efeitos antioxidantes, de reparação e de defesa mais evidentes que a fração HPB-3, que se destacou como uma molécula com funções anti-inflamatórias. Demonstrando que diferenças nas composições dos PLDs, mesmo derivados da mesma origem, se tornam um fator determinante em sua atividade terapêutica (CHEN et al., 2020).

Outra principal característica que é de grande interesse industrial em relação aos PLDs é a capacidade desses compostos em formarem géis em meio aquoso, mesmo em baixas concentrações. Como é o caso dos PLDs derivados de endospermas das sementes de leguminosas, denominados de galactomananas, que demonstraram possuir propriedades gastroprotetoras, efeitos esses destacados em um estudo experimental no qual utilizou uma galactomanana derivada das sementes de *Caesalpinia pulcherrima*, onde foi possível observar uma atividade protetora no estômago de animais, após esses serem submetidos ao protocolo de GA induzida por indometacina (MARQUES et al., 2019).

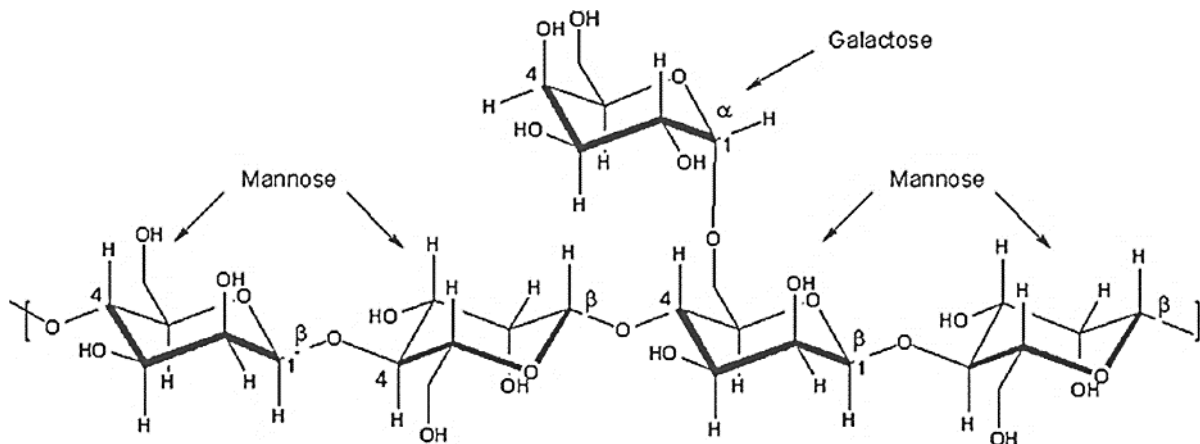
O potencial gastroprotetor de outras galactomananas, foi descrito em um trabalho experimental que utilizou a Goma Guar e Fava Dantas, no qual destacou seus potenciais efeitos polímeros-protetoras a MG, com diminuição da infiltração neutrofílica, aumento da atividade da SOD, além de denotar efeito gastroprotetor através da via NO/K<sub>ATP</sub> (PINTO et al., 2019).

## 2.5 GALACTOMANANAS

As galactomananas (GMNNs) são polissacarídeos de reserva encontrados em algumas sementes de leguminosas, sendo utilizados por essas para o desenvolvimento do embrião durante a germinação. Esse heteropolissacarídeo é ramificado e possui em sua composição uma estrutura formada por cadeias  $\beta$ -D-manose, que se liga por pontes de oxigênio do tipo 1 $\rightarrow$ 4 com outras unidades de  $\beta$ -D-manose, formando uma cadeia linear. De mesmo modo essas PLDs são compostas por cadeias  $\alpha$ -D-galactose que se ligam por pontes de oxigênio do tipo 1 $\rightarrow$ 6 também através de uma cadeia linear (Figura 4) (SILVA, 2012; LIMA, 2015).

As GMNNs se diferenciam umas das outras pela razão manose/galactose (M/G) determinando, principalmente, sua solubilidade. Esses heteropolissacarídeos possuem a capacidade de formarem uma dispersão coloidal viscosa quando hidratado em água, sendo amplamente utilizadas como um construtor de viscosidade e aglutinante por diversos setores, como o têxtil, alimentício, na produção de papel, petróleo, mineração, explosivos e pela indústria farmacêutica para produção de excipientes (PRAJAPATI et al., 2013; BARAK; MUDGIL, 2014).

**Figura 4:** Estrutura geral das galactomananas.



Fonte: Lima, 2015.

A determinação da solubilidade desse heteropolissacarídeo é influenciado diretamente por uma maior presença de galactose em sua estrutura, o que designa a razão M/G. Essa variação pode decorrer da espécie de origem da GMNN, como também do seu processo de extração, podendo essa razão influenciar ainda na capacidade desses compostos em interagirem com outras substâncias, devido à presença ou ausência de grupos hidroxila (OH) (SILVA, 2012; LIMA, 2015).

Como exemplo da ampla utilização das GMNNs por diversos setores se tem a Goma Guar, a Goma Tara e a GMNN derivada das sementes da alfarroba, também denominada Locust Bean Gum, que é destacada por possuir uma maior concentração de manose em comparação com as outras GMNNs, o que a permite uma maior capacidade gelificante (PRAJAPATI et al., 2013; BARAK; MUDGIL, 2014; CHEN et al., 2018).

### 2.5.1. GALACTOMANANA DE ALFARROBA (LOCUST BEAN GUM)

A galactomanana Locust Bean, goma de alfarroba ou Locust Bean Gum (LBG) é um pó amarronzado obtido após a moagem do endosperma da semente da vagem da Alfarrobeira,

um membro da família das leguminosas botanicamente conhecido como *Ceratonia siliqua* Linn, que se encontra nas regiões mediterrâneas (PRAJAPATI et al., 2013).

A alfarroba é uma árvore com altura variando de 6 a 15 metros, tronco ramificado com diâmetro de 40 a 80 cm e copa com 8 a 12 metros de diâmetro (Fig. 5A). Suas folhas são esverdeadas bipinadas com folíolos pequenos e oblongos (Fig. 5B). Suas sementes são ovóides, achatadas, com linha fissural nas faces, duras e amarronzadas (Fig. 5C). A origem dessa planta advém do deserto de Piura no Peru, sendo nativa das regiões áridas e semiáridas da América, África e Ásia, em que maior número de espécies se encontra no continente americano, nas regiões ocidentais mais secas da Patagônia (RIBASKI, 2009).

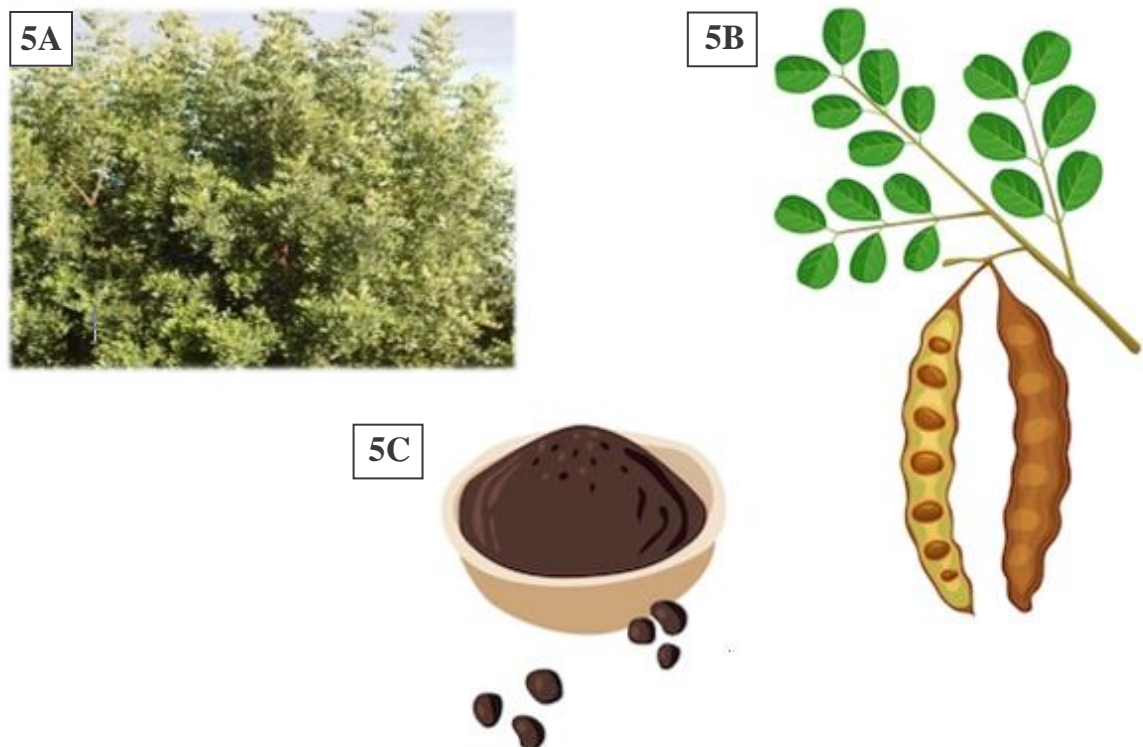
Na América do Sul, são encontradas aproximadamente 70% das espécies de alfarroba e, dessas, 93% são nativas da Argentina. No Brasil são encontradas plantações desde sua introdução para produção de madeira e forragem. A literatura indica que sua inserção no território brasileiro ocorreu no início da década de 1940, primeiramente no Nordeste, com o intuito de alimentar as criações de animais, e serem utilizadas em reflorestamento e para produção de carvão vegetal e lenha (RIBASKI, 2009; NASCIMENTO, 2014). A implantação dessa leguminosa se deu pelo fato também de apresentarem a importante característica de frutificar na época mais seca do ano, quando os estoques de forragens naturais atingem um estágio crítico de escassez, o que proporcionou uma alternativa alimentar de grande valor nutricional, principalmente, para a criação de caprinos e bovinos. Da mesma forma devido ao seu valor nutricional, a alfarroba configura hoje uma fonte potencial de alimento para o homem (LIMA, 2015).

As propriedades dessa planta determinaram sua ampla utilização, com a exploração da maioria dos seus constituintes, em que dentre eles se encontram as suas sementes, que representam aproximadamente 10% do peso do fruto e são processadas industrialmente por operações de rachadura, peneiramento e moagem da casca para isolar e triturar os endospermas, que são vendidos como farinha bruta. O endosperma presentes nas sementes da alfarroba são compostas principalmente de polissacarídeos, descritos como galactomanana Locust Bean ou Locust Bean Gum (LBG), compreendendo aproximadamente 80% do arranjo estrutural e o restante corresponde a proteínas e impurezas (DIONÍSIO; GRENHA, 2012).

Além disso a LBG possui uma característica singular, uma natureza não iônica, sendo então não influenciada pelo pH, sais e tratamento térmico podendo assim ser utilizada em combinação com outros hidrocolóides como carragena e goma xantana, demonstrando uma

ação sinérgica ao formarem um gel com mais elasticidade e força. O potencial terapêutico da LGB na literatura demonstrou que sua utilização reduz ou controla o diabetes, devido à sua alta capacidade de gelificação que na ingestão causa sensação de saciedade, o que a torna uma GMNN com um grande potencial na proteção gástrica durante o desenvolvimento das DPAs, incluindo entre essa a gastrite aguda (BRENNAN, 2005; BARAK; MUDGIL, 2014).

**Figura 5:** Descrição botânica da Alfarrobeira.



Simulação do plantio da Alfarrobeira, em que é demonstrado sua árvore (5A), floração (5B) e a moagem da semente dessa leguminosa (5C).

Fonte: adaptado de Prajapati et al. (2013) e Silva (2012).

### 2.5.2. GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA

Outra GMNN recentemente extraída por SILVA et al. (2020) e que demonstra grande potencial terapêutico é a GMNN da semente da árvore da chuva dourada também chamada de Índia laburnum ou Cássia Fistula (CF) (Fig. 6A). A CF é uma planta com flor nativa do sul da Ásia, que é amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais como o Brasil, onde foi introduzida há muitos anos e atualmente encontra-se disseminada nos estados litorâneos, sendo amplamente utilizada como árvore ornamental em ruas, praças e jardins; podendo atingir até 15 metros de altura com uma copa em diâmetro de 4 a 6 metros, com floração durante boa parte do ano (Fig. 6B) (SILVA et al., 2020).

A CF fornece uma madeira pesada e com cerne muito rígido, de longa durabilidade. Da sua casca é possível extrair uma resina adstringente, formada por 12,9% de tanino que é utilizado em curtumes e tinturarias. A polpa albuminosa, que envolve as sementes (Fig. 6C), é utilizada como um “tempero” muito apreciado no preparo de certos tabacos orientais, além de serem utilizada em confeitarias e sorveterias. Essa possui também uma matéria extrativa amarga utilizada como laxativo na medicina, sobretudo para crianças. Já os seus galhos novos são empregados na forragem pelo gado em época de escassez (KALANTARI et al., 2015; SILVA et al., 2020).

As propriedades terapêuticas da CF são demonstradas por trabalhos científicos, no qual estes utilizaram o extrato hidroalcolico da sua fruta, denotando seu potencial antioxidante, além de um efeito protetor contra lesão hepática causada por tetracloreto de carbono, paracetamol, dietilnitrosamina e por bromobenzeno em fígado de animais (SILVA et al., 2020; BHAKTA et al., 1998; LUXIMON-RAMMA et al., 2002; KALANTARI et al., 2015).

**Figura 6:** Descrição botânica da Cassia Fistula.



Simulação do plantio de Cassia Fistula, em que é demonstrado sua árvore (6A), floração (6B) e a semente dessa leguminosa (6C).

Fonte: adaptado de Silva. (2020).

Em relação a GMNN advinda de CF, essa não possui publicações em periódicos de pesquisas que exploram seu potencial terapêutico, o que torna esse trabalho pioneiro em seu estudo. Tendo como embasamento a semelhança da sua composição a LBG a tornando alvo

de estudos comparativo, com o intuito de correlacionar um possível efeito terapêutico a suas estruturas (DIONÍSIO, GRENHA, 2012; PRAJAPATI et al., 2013; SILVA et al., 2020).

A composição estrutural da GMNN de CF, como citado anteriormente, possui muita semelhança com a LBG, principalmente, na razão M/G (3,1/1) muito próxima à razão encontrada na GMNN de alfarroba (3,5/1), que é considerada segunda maior fonte comercial de galactomanana. As características físico-químicas e reológicas também são semelhantes a LBG, além disso, a GMNN de CF apresenta baixa citotoxicidade. Devido a isso as propriedades terapêuticas desses dois heteropolissacarídeos podem se assemelhar, sendo um fator determinante a concentração de manose, o que proporciona uma atividade gelificante maior e uma possível ação gastroprotetora (SILVA et al., 2020).

