

4.05.99 - Nutrição.

EFEITOS DO ÓLEO DA AMÊNDOA DA *Bactris setosa* Mart. NO CONSUMO ALIMENTAR, GANHO DE PESO E MARCADORES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE CAMUNDONGOS SWISS

Luane Aparecida do Amaral¹, Tainá da Silva Fleming de Almeida², Gabriel Henrique Oliveira de Souza³, Andressa Carolina Farias Pereira Subtil Cavalcante⁴, Felipe Francisco Bittencourt Junior⁵, Thiago Troquez⁶, Antonio Carlos Duenhas Monreal⁷, Rodrigo Juliano Oliveira⁸, Elisvânia Freitas dos Santos⁹

1. Doutoranda no Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)
2. Graduanda em Nutrição. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)
3. Graduando em Alimentos Tecnológico. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)
4. Graduada em Nutrição. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)
5. Mestre em Recursos Naturais pela Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS). Docente do Curso de Biomedicina no Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN)
6. Graduado pela Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN). Docente do Curso de Biomedicina no Centro Universitário da Grande Dourados (UNIGRAN).
7. Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Docente do Departamento de Morfofisiologia. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).
8. Doutor em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Docente do Curso de Pós Graduação Em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).
9. Doutora em Ciências da Cirurgia pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Docente do Curso de Nutrição. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Resumo

Bactris setosa Mart., popularmente conhecida como tucum, contém uma amêndoa rica em lipídios que pode contribuir de forma significativa na nutrição e saúde humana. Este estudo teve como objetivo avaliar o perfil toxicológico do óleo da amêndoa de tucum (OATP), por meio do teste de toxicidade subaguda. Foram utilizados 50 camundongos Swiss (25 machos e 25 fêmeas), distribuídos em cinco grupos: controle, 250, 500, 1000 mg / kg de OATP e um grupo satélite que recebeu a dose de 1000mg/kg e foi observado por mais 14 dias. Os animais receberam por gavagem o óleo durante 28 dias, nesse período foi aferido o consumo alimentar e peso dos animais. No último dia de experimento os animais foram anestesiados e realizado a coleta de sangue para determinação do perfil hematológico e bioquímico. As doses testadas não produziram alterações significativas no consumo alimentar, ganho de peso e nos parâmetros hematológicos e bioquímicos dos animais expostos. Estes resultados demonstram a ausência de toxicidade subaguda após administração do óleo da amêndoa de tucum em camundongos. No entanto, mais estudos pré-clínicos são necessários.

Autorização legal: Comitê de Ética no Uso de Animal da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, parecer nº 893/2017.

Palavras-chave: Pantanal; Fruto nativo; Perfil toxicológico.

Apoio financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Introdução

Uma variedade de produtos naturais, seja como alimento funcional ou composto isolado extraído de plantas, têm sido utilizados na prevenção e tratamento de doenças. Além disso, o uso popular de plantas, atribui o termo natural ao produto que não causa malefícios a saúde, acarretando a necessidade de testar essas plantas ou alimentos quanto ao seu perfil toxicológico (OLIVEIRA et al., 2011; EKOR, 2013).

Dentre os frutos encontrados no Pantanal destaca-se a *Bactris setosa* Mart., uma palmeira nativa que cresce perto de pântanos e locais úmidos, popularmente conhecida como tucum, que produz um fruto cor vermelha escura ou púrpura com uma única amêndoa (DUARTE et al., 2012; BOEING et al., 2017).

Estudos com a amêndoa de tucum, são escassos, e nenhum estudo foi conduzido para avaliar os efeitos toxicológicos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o perfil toxicológico do óleo extraído da amêndoa de tucum após exposição repetida por 28 dias (toxicidade subaguda).

Metodologia

Os frutos de tucum foram coletados em maturação completa na Base de Estudos do Pantanal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) (18°34'35,6"S e 57°01'05,6"W). A planta foi identificada e a exsiccata e está depositada no herbário da UFMS sob o número CGMS 48441 e Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) A23EE4B.

Foi triturada a amêndoa e a farinha da amêndoa de tucum foi submetida à extração contínua de óleo até a exaustão da amostra com solvente hexano PA (Vetec®) (1:3 p/v). O produto foi filtrado e concentrado para

remoção do solvente a 40°C em evaporador rotativo (Fisatom® 802) e posteriormente levado a capela de exaustão (Permutation®) para evaporação total do solvente (LIMA et al., 2017).