### 3. JUSTIFICATIVA E RELEVANCIA

Devido as limitações encontradas nas terapias atuais das doenças pépticas ácidas, como a gastrite e as úlceras pépticas, e a falta do diagnóstico precoce com tratamento adequado e eficaz, o que proporciona uma piora no prognóstico dos pacientes (DONG; KAUNITZ, 2006; HUNT et al., 2014; SIERRA et al., 2018). Como também o fato do último boletim disponibilizado pelo DATASUS, ter contabilizado cerca de 6 mil internações por gastrites e outras doenças pépticas ácidas, com custos para o governo federal em cerca de 3 milhões de reais em serviços hospitalares, assim como o aumento dos índices de óbitos para a região nordeste e sudeste (BRASIL, 2021). Dado pelo exposto se evidencia a necessidade da procura de novas intervenções que permitam uma melhora no quadro clínico dos pacientes, o que possivelmente causaria um impacto positivo sobre os dados epidemiológicos das DPAs. Tendo em vista também o indicativo da literatura na possibilidade do uso prologando das principais intervenções utilizadas, como os inibidores de bombas de prótons, em favorecem modificações no microambiente gástrico, como a hipergastrinemia, que pode estar relacionada a proliferação aumentada das células enterocromafins, induzindo um quadro hiperplásico. Além do fato desse efeito ser citado como um indutor trófico das glândulas oxínticas, devido a presença da gastrina nos efeitos colaterais dos IBPs, o que corrobora com a hipótese do desenvolvimento de neoplasias no tecido estomacal (KATO et al., 2006). Devido a isso outras abordagens vêm se destacando, como a utilização de produtos naturais, principalmente, por esses possuírem propriedades fitoterápicas de fácil obtenção e de baixo custo, além do fato de ser uma substância encontrada na natureza, dando destaque para aqueles que possuem pouca ou nenhuma toxicidade ao organismo humano. Como é o caso das galactomananas, que são polissacarídeos ricos em mananos composto, principalmente, por manose e galactose na qual algumas apresentarem em sua composição uma maior relação entre M/G o que favorece a formação de um conteúdo gelatinoso ao entrarem em contato com a água, efeito esse denotado pela GMNN de alfarroba, a LBG, e de Cassia Fistula (SWEIS et al., 2013; BARAK; MUDGIL, 2014; SILVA et al., 2020). Além dessa diferença na relação M/G, a LBG possui uma característica singular, a natureza não iônica, sendo então não influenciada pelo pH, sais e tratamento térmico, podendo ser usada em combinação com outros hidrocoloides, como carragena, goma xantana e até mesmo com a GMNN de CF, causando uma possível ação sinérgica na formação de um biopolímero com mais elasticidade e força. O potencial terapêutico da LBG na literatura demonstrou que sua utilização reduz ou controla o diabetes, devido à sua alta capacidade de gelificação, na ingestão, causando a sensação de saciedade, o

que a torna uma GMNN com um grande potencial na proteção gástrica durante o desenvolvimento das DPAs (BRENNAN, 2005; BARAK; MUDGIL, 2014). Assim como a GMNN de CF, na qual o presente estudo será pioneiro na sua utilização e evidenciação como um possível agente protetor da gastrite aguda. Alguns estudos já relataram o potencial terapêutico de produtos derivados da CF como o extrato hidroalcolico da sua fruta, denotando seu potencial antioxidante com efeitos benéficos contra lesão hepática medicamentosa em fígado de animais (SILVA et al., 2020; BHAKTA et al., 1998; LUXIMON-RAMMA et al., 2002; KALANTARI et al., 2015). Além disso a composição da GMNN de CF é semelhante a LBG o que pode correlacionar o seu possível efeito gastroprotetor a relação M/G (SILVA et al., 2020).



#### 4. OBJETIVO GERAL

Investigar através do modelo de indução da gastrite aguda alcoólica, o possível efeito gastroprotetor de Locust Bean Gum (*Ceratonia siliqua Linn*) & e galactomanana de Cassia Fistula.

##### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a nível macroscópico o efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum (*Ceratonia siliqua Linn*) & da galactomanana de Cassia Fistula sobre os índices de lesões gástricas, planimetria, induzidas por etanol em camundongos;
- Investigar os aspectos histológicos dos animais submetidos ao protocolo de gastrite aguda alcoólica e pré-tratados com a Locust Bean Gum (*Ceratonia siliqua Linn*) & da galactomanana de Cassia Fistula;
- Avaliar o efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum (*Ceratonia siliqua Linn*) & da galactomanana de Cassia Fistula sobre a atividade da mieloperoxidase (MPO) no tecido estomacal causada pelo etanol;
- Determinar a ação gastroprotetora da Locust Bean Gum (*Ceratonia siliqua Linn*) & da galactomanana de Cassia Fistula por meio da quantificação da hemoglobina, indicativo de hemorragia, na parede do estômago dos animais submetidos ao protocolo de lesão gástrica por etanol;
- Investigar o efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum (*Ceratonia siliqua Linn*) & da galactomanana de Cassia Fistula sobre o estresse oxidativo induzido pelo etanol;
- Avaliar a ação das da Locust Bean Gum (*Ceratonia siliqua Linn*) & da galactomanana de Cassia Fistula sobre a produção de citocinas IL-1 $\beta$  & TNF-  $\alpha$  em lesões gástricas induzidas por etanol.

## 5. MATERIAIS E METODOS

### 5.1 ANALISES E OBTENÇÃO DAS GALACTOMANANAS DE CASSIA FISTULA E DE ALFARROBA (LOCUST BEAN GUM)

Os ensaios de extração e obtenção da galactomanana de CF e LBG foram realizados pelo grupo de pesquisa do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, da Universidade Federal do Ceará (UFC), e colaboradores. Onde no trabalho realizado por SILVA et al. (2020), destaca o processo pelo qual foi obtido a galactomanana de *Cassia fistula* em que de forma resumida, inicialmente uma massa de 50g das sementes de *Cassia fistula* foram postas para intumescimento em 200mL de água fervente por 20 minutos em agitação magnética, para inativação das enzimas endógenas presentes nas sementes. Estas permaneceram em água por um período de 24h em temperatura ambiente sem agitação. As sementes intumescidas foram descascadas manualmente, separando-se o endosperma, retirando-se o tegumento e o embrião.

Os endospermas separados foram colocados em 500mL de água destilada sob agitação por 2 horas a 75°C. Após o término do aquecimento deixou-se por mais 24h sob agitação magnética para completar o intumescimento. Posteriormente foram adicionados 800mL de água destilada e após uma rápida agitação a mistura foi triturada em liquidificador. O sobrenadante posteriormente obtido no decorrer do ensaio, foi então precipitado em álcool etílico P.A na proporção de 1:3 (volume de solução de galactomanana/volume de etanol). A galactomanana obtida foi recolhida em funil de placa sinterizada n°3 porosidades média, lavado com álcool etílico e acetona P.A e em seguida seco com jato de ar quente.

A amostra de galactomanana obtida a partir do processo anteriormente citado, passou por uma purificação na qual a amostra de GMNN de CF foi resolubilizada, em seguida posta em diálise contra água por um período de três dias, logo após a diálise a amostra foi liofilizada., obtendo-se assim um novo material, a galactomanana de *Cassia fistula* purificada.

Em relação a galactomanana de Alfarroba (*Cerotonia siliqua Linn*), a Locust Bean Gum, por ser um composto amplamente distribuído pôde ser obtido através da sua compra pela Sigma Corporation.

As análises descritas por SILVA et al. (2020) evidenciaram um rendimento comparável com aqueles reportados para galactomananas obtidas de outras sementes

brasileiras, em que a galactomanana de *Cassia fistula* apresenta diversas propriedades físico-químicas semelhantes a galactomanana da *Cerotonia siliqua* Linn, destacando que esse heteropolissacarídeo apresentou uma massa molar e viscosidade intrínseca  $[\eta]$  de  $2,3 \times 10^6$  g/mol e 9,73 dL/g, respectivamente. As análises de espectrais, confirmaram a estrutura básica de galactomanana com padrão de substituição coerente com a razão Manose/Galactose de 3.2, valor bem próximo a razão Manose/Galactose encontrada para galactomanana da Locust Bean que foi de 3.5.

## 5.2 ANIMAIS

Para realização dos ensaios desse projeto, foram utilizados camundongos (*Mus musculus*) Swiss machos (20-25g) procedentes do Biotério Setorial do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram acondicionados em caixas plásticas de polipropileno (41cm de comprimento x 34cm de largura x 17cm de altura) contendo maravalha, com 10 camundongos por caixa, em biotério com exaustor de ar, sob condições adequadas de luz e temperatura (22-25°C), e receberam água e ração *ad libitum*. As trocas das caixas foram realizadas duas vezes por semana. Todos os princípios éticos sobre experimentação e manipulação animal foram respeitados conforme os princípios regidos pelo CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal), criado em 2008 pela Lei nº 11.794/08 (Lei Arouca). O projeto seguiu também os preceitos éticos imposto pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob protocolo de nº 7669171221/2021.

## 5.3 LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ETANOL

O protocolo de gastrite aguda induzida por etanol foi realizado conforme descrito por MEDEIROS (2009), no qual após colocar os animais em jejum entre 12-18h, ocorreu a administração por gavagem (com uma seringa canulada própria para este procedimento e para camundongos) de Etanol (0,500ml volume final, Purificado) na diluição de 50% (em água destilada) e logo após a administração, contabilizou-se 1h para eutanásia e obtenção das amostras dos animais (MEDEIROS et al., 2009).

## 5.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL (PRÉ-TRATAMENTO E INDUÇÃO GASTRITE AGUDA ALCOÓLICA)

Para realização do estudo experimental os animais foram divididos inicialmente em 9 grupos experimentais, com o intuito de determinar a melhor dose das galactomananas:

- 1- Salina (0.5ml v.o.)
- 2- Lesão Gástrica (administração de etanol 50% 0,5ml v.o.)
- 3- Omeprazol (40mg/kg 0,5ml v.o.)
- 4- Pré tratados com a Locust Bean na dose 5 mg (0,5ml v.o.)
- 5- Pré tratados com a Locust Bean na dose 10 mg (0,5ml v.o.)
- 6- Pré tratados com a Locust Bean na dose 30 mg (0,5ml v.o.)
- 7- Pré tratados com a Galactomanana de Cassia Fistula na dose 5 mg (0,5ml v.o.)
- 8- Pré tratados com a Galactomanana de Cassia Fistula na dose 10 mg (0,5ml v.o.)
- 9- Pré tratados com a Galactomanana de Cassia Fistula na dose 30 mg (0,5ml v.o.)

O delineamento experimental se seguiu através do pré-tratamento com as GMNNs, nas concentrações de seus respectivos grupos, 1 hora (h) antes da administração de etanol (tempo 0). Após 1h do pré-tratamento os animais foram submetidos ao protocolo de lesão gástrica (tempo 1) onde foi aguardado um período de mais 1h para eutanásia (tempo 2). As concentrações escolhidas acerca do pré-tratamento com as galactomananas foram com base no trabalho realizado por Marques e colaboradores (2019).

### **5.5 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA**

Os estômagos foram estirados e fotografados com câmera digital para análise e medições das lesões da mucosa gástrica. A área total e lesionada do segmento glandular dos estômagos foi determinada por análise planimétrica das fotografias, através do programa de computador IMAGE J. As áreas de lesões foram expressas em valores de percentagem em relação a área total do corpo gástrico (MEDEIROS et al., 2008).

### **5.6 ANALISE HISTOLOGIA DO TECIDO GÁSTRICO**

Logo após as análises macroscópicas, a parte glandular dos estômagos foram retiradas e fixadas em formaldeído 10%. Após 24 horas essas amostras passaram por desidratação em uma solução de álcool 70%, clarificação em xilol, foram parafinizadas, cortadas em secções de 4 micrômetros com a utilização de um micrótomo e coradas com hematoxilina e eosina. As amostras foram analisadas sob um microscópio óptico por histopatologista experiente (SOARES, PMG) sem o conhecimento dos tratamentos, segundo os parâmetros de Laine e Weinstein (1988): presença de hemorragia (escores de 0- 4), edema na superfície da mucosa (escores de 0-4), perda de células epiteliais (escores de 0-3) e infiltrado de células inflamatórias (escores de 0-3), sendo 14 o escore máximo.

## **5.7 AVALIAÇÕES BIOQUÍMICAS DO ESTRESSE OXIDATIVO**

### **5.7.1. MENSURAÇÃO DOS NÍVEIS DE GLUTATIONA (GSH)**

O método de Sedlak e Lindsay (1968) foi utilizado para análise de glutathiona nas amostras de tecido do estômago, para determinação dos níveis de grupos sulfidrílicos não-proteicos, amostras de 50 a 100mg/kg do tecido gástrico dos animais foram homogeneizadas em 1 ml de (ácido etilenodiaminotetraacético) EDTA 0,02M para cada 100 mg de tecido. Aliquotas de 400µL do homogenato foram misturadas a 320µL de água destilada e a 80µL de ácido tricloroacético (TCA) a 50% para precipitação de proteínas e os tubos foram centrifugados (3.000 rpm, 20 min., 4 °C). Para 400µL do sobrenadante foi adicionado 800µL de tampão Tris 0,4 M (pH 8,9) e 20µL de DTNB 0,01 M (reagente de Ellman). A mistura foi então agitada por 3 minutos e a absorbância lida a 412nm em espectrofotômetro. As concentrações de grupos sulfidrílicos não-proteicos foram expressas em GSH por µg/g de tecido.

### **5.7.2. MENSURAÇÃO DOS NÍVEIS DE MALONDIALDEÍDO (MDA)**

Para dosagem de MDA no tecido estomacal dos animais foi utilizado o método descrito por Mihara e Uchiyama (1978) que se baseia na determinação do precursor de MDA pelo teste do ácido tiobarbitúrico (TBARS). As amostras, pesando entre 50 e 100mg, foram homogeneizadas em KCl 1,15% gelado (1 ml/100mg de tecido) para preparar 10% do homogenato. Em 250µL de cada homogenato foi adicionado 1% de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) e 0,6% de álcool terc-butílic (solução aquosa). Em seguida, esta mistura foi agitada e aquecida num banho de água em ebulição durante 45 min e a mistura foi, então, resfriada imediatamente em um banho de água gelada, seguida pela adição de 4 ml de n-butanol. Esta mistura foi agitada em um misturador vórtex por 1 minuto e a camada de butanol foi separado por centrifugação a 5 mil rpm durante 10 min. A densidade óptica foi determinada em 520 e 535nm, e a diferença da densidade óptica entre as duas determinações foi calculada como o valor do álcool terc-butílico. Os resultados foram expressos em nanomols de MDA por grama de tecido (nmol/g).

## **5.8 QUANTIFICAÇÃO DE HEMOGLOBINA**

A presença de hemorragia na mucosa gástrica foi determinada pelo ensaio de hemoglobina, utilizando o método da cianometogemoglobina (Bioclin, Belo Horizonte, MG, Brasil). Este kit padrão de hemoglobina (Bioclin) contém o reagente de cor para detecção de hemoglobina (reagente de Drabkin). Um segmento glandular do estômago foi homogeneizado

no reagente de Drabkin (100mg de tecido por 1ml de reagente). Pouco depois, as amostras foram centrifugadas a 10.000rpm durante 10 min. Os sobrenadantes foram então removidos, filtrados utilizando um filtro de 0,22 $\mu$ m e centrifugados a 10.000rpm durante 10 min. A absorbância foi medida a 540nm, e a concentração de hemoglobina foi lida com uma curva padrão e expressa como Hb (mg por g de tecido úmido).

### **5.9 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE (MPO)**

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima encontrada predominantemente em grânulos azurófilos de leucócitos polimorfonucleares e tem sido usado como índice quantitativo para avaliar a inflamação em vários tecidos. Esse experimento foi realizado utilizando 1cm do estômago, por animal, onde a amostra foi coletada e incubada com 200 $\mu$ L de tampão gelado (NaCl 0,1 M, NaPO<sub>4</sub> 0,02 M, NaEDTA 0,012 M; pH 4,7), posteriormente, os tecidos foram homogeneizados com o auxílio de um triturador. Para tanto, as amostras foram homogeneizadas e centrifugadas a 3.000rpm por 15 minutos a 4°C. Foi realizado, um choque hipotônico no sedimento celular (pellet) com 1000 $\mu$ l de NaCl 0,2%. Após nova centrifugação a 3000rpm por 15 minutos a 4°C, o “pellet” foi ressuspense em tampão NaPO<sub>4</sub> 0,05M (pH 5,4) contendo 0,5% de brometo de hexadeciltrimetilamonio e novamente homogeneizado. A seguir, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000rpm por 15 minutos a 4°C. Após centrifugação, 50 $\mu$ L do sobrenadante do homogenato do estômago foram colocados em placa de 96 poços para o ensaio. Em cada poço, adicionaram-se 25 $\mu$ L de TMB (3, 3', 3, 3'-tetramethylbenzidina; 1,6mM) e 100 $\mu$ L de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,5mM) e posteriormente a placa foi incubada por 5 min a 37°C. A seguir, a reação foi interrompida com ácido sulfúrico 4M. Foi realizada a quantificação dos neutrófilos a partir de uma curva padrão de neutrófilos (1x 10<sup>5</sup> neutrófilos/poço/50 $\mu$ L). Foi determinada a absorbância em leitor de ELISA no comprimento de onda de 450nm. Os resultados foram expressos como unidade de MPO/ mg de tecido (BRADLEY et al, 1982).

### **5.10 QUANTIFICAÇÃO DE CITOCINAS**

Para mensuração de citocinas, os fragmentos do estômago foram retirados dos animais para dosagem de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ . Os fragmentos foram adicionados em um tampão inibidor de protease (500 $\mu$ L de tampão para cada 100mg de tecido) e depois processados em um homogenizador de tecido e centrifugado a 3000 rpm a 4 °C por 10 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi coletado e incubado com 2 $\mu$ g/ml de anticorpo (anticorpo de captura) diluído em tampão de bicarbonato (pH 8.2), 100 $\mu$ L por poço por 24 horas a 4 °C. A placa foi lavada com PBS -Tween20 a 0,1%. A reação foi bloqueada com albumina bovina 1% diluída em

tampão de lavagem, 100µL por poço por 2 horas à temperatura ambiente. Depois a placa foi novamente lavada usando a mesma solução. A placa foi agora incubada com a curva padrão das citocinas (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) diluídas em tampão de lavagem e com as amostras de tecido, 100µL por poço por 24 horas a 4 °C. A placa foi novamente lavada e depois incubada com o anticorpo biotilado (1:1000) diluído em tampão de lavagem contendo 1% de soro por 1h à temperatura ambiente. Novamente a placa foi lavada e depois incubada com avidina-peroxidase (DAKO) diluída 1:5000 em tampão de lavagem, 100µL por poço por 15 minutos à temperatura ambiente. A placa foi lavada e incubada com o-fenilenediaminadiidrocloreto (OPD) em tampão substrato, 100µL por poço, no escuro à temperatura ambiente por um período que varia de 5 a 20 minutos. A reação foi parada com 150µL por poço de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M. A intensidade da coloração foi medida em espectrofotômetro a 490nm e os resultados foram expressos como média  $\pm$  EPM da quantidade de IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  (TAVARES-MURTA et al., 2008).

### **5.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

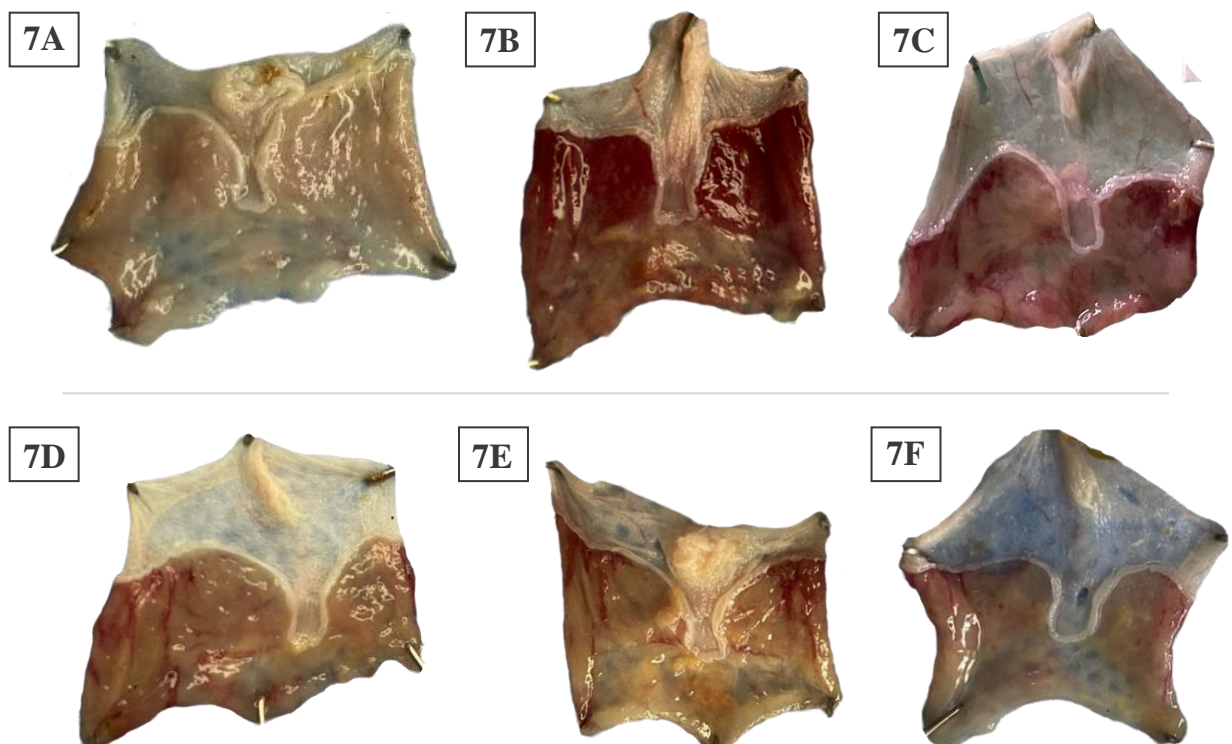
As análises estatísticas foram realizadas utilizando Software Prisma versão 8.0, e os dados foram analisados utilizando a comparação múltipla paramétrica e não paramétrica utilizado à análise de variância oneway ANOVA, seguido de Bonferroni. Para as análises das alterações histológicas foi realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido de comparação múltipla de Dunns. Os dados foram expressos como média  $\pm$  E.P.M (SEM) ou mediana com mínimo e máximo (variáveis sem distribuição normal), sendo considerados aqueles que apresentaram significância com  $p < 0,05$ .

## 6. RESULTADOS

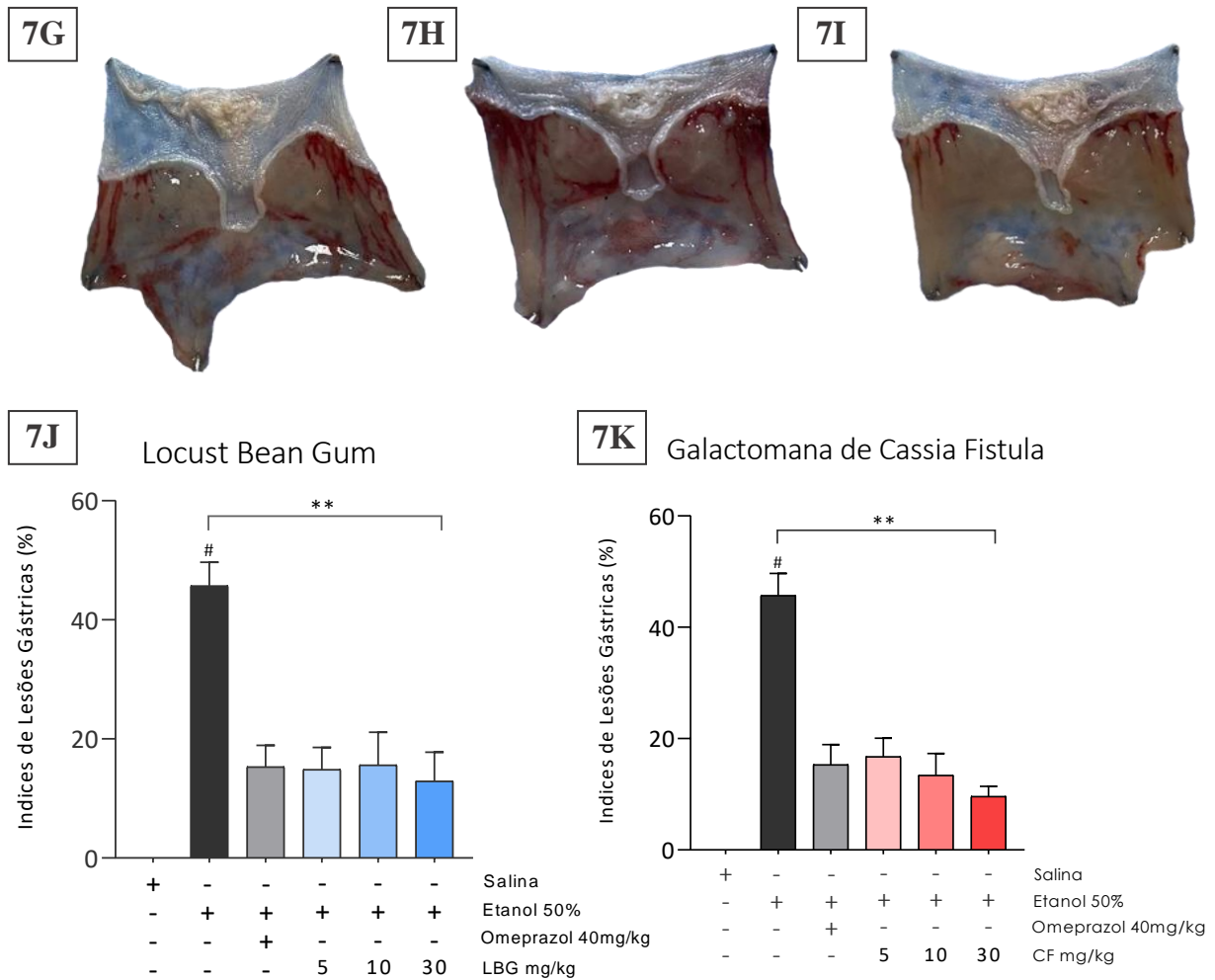
### 6.1 EFEITO PROTETOR DA LOCUST BEAN GUM & GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA SOBRE AS ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS NA PAREDE DO ESTÔMAGO CAUSADAS PELA EXPOSIÇÃO DO ETANOL

As figuras de 7B a 7I representam as alterações macroscópicas causadas pela exposição do etanol (50% v.o.) e a 7A o representativo do estômago dos animais salina, por meio das quais foram analisados os índices de lesões hemorrágicas presentes no tecido gástrico dos animais, evidenciados nas figuras 7J e 7K. Ao que se refere aos dados obtidos do grupo LG, esses demonstraram que houve uma porcentagem maior de processos lesivos hemorrágicos ( $45,70 \pm 3,994$ ) (fig.7J & 7K) no tecido estomacal dos animais, quando comparados ao grupo salina ( $0,00 \pm 0,00$ ) (fig.7J & 7K). Ao observar o grupo OME constatou-se uma redução dessas lesões ( $15,30 \pm 3,4631$ ) (fig.7J & 7K) quando comparado ao grupo LG. E essa gastroproteção foi observada também no grupo pré-tratado com a LBG ( $14,87 \pm 3,732; 15,61 \pm 5,538; 12,90 \pm 4,850$ ) (Fig. 7J), assim como para o grupo pré-tratado com a GMNN de CF ( $16,80 \pm 3,268; 13,41 \pm 3,911; 9,614 \pm 1,799$ ) (Fig. 7K), nas doses de 5, 10 e 30mg/kg, respectivamente, sem diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre essas.

**FIGURA 7:** Efeito gastroprotetor de Locust Bean Gum e da Galactomanana de Cassia Fistula na representação macroscópica e sobre índices de lesões hemorrágicas.







Efeito gastroprotetor da LBG e GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/Kg (v.o.), seguido de 2h do protocolo experimental da gastrite aguda (T0 pré-tratamento + T1 indução + T2 para eutanásia). Grupos: (7A) Salina, (7B) Lesão gástrica por etanol (50%), (7C) Omeprazol, (7D) LBG na dose de 5 mg/kg, (7E) LBG na dose de 10 mg/kg, (7F) LBG na dose de 30 mg/kg, (7G) CF na dose de 5 mg/kg, (7H) CF na dose de 10 mg/kg, (7I) CF na dose de 30 mg/kg. As Figuras 7J e 7k representam os índices percentuais de lesões hemorrágicas, com o evidente efeito gastroprotetor da LBG e GMNN de CF, respectivamente. Os valores foram expressos como média  $\pm$  EPM (n=6) com significância  $**p < 0,05$  quando comparados ao grupo LG e  $\#p < 0,05$  quando comparados ao grupo Sal. GMNN: Galactomanana, LBG: Locust Bean Gum, CF: Cássia Fistula, OME: Omeprazol, LG: Lesão Gástrica (etanol 50%), Sal :salina.

## 6.2. EFEITO GASTROPROTETOR DA LOCUST BEAN GUM & GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA SOBRE AS ALTERAÇÕES HISTOLOGICAS CAUSA PELO ETANOL.

Os dados referentes as análises histológicas do tecido gástrico dos animais estão presentes na tabela 1 e 2, nas quais evidenciam através de escores classificatórios da integridade do tecido estomacal, alterações significativas ( $p < 0,05$ ) no grupo LG, estando inclusos entre essas uma maior presença de edema, hemorragia, perda de células epiteliais e infiltração

neutrófila, quando comparados ao grupo SAL. De mesmo modo é possível observar uma redução dessas mesmas alterações, com exceção da perda de células epiteliais, no grupo OME. Já os dados obtidos do pré-tratamento com a LBG demonstram que esse polissacarídeo possui a capacidade de reduzir significativamente ( $p < 0,05$ ) o edema e o infiltrado neutrófilico nas doses de 5, 10 e 30mg/kg, como também a capacidade desse composto em evitar a perda de células epiteliais na dose de 10mg/kg, sendo esses efeitos protetores não observados nas análises hemorrágicas do tecido estomacal dos animais submetidos ao protocolo de GA alcoólica, dados esses presentes na tabela 1.

**TABELA 1:** Escores histológicos do tecido estomacal de animais submetidos ao protocolo de lesão gástrica por etanol e pré-tratados com Locust Bean Gum.

	Sal	LG	OME	LBG 5mg/kg	LBG 10mg/kg	LBG 30mg/kg
<b>HEMORRAGIA</b> (Escore 0 - 4)	0	1 # (1 - 2)	0 ** (0 - 1)	1 (0 - 1)	1 (0 - 1)	1 (0 - 1)
<b>EDEMA</b> (Escore 0 - 4)	0	2,5 # (2 - 4)	1 ** (1 ± 2)	1 ** (0 - 2)	0 ** (0 - 1)	0 ** (0 - 1)
<b>PERDA DE CÉLULAS</b> (Escore 0 - 3)	0	2,0 # (1 - 2)	2 (0 - 3)	1 ** (0 - 2)	0 ** (0 - 1)	1 ** (0 - 1)
<b>INFILTRADO NEUTROFÍLICO</b> (Escore 0 - 3)	0	2,0 # (1 - 2)	0 ** (0 - 1)	0 ** (0 - 1)	0 ** (0 - 1)	0 ** (0 - 1)
<b>Escore total</b> (Escore 0 - 14)	0	7,5 #	3 **	3 **	1 **	2 **

Os valores denotam mediana com mínimo e máximo, respectivamente, com significância # $p < 0,05$  quando comparado ao grupo salina e \* $p < 0,05$  quando comparados ao grupo lesão gástrica, ao realizar o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn's.