Foram utilizados 50 camundongos (*Mus musculus*) da espécie Swiss (25 fêmeas e 25 machos), entre 8-12 semanas de idade (30 gramas±20%), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno recobertas com maravalha. A luminosidade e temperatura foram controladas (12 horas de claro: 12 horas de escuro) com temperatura mantendo-se em torno de 22°C e umidade 55%. A alimentação foi constituída de água filtrada e ração comercial (Nuvilab®), *ad libitum*. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animal da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul sob o parecer nº 893/2017.

Foram realizados estudos de toxicidade subaguda baseados na OCDE (Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico) e Diretriz 407 (OECD, 2008). Os animais foram distribuídos em cinco grupos (n=10 animais/grupo, 5 machos e 5 fêmeas). Três doses diferentes de óleo da amêndoa de tucum (OATP) foram estabelecidas de acordo com a DL50 obtida no teste de toxicidade aguda: Grupo OATP 250 mg/kg; Grupo OATP 500 mg/kg e grupo OATP 1000 mg/kg. Todas as doses de OATP foram administradas por gavagem, diariamente, durante 28 dias consecutivos. O grupo controle (grupo controle negativo) recebeu apenas o veículo (óleo de milho). Para avaliar a reversibilidade, persistência ou atraso na ocorrência de efeitos tóxicos relacionados à administração de OATP foi estabelecido um grupo satélite que recebeu a dose 1000mg/kg por 28 dias e permaneceu em observação por mais 14 dias (OECD, 2008).

Durante o tratamento foram avaliados peso corporal e consumo alimentar a cada dois dias e parâmetros comportamentais diariamente (triagem hipocrática). No dia da eutanásia os animais foram anestesiados (via inalatória) com isoflurano e em seguida foi realizada a coleta de sangue a partir da cavidade retro-orbital, depois foram submetidos a overdose de anestésico para eutanásia.

Os seguintes parâmetros bioquímicos foram analisados: colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeos, glicose, marcadores da função hepática (alanina aminotransferase - ALT, aspartato aminotransferase - AST), renal (ureia) e perfil proteico (albumina e proteína total) usando Cobas C111 por meio de kits comerciais (Roche), que utilizam espectrofotometria. As análises hematológicas foram efetuadas com a unidade de automação KX-21 (Sysmex) e revisadas em lâmina através de contagem diferencial (leucócitos) e observação de morfologia/coloração celular (todos os tipos celulares).

Os resultados foram expressos como média ± Erro Padrão da Média (EPM). As diferenças entre os grupos foram determinadas por análise de variância (ANOVA de uma via) seguida do teste de Dunnett. Valores de $p < 0,05$ foram definidos como o nível de significância.

Resultados e Discussão

Os resultados do ganho de peso e ingestão alimentar são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Ganho de peso corporal e ingestão alimentar de camundongos submetidos ao teste de toxicidade subaguda de óleo da amêndoa de tucum (*Bactris setosa* Mart.)

Parâmetros	Controle	250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg	Satélite
<i>Fêmeas</i>					
Peso inicial (g)	30,70±0,77	30,42±0,70	31,00±1,23	30,00±0,83	30,67±1,42
Peso final (g)	28,90±2,92	29,53±1,90	30,13±1,44	29,65±1,92	32,83±1,48
Ganho de peso corporal (%)	-4,88±10,91	-2,60±6,56	-1,50±7,06	-1,64±4,35	7,23±4,22
Ingestão de alimentos (g/dia)	5,17±0,31	4,17±0,29	4,39±0,28	4,25±0,24	4,55±0,28
<i>Machos</i>					
Peso inicial (g)	32,63±3,65	39,90±1,37	39,60±2,83	40,13±0,83	39,50±3,34
Peso final (g)	29,58±0,60	27,28±0,77	30,72±0,71	28,15±1,07	40,50±3,10
Ganho de peso corporal (%)	-6,75±8,12	-31,46±2,07	-20,97±5,67	-29,80±2,58	2,80±1,94
Ingestão de alimentos (g/dia)	3,94±0,20	3,74±0,55	3,82±0,18	4,43±0,72	5,44±0,76

Valores expressos em média ± erro padrão da média. * indica diferença do grupo em relação ao grupo controle pelo teste Anova-Dunnett.