**TABELA 2:** Escores histológicos do tecido estomacal de animais submetidos ao protocolo de lesão gástrica por etanol e pré-tratados com galactomanana de Cassia Fistula.

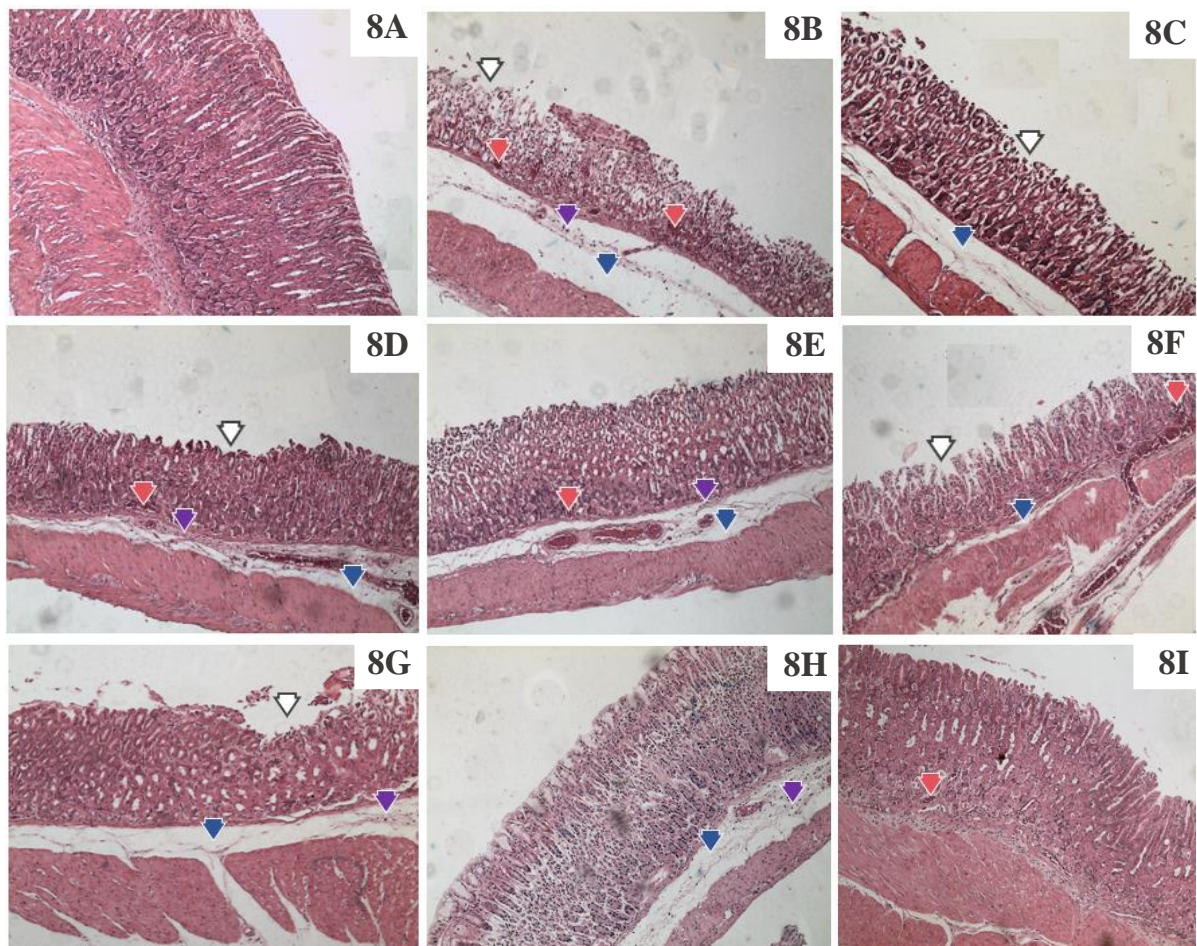
	Sal	LG	OME	CF 5mg/kg	CF 10mg/kg	CF 30mg/kg
<b>HEMORRAGIA</b> (Escore 0 - 4)	0	1 # (1 - 2)	0 ** (0 - 1)	0 ** (0 - 1)	0 ** (0 - 1)	0 ** (0 - 1)
<b>EDEMA</b> (Escore 0 - 4)	0	2,5 # (2 - 4)	1 ** (1 ± 2)	1 ** (0 - 2)	1 ** (0 - 2)	1 ** (0 - 2)
<b>PERDA DE CÉLULAS</b> (Escore 0 - 3)	0	2 # (1 - 2)	2 (0 - 3)	1 ** (0 - 1)	0 ** (0 - 1)	1 ** (0 - 1)
<b>INFILTRADO NEUTROFÍLICO</b> (Escore 0 - 3)	0	2 # (1 - 2)	0 ** (0 - 1)	0 ** (0 - 1)	1 ** (0 - 1)	1 ** (0 - 1)
<b>Escore total</b> (Escore 0 - 14)	0	7,5 #	3 **	2 **	2 **	3 **

Os valores denotam mediana com mínimo e máximo, respectivamente, com significância # $p < 0,05$  quando comparado ao grupo salina e \* $p < 0,05$  quando comparados ao grupo lesão gástrica, ao realizar o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn's.

Da mesma forma os efeitos gastroprotetores da galactomanana de Cassia Fistula são descritos na tabela 2, em que se observa a habilidade desse heteropolissacarídeo de reduzir significativamente ( $p < 0,05$ ) os escores referentes a presença de hemorragia e edema nas doses de 5, 10 e 30mg/kg, além da capacidade dessa galactomanana em limitar a infiltração neutrofílica nas três doses utilizadas para teste.

As fotomicrografias do tecido gástrico dos animais estão presentes na figura 8, onde é possível observar as alterações descritas na tabela 1 e 2, além dos respectivos efeitos gastroprotetores de LBG e galactomanana de Cassia Fistula nas doses de 5, 10 e 30mg/kg.

**Figura 8:** Fotomicrografias do tecido estomacal de camundongos submetidos ao protocolo experimental de gastrite aguda alcoólica.

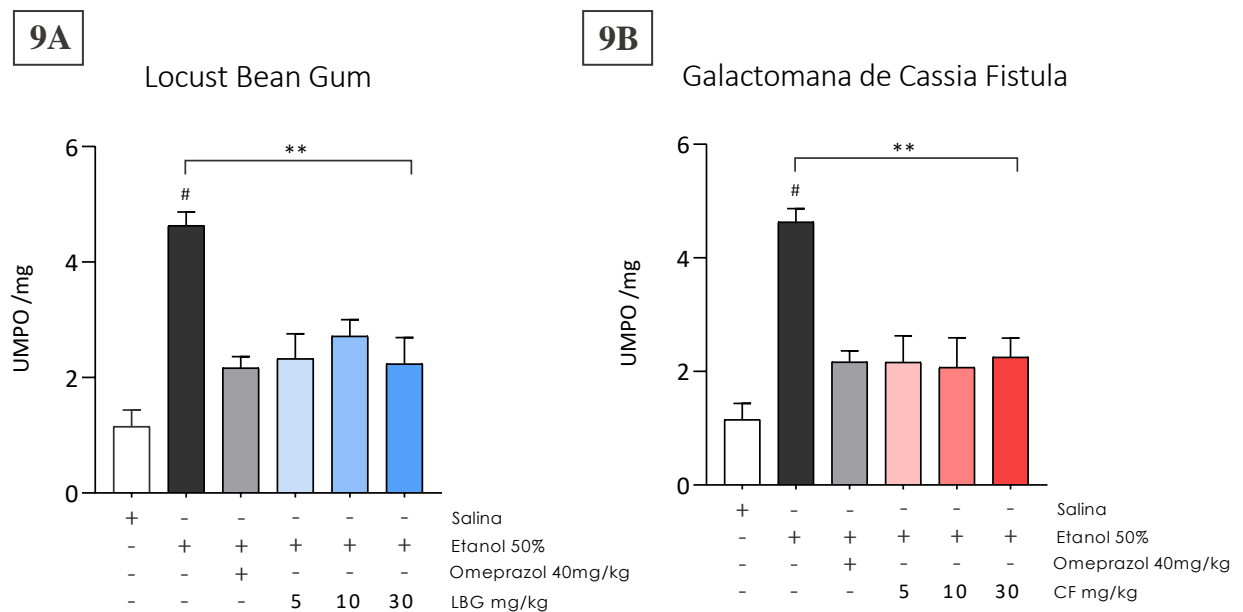


Imagens histológicas do tecido gástrico de camundongos (objetiva de 10x), onde é evidenciado o tecido estomacal dos animais dos grupos Salina (8A), Lesão Gástrica (8B), Omeprazol (8C), LBG nas doses de 5(8D), 10 (8E) e 30mg/kg (8F) e GMNN de CF nas doses de 5(8G), 10(8H) e 30mg/kg (8I). As setas indicam: ▽ perda de células epiteliais, ▼ hemorragia, ▼ edema e ▼ infiltrado de células inflamatórias.

### 6.3. EFEITO GASTROPROTETOR DA LOCUST BEAN GUM & GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA SOBRE A ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE

A administração de etanol (50%), aumentou significativamente ( $p < 0,05$ ) a atividade da enzima mieloperoxidase no grupo lesão gástrica ( $4,635 \pm 0,2327$  UMPO/mg tecido) quando comparada ao grupo salina ( $1,154 \pm 0,5013$  UMPO/mg tecido) (Fig. 9A e 9B). Ao observar o grupo OME ( $2,166 \pm 0,1975$ ) (9A & 9B) constatou-se uma redução da MPO quando comparado ao grupo LG. De mesmo modo os dados obtidos dos grupos pré-tratados com a LBG ( $2,330 \pm 0,4259$ ;  $2,717 \pm 0,2857$ ;  $2,236 \pm 0,4555$  UMPO/mg tecido) (Fig. 9A) e a GMNN de CF ( $2,164 \pm 0,4610$ ;  $2,073 \pm 0,5168$ ;  $2,251 \pm 0,3382$  UMPO/mg tecido) (Fig. 9B), nas doses de 5, 10 e 30mg/kg, respectivamente, demonstraram a capacidade dessas macromoléculas em reduzir a atividade da enzima MPO, não se evidenciando diferenças estatísticas ( $P < 0,05$ ) entre elas.

**FIGURA 9:** Efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum & GMNN de Cassia Fistula sobre a atividade da MPO no tecido estomacal de camundongos.

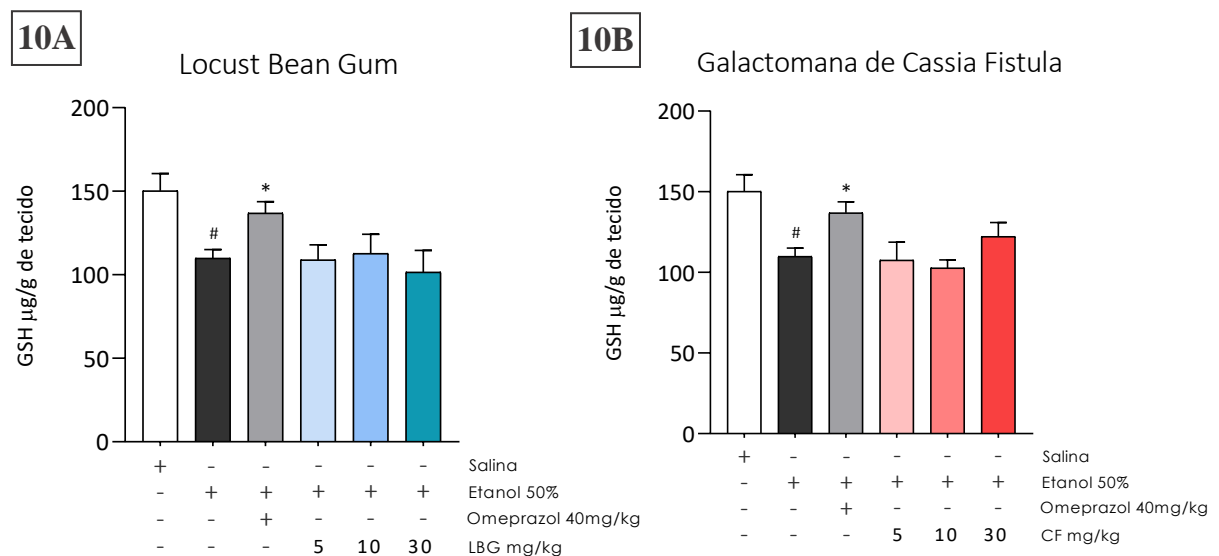


Efeito gastroprotetor da LBG e GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/Kg (v.o.) sobre a atividade da enzima mieloperoxidase, seguido de 2h do protocolo experimental da gastrite aguda (T0 pré-tratamento + T1 indução + T2 para eutanásia). Grupos: Salina, Lesão gástrica por etanol (50%), Omeprazol (Figuras 9A e 9B). Grupos pré-tratamento com a LBG nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg (Figura 9A) e GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg (Figura 9B). Os valores foram expressos como média  $\pm$  EPM ( $n=6$ ) com significância  $**p < 0,05$  quando comparados ao grupo LG e  $\#p < 0,05$  quando comparados ao grupo Sal. GMNN: Galactomanana, LBG: Locust Bean Gum, CF: Cássia Fistula, OME: Omeprazol, LG: Lesão Gástrica (etanol 50%), Sal: salina.

#### 6.4. AVALIAÇÃO GASTROPROTETORA DA LOCUST BEAN GUM E GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO, ATRAVÉS DA DOSAGEM DE GLUTATIONA (GSH).

A administração de etanol (50%) nos camundongos induziu uma redução nos níveis de glutaciona no grupo lesão gástrica, ( $110,0 \pm 5,077$  GSH $\mu\text{g/g}$  de tecido) quando comparado ao grupo salina ( $150,2 \pm 10,35$  GSH $\mu\text{g/g}$  de tecido) (Fig. 10A e 10B). As avaliações do grupo OME evidenciaram uma redução no consumo de GSH ( $137,0 \pm 6,689$  GSH $\mu\text{g/g}$  de tecido), quando comparados ao grupo LG (Fig. 10A e 10B). Os dados obtidos dos grupos pré-tratados com a LBG ( $109,0 \pm 8,872$ ;  $112,7 \pm 11,56$ ;  $101,6 \pm 13,07$  GSH $\mu\text{g/g}$  de tecido) (Figura 10A) e com a GMNN de CF ( $107,5 \pm 11,20$ ;  $102,7 \pm 5,151$ ;  $122,3 \pm 8,592$  GSH $\mu\text{g/g}$  de tecido) (Figura 10B), nas doses de 5,10 e 30mg/kg respectivamente, não demonstram efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) sobre as alterações causa pelo etanol no consumo de GSH durante o desenvolvimento do estresse oxidativo.

**FIGURA 10:** Atividade da Locust Bean Gum & galactomanana de Cassia Fistula sobre o consumo de GSH no tecido estomacal causado pelo etanol.

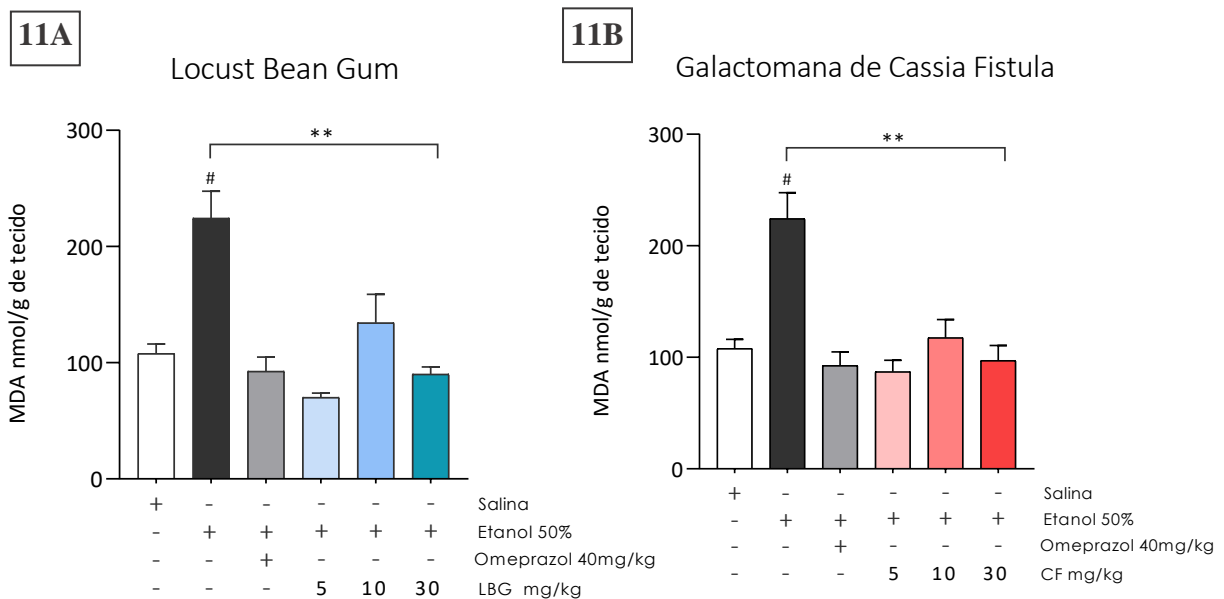


Efeito da LBG e GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/Kg (v.o.) sobre a glutaciona reduzida (GSH), durante o estresse oxidativo no tecido gástrico de camundongos submetidos ao protocolo experimental da gastrite aguda alcoólica (T0 pré-tratamento + T1 indução + T2 para eutanásia). Grupos: Salina, Lesão gástrica por etanol (50%), Omeprazol (Figuras 10A e 10B). Grupos pré-tratamento com a LBG nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg (Figura 10A) e GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg (Figura 10B). Os valores foram expressos como média  $\pm$  EPM ( $n=6$ ) com significância  $*p < 0,05$  quando comparados ao grupo LG e  $\#p < 0,05$  quando comparados ao grupo Sal. GMNN: Galactomanana, LBG: Locust Bean Gum, CF: Cássia Fistula, OME: Omeprazol, LG: Lesão Gástrica (etanol 50%), Sal: salina.

## 6.5 EFEITO DA LOCUST BEAN GUM E GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA SOBRE OS ÍNDICES DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA (MDA)

A administração de etanol (50%) aos camundongos do grupo LG demonstrou um aumento nos índices de malonaldeído (MDA) ( $224,4 \pm 23,11$  MDA nmol/g de tecido), quando comparados ao grupo salina ( $108,0 \pm 8,078$  MDA nmol/g de tecido) (Figuras 11A e 11B). Os dados obtidos do grupo OME ( $92,54 \pm 12,21$  MDA nmol/g de tecido) (Figuras 11A e 11B) evidenciaram uma diminuição nos níveis de MDA quando comparados ao grupo LG. Em relação aos grupos pré-tratados com a LBG ( $70,07 \pm 3,850$ ;  $134,4 \pm 24,42$ ;  $90,09 \pm 6,362$  MDA nmol/g de tecido) (Figura 11A) e GMNN de CF ( $87,23 \pm 10,07$ ;  $117,5 \pm 16,43$ ;  $97,24 \pm 13,46$  MDA nmol/g de tecido) (Figura 11B), nas doses de 5, 10 e 30mg/kg, respectivamente, demonstram índices menores da produção de MDA quando comparados ao grupo LG, sem diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre elas.

**FIGURA 11:** Efeito gastroprotetor da Locust Bean Gum & Galactomanana de Cassia Fistula sobre a produção do produto derivado da peroxidação lipídica advindos da exposição do etanol ao tecido gástrico.

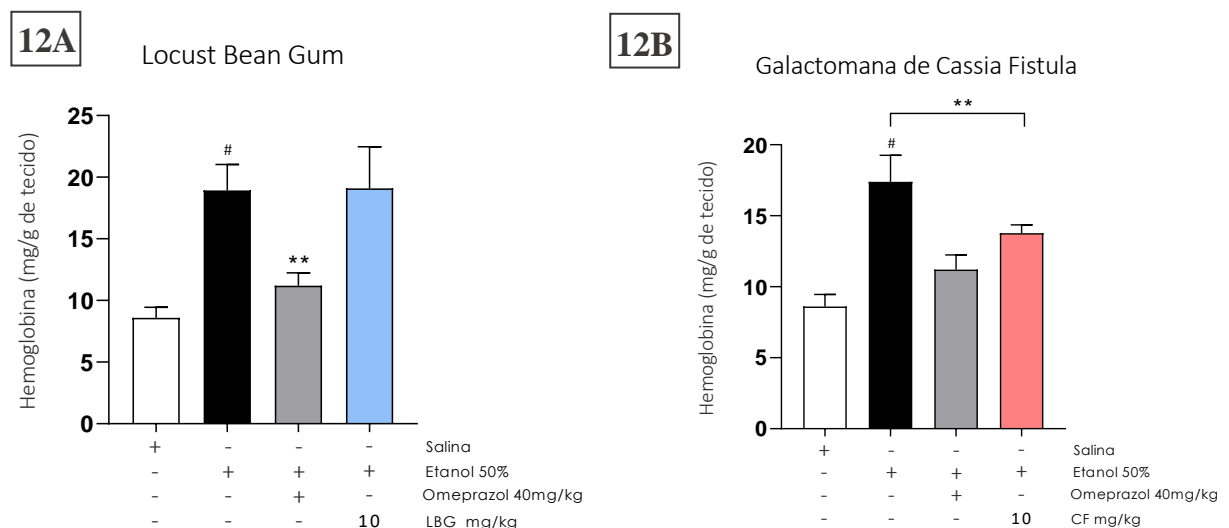


Investigação do efeito protetor da LBG e GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/Kg (v.o.) sobre os índices de malonaldeído no tecido estomacal seguido de camundongos, submetidos a 2h do protocolo experimental da gastrite aguda (T0 pré-tratamento + T1 indução + T2 para eutanásia). Grupos: Salina, Lesão gástrica por etanol (50%), Omeprazol (Figuras 11A e 11B). Grupos pré-tratamento com a LBG nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg (Figura 11A) e GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg (Figura 11B). Os valores foram expressos como média  $\pm$  EPM ( $n=6$ ) com significância  $*p < 0,05$  quando comparados ao grupo LG e  $\#p < 0,05$  quando comparados ao grupo Sal. GMNN: Galactomanana, LBG: Locust Bean Gum, CF: Cássia Fistula, OME: Omeprazol, LG: Lesão Gástrica (etanol 50%), Sal: salina.

## 6.6 AÇÃO DA LOCUST BEAN GUM E GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA SOBRE OS NÍVEIS HEMOGLOBINA PRESENTES NO TECIDO ESTOMACAL DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS AO PROTOCOLO DE GÁSTRITE ÁGUDA.

A exposição do etanol ao estômago dos animais pertencentes ao grupo lesão gástrica evidenciaram um aumento significativo dos níveis de hemoglobina (Hb) ( $17,39 \pm 1,876$  Hb mg/g), quando comparado ao grupo salina ( $8,604 \pm 0,8543$  Hb mg/g) (Figuras 12A e 12B). Outrossim os dados obtidos para o grupo OME evidenciaram uma redução na concentração de Hb ( $11,20 \pm 1,042$  Hb mg/g), quando comparados ao grupo LG (Figuras 12A e 12B). Ao observar os dados do grupo pré-tratado com a LBG na dose de 10mg/kg ( $20,88 \pm 3,161$  Hb mg/g), dose intermediária escolhida com um potencial terapêutico na GA, foi evidenciado a ineficácia dessa molécula em limitar o processo hemorrágico causado pelo etanol no tecido gástrico dos animais, quando comparados ao grupo LG (12A). Bem como o grupo pré-tratado com a GMNN de CF na dose de 10mg/kg ( $13,77 \pm 0,5918$  Hb mg/g), evidenciou um efeito gastroprotetor dessa molécula em reduzir os níveis de Hb, quando comparados ao grupo LG (Figura 12B).

**Figura 12:** Capacidade moduladora da Locust Bean Gum e Galactomanana de Cassia Fistula sobre a presença de hemoglobina no tecido estomacal de animais submetidos ao protocolo GA alcoólica.



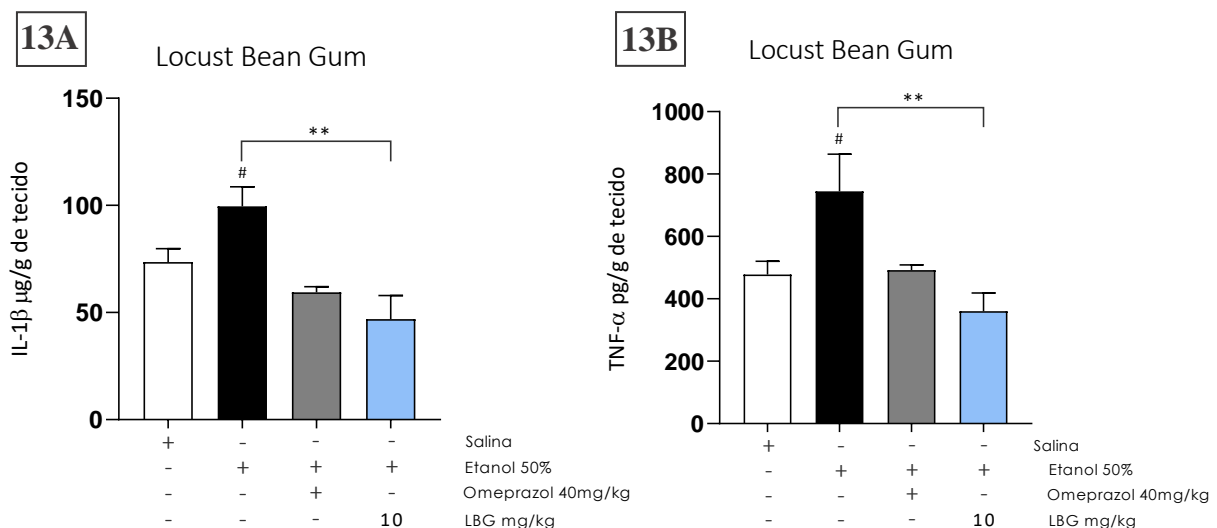
Avaliação do efeito protetor da LBG e GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/Kg (v.o.) sobre os índices de hemoglobina no tecido estomacal de camundongos, seguido de 2h do protocolo experimental da gastrite aguda (T0 pré-tratamento + T1 indução + T2 para eutanásia). Grupos: Salina, Lesão gástrica por etanol (50%), Omeprazol (Figuras 12A e 12B). Grupos pré-tratamento com a LBG nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg (Figura 12A)

e GMNN de CF nas doses de 5, 10 e 30 mg/kg (Figura 12B). Os valores foram expressos como média  $\pm$  EPM (n=6) com significância \* $p < 0,05$  quando comparados ao grupo LG e # $p < 0,05$  quando comparados ao grupo Sal. GMNN: Galactomanana, LBG: Locust Bean Gum, CF: Cássia Fistula, OME: Omeprazol, LG: Lesão Gástrica (etanol 50%), Sal: salina.

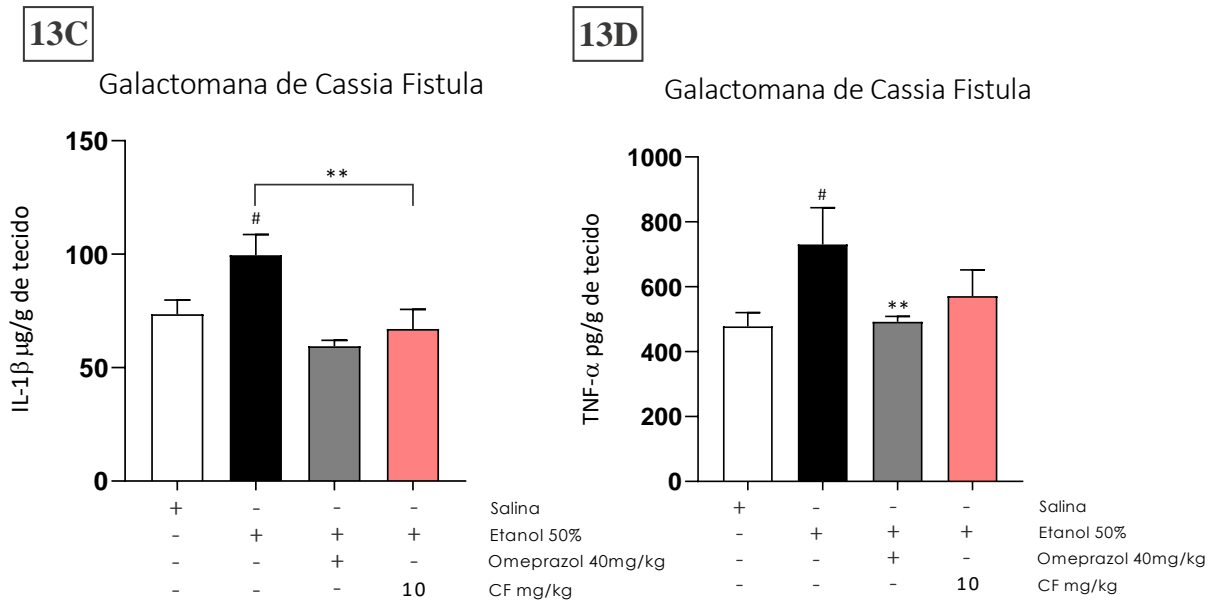
### 6.7 EFEITO DA LOCUST BEAN GUM E GALACTOMANANA DE CASSIA FISTULA SOBRE OS NÍVEIS DE CITOCINAS PROINFLAMATÓRIAS IL-1 $\beta$ E TNF- $\alpha$ NO TECIDO ESTOMACAL DE CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO ETANOL.

A administração de etanol aos animais pertencentes ao grupo lesão gástrica evidenciou um aumento significativo nos níveis das citocinas IL-1 $\beta$  ( $99,51 \pm 9,184 \mu\text{g/ml}$ ) e TNF- $\alpha$  ( $744,2 \pm 119,9 \text{ pg/ml}$ ), quando comparado ao grupo salina IL-1 $\beta$  ( $73,52 \pm 6,252 \mu\text{g/ml}$ ) e TNF- $\alpha$  ( $477,6 \pm 42,48 \text{ pg/ml}$ ) (Figuras 13A e 13B). E como esperado os dados obtidos para o grupo OME evidenciaram uma redução nas concentrações de IL-1 $\beta$  ( $59,47 \pm 2,551 \mu\text{g/ml}$ ) e TNF- $\alpha$  ( $492,4 \pm 16,74 \text{ pg/ml}$ ), quando comparados ao grupo LG (Figuras 13A e 13B). Os dados do grupo pré-tratado com LBG na dose de 10mg/kg, evidenciaram a eficácia dessa molécula em reduzir os níveis de IL-1 $\beta$  ( $46,89 \pm 11,05 \mu\text{g/ml}$ ) (Figura 12A) e TNF- $\alpha$  ( $360,6 \pm 57,89 \text{ pg/ml}$ ) (Figura 13B). Esse efeito redutor foi observado somente para os níveis de IL-1 $\beta$  ( $67,11 \pm 8,601 \mu\text{g/ml}$ ) nos dados obtidos para o grupo pré-tratado com GMNN de CF, na dose de 10mg/kg (Figura 13C). Os índices de TNF- $\alpha$  ( $594,6 \pm 65,77 \text{ pg/ml}$ ) para esse mesmo grupo não demonstrou alteração significativa ( $p < 0,05$ ) quando de mesmo modo foram comparados ao grupo LG (Figura 13D).