Os animais tratados com o OATP não mostraram alterações no consumo alimentar e ganho de peso, porém observa-se que os grupos tratados perderam mais peso que o controle nos machos, sugerindo que o OATP possa ser usado no tratamento da obesidade (Tabela 1).

Os parâmetros bioquímicos demonstrados na Tabela 2 são importantes para investigar possíveis alterações nos órgãos e tecidos, especificamente, efeitos nos rins e fígado (LI et al., 2010).

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos de camundongos submetidos aos testes de toxicidade aguda e subaguda do óleo da amêndoa de tucum (*Bactris setosa* Mart.)

Parâmetros	Controle	250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg	Satélite
<i>Fêmeas</i>					

Aspartato aminotransferase (U/L)	113,50±53,94	89,74±9,25	67,40±7,76	73,68±17,84	66,70±7,35
Alanina aminotransferase (U/L)	81,00±34,11	43,72±2,37	37,96±5,51	39,65±6,10	47,53±8,01
Proteína total (g/dL)	57,43±1,39	61,53±4,70	53,62±8,23	50,77±8,23	47,43±1,12
Albumina (g/dL)	40,99±0,89	43,36±4,18	37,46±7,41	36,12±7,66	45,41±0,83
Ureiasérica (mg/dL)	39,88±1,13	31,09±2,40	20,25±4,25	82,44±48,17*	40,97±9,81
Glicose (mg/dL)	266,40±75,91	298,60±35,91	187,90±33,36	168,70±38,10	148,7±5,41
Colesterol (mg/dL)	107,70±1,94	98,65±14,05	86,20±16,40	110,50±18,49	90,93±7,37
HDL colesterol (mg/dL)	93,22±3,93	91,24±11,02	82,11±18,04	100,40±15,21	76,25±6,14
Triglicerídeos (mg/dL)	215,20±15,12	168,00±17,66	206,00±26,11	164,10±25,62	135,30±11,58
<i>Machos</i>					
Aspartato aminotransferase (U/L)	94,23±11,10	76,04±5,99	98,30±5,79	93,60±7,33	70,70±4,98
Alanina aminotransferase (U/L)	37,17±2,83	49,24±14,01	34,15±3,23	48,30±10,34	35,23±2,97
Proteína total (g/dL)	50,45±2,44	55,24±1,02	54,48±2,02	55,53±3,98	39,65±5,65
Albumina (g/dL)	35,08±1,01	36,59±0,81	35,25±0,58	34,73±2,46	26,96±4,02
Ureiasérica (mg/dL)	53,80±2,32	38,90±2,51	35,53±3,64*	44,93±1,74	43,33±7,07
Glicose (mg/dL)	139,10±36,86	155,70±17,75	175,7±24,22	130,70±20,47	178,60±26,51
Colesterol (mg/dL)	153,06±16,61	153,00±14,38	156,90±11,08	159,50±11,10	87,50±10,55*
HDL colesterol (mg/dL)	146,40±16,14	150,40±13,81	154,50±8,88	154,50±11,08	70,93±22,37*
Triglicerídeos (mg/dL)	184,20±10,28	150,10±20,13	110,80±12,06*	109,30±9,97*	65,60±16,63*

Valores expressos em média ± erro padrão da média. * indica diferença do grupo em relação ao grupo controle pelo teste Anova-Dunnett.

Nas fêmeas todos os parâmetros foram estatisticamente iguais, exceto, a ureia no grupo OATP 500mg/kg. No entanto, a diferença observada está dentro da faixa normal para as espécies (LIMA, 2018).

Em camundongos machos, os parâmetros bioquímicos que diferiram estatisticamente foram ureia (OATP 500mg/kg), colesterol (OATP satélite), HDL (OATP satélite) e triglicerídeos (OATP 500 e 1000mg/kg e satélite). No entanto, as diferenças observadas não são biologicamente significativas para os camundongos tratados com o OATP, uma vez que as diferenças bioquímicas observadas não são constantes entre ambos os sexos e em todos as doses, além disso, os valores estão dentro do normal para as espécies (TRAESSEL et al., 2016; BRANQUINHO et al., 2017).

Neste estudo é possível detectar um nível mais baixo de triglicerídeos no soro de camundongos que receberam o OATP, essa redução pode sugerir que o tucum possa ter ação no tratamento da hipertrigliceridemia, dessa forma, sugere-se que novos estudos experimentais que mimetizem a dislipidemia sejam realizados a fim de elucidar esse possível papel do OATP.