**Figura 13:** Efeito modulador da Locust Bean Gum e galactomanana de Cassia Fistula sobre os níveis das citocinas proinflamatórias IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  presentes no tecido gástrico de animais durante os efeitos lesivos causados pelo etanol.







Efeito gastroprotetor da LBG e galactomanana de CF na dose de 10mg/Kg (v.o.) sobre os níveis de citocinas proinflamatórias IL-1 $\beta$  (Figura 13A para LBG e 13C para GMNN de CF) e TNF- $\alpha$  (Figura 13B para LBG e 13D para GMNN de CF) no tecido estomacal de camundongos, submetidos a 2h do protocolo experimental da gastrite aguda (T0 pré-tratamento + T1 indução + T2 para eutanásia). Grupos: Salina, Lesão gástrica por etanol (50%), Omeprazol (Figuras 13A e 13B). Os valores foram expressos como média  $\pm$  EPM (n=6) com significância \* $p < 0,05$  quando comparados ao grupo LG e # $p < 0,05$  quando comparados ao grupo Sal. GMNN: Galactomanana, LBG: Locust Bean Gum, CF: Cássia Fistula, OME: Omeprazol, LG: Lesão Gástrica (etanol 50%), Sal: salina.

## 7. DISCUSSÃO

Os dados obtidos nesse estudo demonstraram o potencial gastroprotetor da galactomanana da alfarroba, a Locust Bean Gum, e de Cassia Fistula sobre os efeitos lesivos do etanol no tecido gástrico de camundongos submetidos ao protocolo experimental de gastrite aguda alcoólica, em que foi possível observar a partir das avaliações macroscópicas, uma redução das lesões erosivas na parede do estômago de animais pré-tratados com a LBG e GMNN de CF. Assim como em análises histopatológicas foi possível evidenciar a capacidade desses dois polissacarídeos em limitar alterações como edema, perda de células epiteliais e infiltrado neutrofilico, com a peculiaridade de somente a GMNN de CF conseguir reduzir os escores hemorrágicos e índices de hemoglobina do tecido gástrico. Foi destacado também a habilidade desses heteropolissacarídeos de reduzir a atividade da enzima mieloperoxidase, limitar os níveis de MDA e citocinas pró-inflamatórias durante a exposição do etanol ao tecido gástrico dos animais.

Ao longo dos últimos anos, pesquisadores demonstraram e padronizaram modelos experimentais utilizando o etanol como agente etiológico para indução da GA, nos quais esses se tornaram frequentemente utilizados para rastrear e evidenciar compostos que possuem atividades gastroprotetoras (PANTOJA, 2015; MARQUES et al., 2019; LI et al., 2018; ZHANG et al., 2019). Esse efeito toxico do EtOH no TGI é bem evidente, principalmente quando se refere ao estômago, pois as lesões iniciais causadas por essa substância ocorrem pela solubilização da barreira muco protetora, tornando a mucosa suscetível ao ácido gástrico e a pepsina (TARNAWSKI, 2005).

Além disso, o EtOH estimula a produção da secreção ácida e prolonga o tempo de esvaziamento gástrico, desta forma, aumentando o seu contato na mucosa, levando a alterações da rede vascular local e rompimento dos vasos sanguíneos, com consequente hemorragia (FRANKE et al., 2004; OATES; HAKKINEN, 1988; SCHUBERT, 2010).

Tendo em vista isso, por ser um modelo de GA de relativa facilidade de reprodução e com evidentes alterações ao tecido gástrico, o presente estudo utilizou da metodologia da exposição do EtOH ao tecido gástrico de animais para estudo do potencial gastroprotetor da Locust Bean Gum e galactomanana de Cassia Fistula, mediante doses nas concentrações de 5, 10 e 30 mg/kg. Sendo a dose de 10 mg/kg a escolhida para subsequentes testes, por ser uma dose intermediária e com menor variabilidade, além de apresentar diferenças em efeitos protetores a nível histológico quando comparados as outras concentrações do pré-tratamento.

De mesmo modo nos demais ensaios não foi possível observar diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) entre as doses, o que determina a escolha da concentração de 10mg/kg, por essa demonstrar uma completa eficácia de tratamento e ser considerada ainda como uma dose submáxima.

A reprodução do modelo da GA por meio da administração do EtOH foi evidente, tendo em vista que os animais pertencentes ao grupo lesão gástrica (etanol 50% v.o) demonstraram maiores modificações no tecido estomacal e de caráter patológico, ao se comparar com o grupo salina. Alterações essas evidentes a nível macroscópico, com porcentagens de lesões erosivas elevadas, e histológico, com presença de hemorragia, edema, perda de células epiteliais e infiltrado neutrofílico. Além de uma maior atividade da enzima MPO no tecido gástrico desses animais, o que colabora com os achados de infiltração de neutrófilos nas análises histopatológica. Todos esses achados se correlacionam com resultados obtidos por MEDEIROS (2009), com a exceção do infiltrado celular e um aumento da atividade da MPO, contudo esses dados se associam com os de outros pesquisadores.

Os recentes estudos experimentais presentes na literatura, demonstraram que a exposição do EtOH ao tecido gástrico de animais é capaz de causar a infiltração de células inflamatórias com características neutrofílica, propiciando o aumento dos níveis da MPO. Como no trabalho de Monteiro et al. (2019), que demonstrou alterações macroscópicas evidentes com índices expressivos de processos lesivos hemorrágicos, além de uma maior atividade da enzima MPO e infiltrado neutrofílico no estômago de camundongos expostos ao EtOH, na mesma proporção que a utilizada por esse presente estudo (MONTEIRO et al., 2019). Em outro ensaio, que utilizou uma serie de agentes e protocolos capazes de induzir uma gastrite experimental, foi atestado que a administração de EtOH em animais é suficiente para causar modificações no tecido estomacal dos mesmos, destacando através de protocolo histopatológico a presença de edema, hemorragia erosiva e infiltração de células inflamatórias, mesmo em um curto período de tempo (VIANA, 2017).

De mesmo modo, com o intuito de ratificar a reprodução do modelo de GA através da administração de EtOH, outros pesquisadores evidenciaram a sua padronização utilizando as mesmas metodologias propostas anteriormente, constatando modificações bioquímicas, macro e microscopias semelhantes às encontradas por Monteiro et al. (2019) e Viana (2017), assim como nos achados do presente estudo (XU et al., 2016; ZHANG et al., 2019; DEJBAN et al., 2020; NAM, CHOO, 2021).

Os dados obtidos do pré-tratamento com OME são condizentes com a bibliografia científica, tendo em vista que esse fármaco é utilizado como tratamento de primeira linha para as DPAs, como a gastrite. Em que foi confirmado por esse estudo a capacidade desse fármaco em atenuar a atividade da enzima MPO e prever processos erosivos e hemorrágicos, além de limitar a presença de edema e infiltração de células inflamatórias (SWEIS et al., 2013; NICOLAU, 2018; PINTO, 2019).

Já as avaliações dos pré-tratamentos com a Locust Bean Gum e a galactomanana de Cassia Fistula, constataram a eficácia dessas macromoléculas como gastroprotetoras frente as ações patológicas causadas pelo EtOH. Destacando efeitos protetores desses dois PLDs sobre os índices de lesões hemorrágicas no tecido gástrico de camundongos, sem distinções estatísticas ( $p < 0,05$ ) entre as doses. Evidenciado também diferenças peculiares a nível histológico, como nos dados obtidos do pré-tratamento com a LBG, que destacou a capacidade dessa molécula em reduzir a presença de edema, perda de células epiteliais e infiltração de neutrófilos, não incluindo entre esses uma diferença nos escores hemorrágicos quando comparados ao grupo lesão gástrica. Já a administração da GMNN de CF demonstrou efeitos semelhantes aos dados da LBG e do grupo OME, com o diferencial desse heteropolissacarídeo em prever a perda de células epiteliais, quando comparados ao grupo OME e de reduzir os índices de processos hemorrágicos quando comparados ao grupo LBG.

Esses achados sobre os escores hemorrágicos colaboram com as análises dos índices de hemoglobina no tecido estomacal de animais submetidos ao protocolo de GA alcoólica. No qual foi evidenciado que na dose de 10mg/kg, somente a GMNN de CF foi capaz de reduzir os níveis de hemoglobina, não sendo encontrando esse mesmo efeito para a LBG na mesma dose.

Com a exceção dos dados divergentes sobre os escores hemorrágicos, outros trabalhos experimentais que utilizaram as GMNNs como agentes gastroprotetores, destacaram a habilidade desses heteropolissacarídeos em limitar as repercussões causadas por agentes agressores ao estômago, principalmente no que se refere às análises macroscópicas e histológicas. A exemplo se tem o estudo realizado por Marques et al. (2019), que demonstrou a capacidade da galactomanana derivada das sementes de *Caesalpinia pulcherrima*, em formar um biopolímero capaz de reduzir ou limitar as lesões teciduais causadas pela indometacina ao tecido gástrico de camundongos, com redução da perda de células e o infiltrado neutrofílico, em doses semelhantes a utilizada por esse estudo (MARQUES et al., 2019).

Em uma análise experimental que utilizou a Goma Guar e a GMNNs de Fava Dantas como tratamento para GA tendo como agente etiológico o EtOH, foi comprovado a atividade gastroprotetora dessas macromoléculas mediante a redução dos escores histológicos para hemorragia, edema, perda de células epiteliais e infiltrado celular, além de reduzir as porcentagens de lesões ao tecido gástrico dos animais (PINTO et al., 2019).

Esses achados são determinantes na compreensão dos mecanismos gastroprotetores da LBG e GMNN de CF, que podem estar relacionados a estrutura e composição dessas moléculas, sendo essas citadas por possuírem uma maior concentração de manose em relação as outras GMNNs conhecidas e amplamente distribuídas, como a Goma Guar, Goma Tara, e até a GMNN advinda das sementes de *Caesalpinia pulcherrima* e de Fava Dantas (SILVA, 2012; PRAJAPATI et al., 2013; MARQUES et al., 2019; PINTO et al., 2019). Uma maior concentração de manose é citada por influenciar na formação de um conteúdo gelatinoso com mais eficácia, o que pode estar limitando a construção de uma capa sobre o tecido estomacal, permitindo, no caso da LBG, que ocorra ainda o contato do EtOH à mucosa gástrica, o que pode ser explicado pela ausência de mudanças nos escores hemorrágicos e presença de hemoglobina no tecido gástrico dos animais (SILVA, 2012; PRAJAPATI et al., 2013), sendo então a relação M/G um fator resolutivo a gastroproteção das galactomananas.

Os ensaios que indicaram dados positivos do potencial efeito gastroprotetor desses heteropolissacarídeo, destacam a similaridade a outros PLDs não definidos como GMNNs, citados por atuarem sobre mecanismos específicos na proteção do tecido estomacal e que podem estar relacionados aos efeitos benéficos da LBG e GMNN de CF. Como exemplo se tem o PLD derivado do fruto da *Lycium barbarum*, com composição semelhante as GMNNs, que demonstrou capacidade protetora a nível macro e microscópico, com o diferencial de limitar a expressão da molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), que é responsável por influenciar na migração de leucócitos ao local da lesão (LIAN et al., 2020). Outro ensaio também analisou o ramnogalacturonan-I, um PLD advindo das sementes da black cumin (*Nigella sativa*), que destacou a capacidade dessa molécula de inibir a bomba de prótons e aumentar a produção de muco como também os níveis de PGE<sub>2</sub> (MANJEGOWDA et al., 2017).

Os níveis de muco e PGE<sub>2</sub> são ensaios presentes na maioria dos estudos experimentais de GA, principalmente aqueles envolvendo PLDs, pois esses são considerados os principais fatores protetores da mucosa gástrica, o que os determinam como marcadores essenciais nas análises de atividades de agentes gastroprotetores. A exemplo dessa atividade se tem a

utilização dos PLDs derivados da planta *Aloe vera L.*, o APS-F1, derivado da *Bletilla striata*; e o Chitosan, que demonstram em ensaios experimentais a capacidade de aumentar os níveis de PGE<sub>2</sub> e muco (XU et al., 2016; ZHANG et al., 2019; LU et al., 2022). Tendo em vista isso, os ensaios para determinação desses marcadores podem configurar os mecanismos por trás das ações gastroprotetoras da LBG e GMNN de CF.

Com relação aos ensaios realizados para as avaliações de marcadores antioxidantes produzidos por células do tecido gástrico. Foi atestado a influência do EtOH sobre os níveis de GSH, evidenciando seu consumo, e o aumento da peroxidação lipídica mediante, a elevação nos índices de MDA no grupo lesão gástrica quando comparados ao salina.

O metabolismo normal da maioria das células, inclusive as do epitélio gástrico, envolve a produção de EROs durante o processo denominado de respiração celular. Em que o oxigênio molecular pode gerar subprodutos como os peróxidos lipídicos (ROOH), que são considerados mediadores chaves de diversos processos inflamatórios que envolvem a liberação de EROs, estando o ROOH presente em patologias como as UGs e a GA. Contudo, a atuação do sistema regulatório do estresse oxidativo celular se torna eficaz na inibição da propagação dos efeitos lesivos causados por esses produtos (GASCHLER; STOCKWELL, 2017). Sendo somente esse sistema sobrepulado durante alterações patológicas, mediante ações de agentes agressores a MG, o que potencializa a ação das enzimas SOD, CAT e o consumo de GSH, além de serem evidenciados níveis elevados de MDA.

Dando ênfase para os efeitos lesivos do EtOH no compartimento estomacal, que são bem difundidos pela comunidade científica, por possuírem a capacidade de intensificar a produção de EROs de oxigênio, excedendo o sistema antioxidante celular, o que causa o subsequente consumo de GSH e a elevação de MDA (TAN et al., 2002; LI et al., 2014), sendo então esses marcadores utilizados por trabalhos científicos para comprovar a reprodução do modelo de gastrite e rastrear agentes gastroprotetores. Como é o caso do estudo realizado por RAISH et al. 2018, no qual destacou além da função polímero protetor do PLD derivado da *Momordica charantia* a capacidade dessa molécula em prevenir o consumo de GSH, além de se evidenciar níveis menores MDA, no tecido estomacal de animais submetidos a exposição do EtOH (RAISH et al., 2018). De mesmo modo, a utilização de frações do fruto da *Prunus domestica L.* (uma leguminosa), incluindo entre essas dois PLDs, o SF-50r e o SF-50, demonstrou efeitos antioxidantes em culturas de células do epitélio gástrico humano, da mesma maneira este efeito se reproduziu nos testes in vivo realizados pelos pesquisadores dispondo do uso do EtOH para o protocolo de GA alcoólica (CANTU-JUGLES et al., 2013).

Referente aos dados obtidos do pré-tratamento com OME sobre os índices de peroxidação lipídica e consumo de GSH, esse se mostrou eficaz na prevenção de alterações causadas pelo EtOH mediante a modulação dos subsequentes produtos advindos da formação de EROs. Dados esses validados pela literatura, que demonstram a capacidade desse fármaco em evitar o agravamento das modificações causadas pela exposição do EtOH a MG (HUNT et al., 2014; SIERRA et al., 2018; MONTEIRO et al., 2019).

As análises obtidas do pré-tratamento com a LBG e GMNN de CF evidenciaram a capacidade dessas moléculas, semelhante a terapia de primeira linha, em reduzir os índices de MDA no tecido gástrico dos animais submetidos ao protocolo de GA através da exposição do etanol, sem se observar uma diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre as doses. Contudo, de forma peculiar não foi observado a habilidade desses heteropolissacarídeos em atenuar o consumo de GSH, em nenhuma das concentrações administradas, mediante as ações do etanol a MG.

Os mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo no organismo ocorre através de estágios de detoxificação, com 3 fases que determinam as causas e os potenciais efeitos lesivos em consequência à formação de EROs. Em que a fase 1, envolve a exposição ou adição de grupos funcionais reativos através de reações de oxidação, redução e hidrólise, tendo então por objetivo deixar o composto mais hidrossolúvel, facilitando assim a excreção destes metabolitos. Essa etapa pode ser catalisada por enzimas microssomais monooxigenases, representadas primordialmente pela superfamília do citocromo P450. Os dados da literatura indicam ainda que durante a produção de EROs na fase 1, esses podem provocar danos nas membranas lipídicas em um processo conhecido como peroxidação lipídica. Já as reações de fase 2, também são chamadas de reações de conjugação onde ocorrerem processos como a glicuronidação, sulfonação, acetilação, metilação, conjugação com glutathione e conjugação com aminoácidos, em que a maioria dessas reações formam compostos altamente polarizáveis e hidrossolúveis. Dentre os compostos endógenos a GSH possui papel de destaque, sendo também citada a participação de enzimas peroxidases, como a CAT. Em última instância, ocorre a fase 3, citada por realizar a excreção de metabolitos gerados nas etapas anteriores (GARCIA et al., 2016).

Deste modo, os resultados obtidos do pré-tratamento com a LBG e GMNN de CF, que destacaram as diferentes ações desses polissacarídeos sobre os níveis de GSH e MDA, podem se justificar pelas fases da regulação dos efeitos do estresse oxidativo realizada pelas células. Em que a peroxidação lipídica ocorre em primeira instância, o que pode estar envolvido com a capacidade desses compostos em atuarem como polímeros protetoras, evitando assim a

peroxidação lipídica causada pelos EROs. Já o consumo de GSH ocorre devido aos mecanismos antioxidantes intracelulares, que podem ser ativados por ações diretas das EROs produzidas por falhas na camada protetora desses heteropolissacarídeos. Outrossim, os dados obtidos por esse estudo se correlacionam com os achados de Marques et al. 2019, que evidenciou a não eficácia da GMNN derivada das sementes de *Caesalpinia pulcherrima* em limitar o consumo de GSH, esse trabalho denota ainda a possibilidade da mensuração de outros constituintes da via antioxidantes, tais como catalase, superóxido dismutase, glutathione peroxidase glutathione reductase ou substâncias não enzimáticas como ubiquinona, melatonina, tioredoxina (TxR) e ácido lipóico (MARQUES et al., 2019).

Os dados obtidos sobre os níveis de citocinas pró-inflamatórias presentes no tecido gástrico dos animais submetidos ao protocolo de GA, evidenciaram no grupo LG uma maior quantificação de IL1- $\beta$  e TNF- $\alpha$ , quando esses foram comparados aos dados do grupo SAL. Demonstrando assim, em concordância com os dados citados anteriormente, a reprodução do modelo de GA alcoólica descrita por MEDEIROS (2009), assim como outros estudos foram capazes de evidenciar o aumento nas mensurações dessas mesmas citocinas, quando os tecidos estomacais de animais foram expostos a agentes agressores, incluindo entre esses o EtOH (MEDEIROS, 2009; ZENG et al., 2017; ZHANG et al., 2019; LU et al., 2022).

Os índices de IL1- $\beta$  e TNF- $\alpha$  se mostraram com menor elevação quando os animais foram pré-tratados com OME, demonstrando a eficácia desse fármaco no tratamento da GA. Esse efeito já era previsto e se encontra descrito pelo banco de dados da literatura (HUNT et al., 2014; SIERRA et al., 2018; MONTEIRO et al., 2019).

Da mesma forma, de caráter inédito, os resultados do pré-tratamento com LBG evidenciaram níveis reduzidos de IL1- $\beta$  e TNF- $\alpha$ , na dose de 10mg/kg, quando comparados ao grupo LG. De forma peculiar o pré-tratamento com a GMNN de CF possibilitou uma atenuação somente nos níveis de IL1- $\beta$ , sendo não evidenciado a capacidade desse heteropolissacarídeo em reduzir os índices de TNF- $\alpha$  no estômago de animais frente a ação do EtOH. Esse ensaio demonstrou uma semelhança estatística em relação aos dados referentes ao tratamento dos animais com as galactomananas e o fármaco de primeira linha utilizado como terapia para as DPAs, indicando mais uma vez a eficácia desses dois PLDs em limitar as ações agressoras do agente causador da GA. A diferença somente em relação aos achados da GMNN de CF que pode ser explicado mediante o erro estatístico presente no grupo LG na mensuração de TNF- $\alpha$ , podendo esse viés estar influenciando as análises de significância para o grupo tratado com esse composto, necessitando assim de uma inclusão ou aumento no



número dos animais para se obter dados mais conclusivos. Tendo em vista também que essas duas citocinas são consideradas marcadores clássicos em diversos processos inflamatórios e de modo geral são expressas de forma equivalentes, mesmo possuindo ações direcionadas e as vezes servindo, de forma individual, como marcadores chaves em patologias específicas (PANTOJA et al., 2012; MARQUES et al., 2019; PINTO et al., 2019).

Assim como sugerido por outros trabalhos envolvendo PLDs com capacidade polímero protetoras e bioadesivas, os efeitos inflamatórios causados por agentes agressores a mucosa são menos evidenciados quando realizado o pré-tratamento com essas macromoléculas. Tendo em vista que esses PLDs ao formarem uma camada protetora sobre tecido epitelial, limitam o contato de substâncias nocivas e assim atenuam os efeitos patológicos causados por esses agentes (NICOLAU, 2018; PINTO et al., 2019; LU et al., 2022).

Já outros estudos demonstraram a capacidade de alguns PLDs em atuar como agentes imunomoduladores e assim serem considerados como substâncias anti-inflamatórias, a exemplo se tem o trabalho realizado por Pantoja et al. (2012), que demonstrou a habilidade da fração polissacarídica hidrossolúvel da casca de *ximenia americana*, de inibir a migração de neutrófilos em modelo de lesão gástrica induzida por indometacina (PANTOJA et al., 2012). De forma similar o trabalho de Marques et al. (2019) evidenciou que os mecanismos pelos quais a GMNNs derivada das sementes de *Caesalpinia pulcherrima* pode estar exercendo seu efeito gastroprotetor, frente a ação da indometacina, em decorrência da capacidade desse PLD em reduzir o rolamento de leucócitos, correlacionando isso também a habilidade dessa substância em atenuar os níveis de TNF- $\alpha$ , que pode estar ocorrendo ainda devido ao bloqueio da liberação dessa citocina por meio células residentes, tais como macrófagos, conduzindo a uma diminuição da ativação de células endoteliais, o que resulta na redução da migração de neutrófilos para o tecido lesado (MARQUES et al., 2019).

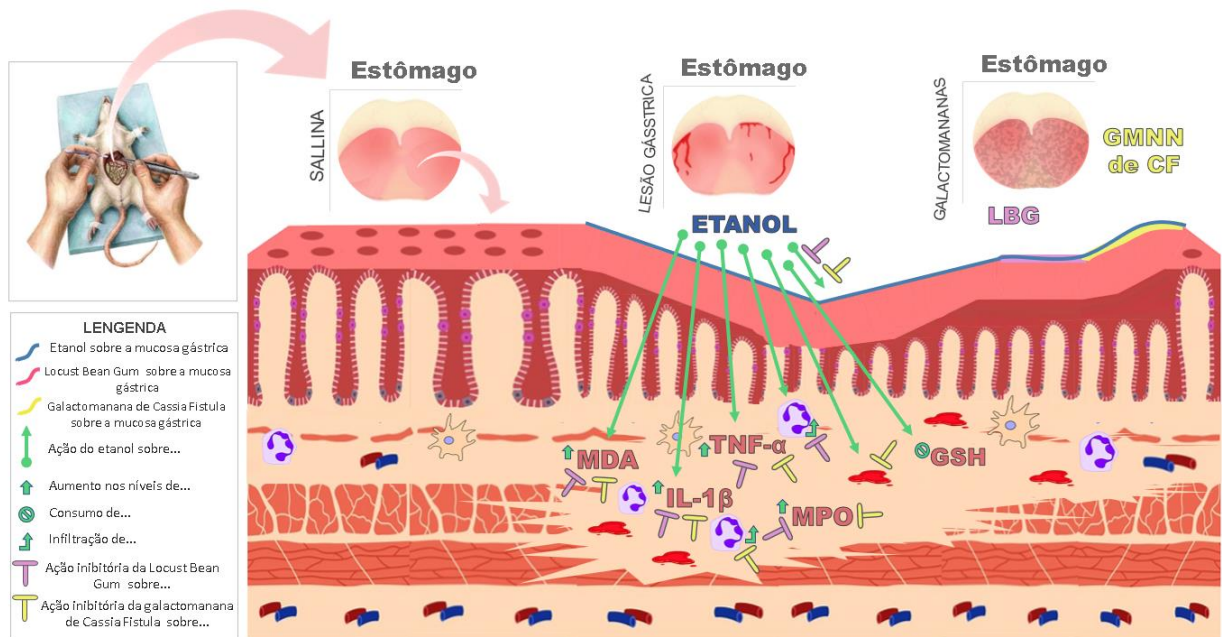
De forma complementar e hipotética acerca do presente estudo, o trabalho realizado por Chen et al. (2020) demonstrou que frações de polissacarídeos derivados de uma mesma origem, com composições estruturais diferentes, desempenharam papéis distintos em ordem de efeitos modulatórios frente a ação do EtOH sobre a mucosa gástrica de ratos. Esse estudo destacou que a fração polissacarídica, denominado de HPB-3, que possui uma composição semelhante as galactomananas, atua em primeira instância como uma agente anti-inflamatório, reduzindo as citocinas IL1- $\beta$  e TNF- $\alpha$  e assim a migração de células e exacerbação da ativação do sistema imune. Enquanto a outra fração de PLD, o H6PC20, demonstrou uma melhor eficácia, em primeira instância, na ativação de sistema de reparos do

tecido gástrico ao aumentar níveis de  $PGE_2$  e fator de crescimento endotelial e folicular, além de atuar como um melhor agente antioxidante. Esse estudo norteia a hipótese dos mecanismos acerca dos achados desse presente estudo sobre a atuação da LBG e GMNN de CF como agentes gastroprotetores, que podem estar realizados seus efeitos mediante às suas capacidades gelificantes, formando uma camada protetora sobre a mucosa gástrica, podendo estes estarem atuando ainda na modulação do sistema imune e em última instância como agentes antioxidantes.

## 7. CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos, conclui-se através do modelo de gastrite aguda alcoólica o efeito gastroprotetor da galactomanana derivada das sementes de alfarroba, a Locust Bean Gum, e da galactomanana derivada do endosperma de Cassia Fistula, ao reduzirem aspectos lesivos, hemorrágicos, inflamatórios e parâmetros de estresse oxidativo, quando avaliados os níveis de MDA. Contudo, existem divergências entre as ações realizadas por esses dois polissacarídeos que podem estar além das semelhanças na composição de manose entre essas, necessitando assim de um estudo estrutural que possibilite identificar o componente diferencial entre esses heteropolissacarídeos.

**Figura 14:** Modelo hipotético referente a gastroproteção da Locust Bean Gum e galactomanana de Cassia Fistula frente a ação patológica do etanol.



Fonte: próprio autor.

## 8. REFERÊNCIAS

- AIHARA, E. et al. Involvement of prostaglandin E receptor EP3 subtype in duodenal bicarbonate secretion in rats. **Life Sciences**, v. 80, p. 2446-2453, 2007;
- AL-JIBOURY, H.; KAUNITZ, J.D. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 28, n. 6, p. 594–601, 2012;
- BARAK, S.; MUDGIL, D. Locust bean gum: processing, properties and food applications.:a review. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 66, p. 74-80, maio 2014;
- BARAK, S.; MUDGIL, D. Locust bean gum: processing, properties and food applications a review. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 66, p. 74-80, maio 2014;
- BERNE, R. M. et al. **Fisiologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009;
- BHAKTA T. Studies on in vivo wound healing activity of Cassia fistula Linn. leaves (Leguminosae) in rats. *Nat Prod Sci*; v.4, p.84–87, 1998;
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH/SUS) de março de 2016 a outubro de 2021**, 2022. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>>. Acesso em: 20 mar. 2022.
- BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 12. ed. United States of America: Mc Graw-Hill Companies, Inc., 2012;
- CANTU-JUNGLES, T. M. Polysaccharides from prunes: gastroprotective activity and structural elucidation of bioactive pectins. **Food Chemistry**, v. 146, p. 492-499, mar. 2014;
- CARVALHO, A. S. T. Úlcera péptica. **Jornal de Pediatria**, v. 76, p. 127-134, 2000;
- CHEN, W. Pre-protective effect of polysaccharides purified from *Herichium erinaceus* against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 159, p. 948-956, set. 2020;
- COSGROVE, D. J. Growth of the plant cell wall. **Nature reviews molecular cell biology**, 6(11): 850-861. 2005;
- DANI, R.; PASSOS, M. C. F. **Gastroenterologia essencial**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011;

- DEJBAN, P. et al. Involvement of nitric oxide pathway in the anti-inflammatory effect of modafinil on indomethacin-, stress-, and ethanol -induced gastric mucosal injury in rat, **European Journal of Pharmacology**, v. 887, p. 173579, 2020;
- DONG, M. H.; KAUNITZ, J. D. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 22, n. 6, p. 599–606, 2006;
- ECKL, P. M.; BRESGEN, N. Genotoxicity of lipid oxidation compounds. *Free Radical Biology & Medicine*, 2017;
- ELLIS, H. Anatomy of the stomach. **Surgery**, v. 29, n.11, p.541-543, 2001;
- ELSEWEIDY M.M. Brief Review on the Causes, Diagnosis and Therapeutic Treatment of Gastritis Disease. **Alternative and Integrative Medicine**. 2017;
- FONESKA, A.; KAUNITZ, J. D. Gastroduodenal mucosal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 26, p. 604-610, 2010;
- GASCHLER, M.; STOCKWELL, B. R. Lipid peroxidation in cell death Michael Biochemical and Biophysical **Research Communications**, v. 482, p. 419-425, 2017;
- GRENHA, A.; DIONISIO, M. Locust bean gum: exploring its potential for biopharmaceutical applications. **Journal Of Pharmacy And Bioallied Sciences**, v. 4, n. 3, p. 175, 2012;
- HAM, M; KAUNITZ, J. D. Gastroduodenal defense. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 23, n. 6, p. 607-616, 2007;
- HUNT, R. H. et al. The stomach in health and disease. **Gut**, v. 64, n. 10, p. 1650-1668, 4 set. 2015;
- KALANTARI, H. et al. Protective effect of Cassia fistula fruit extract against bromobenzeneinduced liver injury in mice. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, n. 8, p. 1039-1044, 7 out. 2010;
- KATO, S. et al. High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. **International journal of cancer**, v. 119, n. 7, p. 1558-1566, jul. 2006;
- KATO, Sosuke et al. High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in Helicobacter pylori-infected Mongolian gerbils associated with a shift in

- mucin production from glandular to surface mucous cells. **International journal of cancer**, v. 119, n. 7, p. 1558-1566, jul. 2006;
- KIM, TAE-HEE; SHIVDASANI, R.A. Stomach development, stem cells and disease. **Development**. v. 143, n. 4, p. 554-565, 15 fev. 2016;
- LAINE, L.; TAKEUCHI, K.; TARNAW. A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: Bench to bedside. **Gastroenterology**, v. 135, n. 1, p. 41-60, 2008;
- LAPA, F. da R. et al. Gastroprotective activity of the hydroalcoholic extract obtained from *Polygala paniculate* L. in rats. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, v. 59, n. 10, p. 1413-1419, out. 2007;
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Principos de bioquímica**. 4 ed. Sao Paulo: Sarvier, p. 1202, 2006;
- LI, G. et al. A New Participant in the Pathogenesis of Alcoholic Gastritis: pyroptosis. **Cellular Physiology And Biochemistry**, v. 49, n. 1, p. 406-418, 2018;
- LI, Q. et al. Kaempferol protects ethanol-induced gastric ulcers in mice via pro-inflammatory cytokines and NO. **Acta Biochimica Et Biophysica Sinica**, v. 50, n. 3, p. 246-253, 3 fev. 2018;
- LI, Wei-Feng. et al. Protective effect of chelerythrine against ethanol-induced gastric ulcer in mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 208, p. 18-27, fev. 2014;
- LI, Wei-Sung. et al. The Gastroprotective Effect of Naringenin against Ethanol-Induced Gastric Ulcers in Mice through Inhibiting Oxidative and Inflammatory Responses. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 22, n. 21, p. 11985, 5 nov. 2021;
- LIAN, Y. Z. Gastroprotective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides and C-phycoyanin in rats with ethanol-induced gastric ulcer. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 1519-1528, dez. 2020;
- LIMA V.P; SILVA I.J.F; SANTOS K.K.S. Prevalence of *Helicobacter pylori* genotypes (*vacA*, *cagA*, *cagE* and *virB11*) in gastric cancer in Brazilian's patients: an association with histopathological parameters. **Can Epidemiol** 35: e32-37. 2011;
- LIMA, C. G. **EXTRAÇÃO DA GALACTOMANANA POR DIFERENTES MÉTODOS E CARACTERIZAÇÃO DAS VAGENS DE ALGARROBA (*Prosopis juliflora*)** 46f.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2015;

LIMA, M. R. et al. Dietas Modificadas: Planejamento, Cálculo e Adequação Estudo de Caso: Gastrite Aguda. Minas Gerais: rev. unisepe. V. 1. Pp. 1- 3, 2011;

LU, S. Gastric acid-response chitosan/alginate/tilapia collagen peptide composite hydrogel: protection effects on alcohol-induced gastric mucosal injury. **Carbohydrate Polymers**, v. 277, p. 118816, fev. 2022;

LUANGWATTANANUN, P. et al. Impact of reactive oxygen species generation on *Helicobacter pylori*-related extragastric diseases: a hypothesis. **Journal of Biotechnology**, v. 247, p. 50-59, 2017;

LUNDBERG, J. O.; WEITZBERG, E.; GLADWIN, M. T. The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 7, n. 2, p. 156-67, 2008;

LUXIMON-RAMMA A. et al. Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. **J Agric Food Chem**, v50, p.5042–5047. 2002;

MAITY, P. et al. Smoking and the pathogenesis of gastroduodenal ulcer – recent mechanistic update. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 253, p. 329-338, 2003;

MANJEGOWDA, S. B.; RAJAGOPAL, H. M.; DHARMESH, S. M., Polysaccharide of Black cumin (*Nigella sativa*) modulates molecular signaling cascade of gastric ulcer pathogenesis, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 823–836, 2017.

MARQUES, F. D. C. J. et al. Galactomannan from the seeds of *Caesalpinia pulcherrima* prevents indomethacin-induced gastrointestinal damage via neutrophil migration. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 141, p. 68-75, dez. 2019;

MASTERS, S. B. PhD. Os Álcoois. In: KATZUNG, Bertram G. Farmacologia Básica & Clínica. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 23, p. 309-318. 2005;

MEDEIROS, J. R. **Efeito gastroprotetor do sildenafil (viagra®) na lesão gástrica induzida por álcool em ratos: papel do óxido nítrico, do cGMP e dos canais de potássio sensíveis**



ao ATP 2006. 121 f. Dissertação (Mestre em Farmacologia) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2006;

MEDEIROS, J. R. **Efeitos Gastroprotetor e Procinético do Sulfeto de Hidrogênio (H<sub>2</sub>S) em Camundongos - Papel dos Neurônios Aferentes Sensíveis à Capsaicina, Receptores de Vanilóides do tipo 1 (TRPV1) e Canais de K ATP-Dependentes (KATP)**. 2009. 122 f. Tese (Doutor em Farmacologia) – Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2009.

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, jan. 2008;

MEDEIROS, Jand Venes R. et al. Hydrogen sulfide prevents ethanol-induced gastric damage in mice: role of ATP-sensitive potassium channels and capsaicin-sensitive primary afferent neurons. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 330, n. 3, p. 764-770, set. 2009;

MELO, M. A. **Fisiologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008;

MONTEIRO, C.E.S. et al. LASSBio-596 protects gastric mucosa against the development of ethanolinduced gastric lesions in mice, **Eur J Pharmacol**, v.15, p.863-172662, Nov 2019;

NAM, Hyeon Hwa; CHOO, Byung Kil, *Geranium koreanum*, a medicinal plant *Geranii Herba*, ameliorate the gastric mucosal injury in gastritis-induced mice, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 265, p. 113041, 2021;

NASCIMENTO, R. M. D. Utilização da algaroba (*prosopis juliflora*) como plataforma para a obtenção de bionanocompósito. 2014. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014;

NICOLAU, L. D. **EFEITO ESOFAGOPROTETOR DE UM BIOPOLÍMERO, A GOMA DO CAJUEIRO, NA DOENÇA DO REFLUXO NÃO-EROSIVA EM MURINOS E EM BIÓPSIAS ESOFÁGICAS HUMANAS: PERFIL ANTI-INFLAMATÓRIO E EFEITO TÓPICO**. 117f. Tese (Doutorado em farmacologia) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2018;

NIKI, E. Do antioxidants impair signaling by reactive oxygen species and lipid oxidation products? **FEBS Letters**, v. 586, p. 3767–3770, 2012;

NISHIDA, T.; TSUJII, M.; TSUJII, S. Are COX-2 inhibitors truly able to prevent NSAIDs-associated ulcers? **Nippon Rinsho**, v. 62, p. 561–565, 2004;

NISHIO, H.; HAYASHI, Y.; TERASHIMA, S.; TAKEUCHI, K. Role of endogenous nitric oxide in mucosal defense of inflamed rat stomach following iodoacetamide treatment. **Life Sciences**, v. 79, p. 1523–1530, 2006;

OATES, P. J.; HAKKINEN, J. P. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. **Gastroenterology**, v. 94, n. 1, p. 10–21, jan. 1988;

PANTOJA, P. S. **Fração polissacarídica hidrossolúvel da casca de *Ximenia americana* apresenta efeito gastroprotetor com inibição da migração de neutrófilos em modelo de lesão gástrica induzida por indometacina em camundongos**. 2015. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Fisiológicas) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2015;

PARSONS, B. N. et al. Comparison of the human gastric microbiota in hypochlorhydric states arising as a result of *Helicobacter pylori*-induced atrophic gastritis, autoimmune atrophic gastritis and proton pump inhibitor use. **PLOS Pathogens**, San Francisco, v. 13, n. 11, p. e1006653, nov. 2017;

PINTO, A. S. B. **EFEITO GASTROPROTETOR DA GOMA GUAR (*Cyamopsis tetragonolobus*) E GALACTOMANANA DA FAVA DANTA (*Dimorphandra gardneriana*) NA GASTRITE EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ÁLCOOL** 115f. Tese (Doutorado em Ciências Morfofuncionais) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2018;

PRAJAPATI, V. D. et al. Galactomannan: a versatile biodegradable seed polysaccharide. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 60, p. 83-92, set. 2013.

RAMSAY, P. T. CARR, A. et al. Gastric Acid and Digestive Physiology. **Surgical Clinics Of North America**, v. 91, n. 5, p. 977-982, out. 2011;

RIBASKI, J. Algaroba (*Prosopis juliflora*): Arvore de uso múltiplo para a região semiárida brasileira. Paraná: Colombo, 2009.

ROCHA, B. S.; LUNDBERG, J. O.; RADI R.; LARANJINHA J. Role of nitrite, urate and pepsin in the gastroprotective effects of saliva. **Redox Biology**, v. 8, p. 407-414, 2016;

ROCHA, N. F. M. et al. Gastroprotection of - a-bisabolol on acute gastric mucosal lesions in mice: the possible involved pharmacological mechanisms. **Fundamental & Clinical Pharmacology**, Franca, v. 24, p. 63-71, 2009;

SCHUBERT, M. L. Gastric secretion. **Current Opinion in Gastroenterology**, v. 26, n. 6, p. 598–603, nov. 2010;

SCHUBERT, M. L.; PEURA, D. A. control of gastric acid secretion in health and disease. **Gastroenterology**, v. 134, p. 1842-1860, 2008;

SELMİ, 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. 38-55, 14 ago. 2017;

SIERRA, D. et al. Pediatric Gastritis, Gastropathy, and Peptic Ulcer Disease. **Pediatrics In Review**, v. 39, n. 11, p. 542-549, 1 nov. 2018;

SILVA, A. P.A.; CORRADI, G. A.; ZAMBERLAN, P. **Manual de Dietas hospitalares em Pediatria: Guia de Conduta Nutricional**. São Paulo: Atheneu, 2006;

SILVA, L. M. D. et al. Promising alternative gum: extraction, characterization, and oxidation of the galactomannan of cassia fistula. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 436-444, dez. 2020;

SILVA, L. M. da. et al. Promising alternative gum: extraction, characterization, and oxidation of the galactomannan of cassia fistula. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 165, p. 436-444, dez. 2020;

SILVA, L. M. **GALACTOMANANA DE SEMENTES DE Cassia fistula: EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E MODIFICAÇÃO. UM POTÊNCIAL SUBSTITUÍANTE DA GALACTOMANANA DA Locusta Bean** 91f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2012;

SINGH, V.; KUMAR, P.; SANGHI, R. Use of microwave irradiation in the grafting modification of the polysaccharides—A review. *Progress in Polymer Science*, v.37, p.340-364. 2012;

SOYBEL, D.I. Anatomy and Physiology of the Stomach. **Surgical Clinics Of North America**, v. 85, n. 5, p. 875-894, out. 2005;

SQUIRE, J. M. et al. Quantitative MUC5AC and MUC6 mucin estimations in gastric mucus by a least-squares minimization method. **Analytical Biochemistry**, v. 439, n. 2, p. 204-211, 2013;

SULEYMAN, H. et al. Different Mechanisms in Formation and Prevention of Indomethacin-induced Gastric Ulcers. **Inflammation**, v. 33, n. 4, p. 224-234, 2010;

SWEIS, R. et al. Post-prandial reflux suppression by a raft-forming alginate (Gaviscon Advance) compared to a simple antacid documented by magnetic resonance imaging and pH-impedance monitoring: mechanistic assessment in healthy volunteers and randomised, controlled, double-blind study in reflux patients. *Aliment Pharmacol Ther.*, n.37, p.1093–1102, 2013;

TARNAWSKI, A. S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 50, n. 1, p. S24–S33, 2005;

TARNAWSKI, A. S. Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 50, n. 1, p. S24–S33, 2005;

VIANA, A. F. S. C. et al. **EFEITO GASTROPROTETOR E CICATRIZANTE DO (-)-MIRTENOL**. 158 f. Tese (Doutorado em farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017;

WALLACE, J. L. Prostaglandins, NSAIDs, and Gastric Mucosal Protection: Why Doesn't the Stomach Digest Itself? *Physiological Reviews*, v. 88, n. 4, p. 1547- 1565, 2008;

WALLACE, J. L.; MA, L. Inflammatory mediators in gastrointestinal defense and injury. **Exp. Biol. Med.**v. 226, n. 11, p. 1003-1015, 2001;

WEYDERT, C. J.; CULLEN, J. J. Measurement of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. **Nature Protocols**, v. 5, n. 1, p. 51-66, 2010.

WEYDERT, C. J.; CULLEN, J. J. Measurement of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nature Protocols*, v. 5, n. 1, p. 51-66, 2010;

WHO: World Health Organization. “The WHO STEP wise approach to surveillance of non-communicable diseases (STEPS),” in *Non-Communicable Diseases and Mental Health*. 2003;

XU, C. A polysaccharide from Aloe vera L. var. chinensis (Haw.) Berger prevents damage to human gastric epithelial cells in vitro and to rat gastric mucosa in vivo. **Journal Of Functional Foods**, v. 24, p. 501-512, jun. 2016;

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, set. 2019.

## ANEXOS

## ANEXO A: TERMO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA E USO DE ANIMAIS (CEUA).



UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ

Comissão de Ética no  
Uso de Animais

## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DO EFEITO PROTETOR GASTRODUODENAL DAS GALACTOMANANA LOCUST BEAN (*Ceratonia siliqua* L.) & CÁSSIA FISTULA NO MODELO DE GASTRITE ÁGUDA EXPERIMENTAL INDUZIDO POR ÁLCOOL E INDOMETACINA", protocolada sob o CEUA nº 7669171221 (ID 002114), sob a responsabilidade de **Pedro Marcos Gomes Soares e equipe; Paulo Roberto Pavão Freire** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) na reunião de 25/02/2022.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE GASTRODUODENAL PROTECTIVE EFFECT OF GALACTOMANANA LOCUST BEAN (*Ceratonia siliqua* L.) & CASSIA FISTULA IN THE EXPERIMENTAL GASTRITIS MODEL INDUCED BY ALCOHOL AND INDOMETACIN", utilizing 456 Heterogenics mice (456 males), protocol number CEUA 7669171221 (ID 002114), under the responsibility of **Pedro Marcos Gomes Soares and team; Paulo Roberto Pavão Freire** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) in the meeting of 02/25/2022.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa \(Acadêmica\)](#)

Vigência da Proposta: de [01/2021](#) a [01/2024](#) Área: [Departamento de Morfologia](#)

Origem: [Biotério Central da UFC](#)

Espécie: [Camundongos heterogênicos](#)

sexo: [Machos](#)

idade: [6 a 8 semanas](#)

N: [456](#)

Linhagem: [Swiss](#)

Peso: [20 a 25 g](#)

Local do experimento: Todos os experimentos serão realizados no Laboratório de Físio-Farmacologia Gastrointestinal (LEFFAG) da UFC, no qual possui toda estrutura e materiais necessários para a realização dos experimentos.

Fortaleza, 29 de março de 2022

Prof. Dra. Camila Ferreira Roncari  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará

Prof. Dra. Karuza Maria Alves Pereira  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal do Ceará