Os parâmetros hematológicos são relevantes e sensíveis a substâncias tóxicas, permitindo avaliar o estado patológico (LI et al., 2010) e estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros hematológicos de camundongos submetidos aos testes de toxicidade aguda e subaguda do óleo da amêndoa de tucum (*Bactrissetosa* Mart.)

Parâmetros	Controle	250 mg/kg	500 mg/kg	1000 mg/kg	Satélite
<i>Fêmeas</i>					
Leucócitos (10 ³ /μL)	6,37±0,85	4,92±0,97	5,98±0,60	5,90±0,44	4,83±2,00
Eritrócitos (10 ⁶ /μL)	5,63±0,31	4,42±0,22	5,50±0,73	4,87±0,14	5,42±0,71
Hemoglobina (g/dL)	9,47±0,43	7,54±0,47	8,98±1,22	8,05±0,26	10,27±1,73
Hematócrito (%)	30,58±1,48	24,08±1,36	29,40±4,16	25,20±0,70	27,70±4,21
Plaquetas (10 ³ /μL)	647,80±47,59	416,80±64,18	591,00±188,00	649,50±27,87	396,7±134,2
Neutrófilos (%)	8,17±1,26	10,40±0,24*	13,48±2,30	9,75±0,63	11,03±0,82
Linfócitos (%)	88,00±1,78	86,64±0,70	82,98±2,51	85,63±0,69	83,63±1,00
Monócitos (%)	2,75±0,48	2,24±0,58	2,52±0,44	3,75±0,63	4,33±0,33
Eosinófilos (%)	1,07±0,31	0,72±0,12	1,02±0,02	0,87±0,17	1,00±0,00
Basófilos (%)	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
<i>Machos</i>					
Leucócitos (10 ³ /μL)	3,72±0,64	5,98±0,65*	3,22±0,47	3,65±0,35	6,45±0,41*
Eritrócitos (10 ⁶ /μL)	7,86±0,98	7,77±1,19	8,17±0,58	7,40±0,64	8,00±0,20
Hemoglobina (g/dL)	9,45±1,27	11,34±0,41	11,02±0,28	10,68±0,88	11,70±0,29
Hematócrito (%)	39,80±4,49	39,12±1,19	42,22±3,27	36,88±3,24	41,03±1,07
Plaquetas (10 ³ /μL)	1044,00±4,49	827,80±1,19	756,30±3,27	803,80±3,24	676,30±1,06
Neutrófilos (%)	34,05±10,88	23,68±4,02	18,03±4,90	27,46±4,70	18,90±4,60
Linfócitos (%)	64,10±11,22	72,72±3,92	77,70±4,08	65,98±5,10	77,60±5,06
Monócitos (%)	3,32±1,11	2,60±0,51	2,50±0,50	1,75±0,48	2,50±0,50
Eosinófilos (%)	1,02±0,39	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00
Basófilos (%)	2,50±2,50	0,00±0,00	0,00±0,00	2,50±2,50	0,00±0,00

Valores expressos em média ± erro padrão da média. * indica diferença do grupo em relação ao grupo controle pelo teste Anova-Dunnett.

Nas fêmeas os neutrófilos dos animais que foram tratados com OATP 250mg/kg foram estatisticamente diferentes do controle. Nos camundongos machos os leucócitos (OATP 250mg/kg e satélite) apresentaram diferenças estatísticas. No entanto, todos os valores estão dentro da faixa normal para as espécies (SANTOS et al., 2016; BRANQUINHO et al., 2017).

Conclusões

Não existe estudos sobre o perfil toxicológico do OATP, o presente estudo é o primeiro e não foram observados sinais de toxicidade, uma vez que não causou qualquer letalidade, assim como nenhuma alteração nos parâmetros avaliados. Isto sugere a utilização segura da amêndoa e instiga a realização de estudos específicos, seja no desenvolvimento de produtos alimentares ou aplicações farmacêuticas.

Referências bibliográficas

- BOEING, J. S., et al. Chemical characterization and protective effect of the *Bactris setosa* Mart. Fruit against oxidative/nitrosative stress. **Food Chemistry**, v.1, n.220, p.427-437, 2017.
- BRANQUINHO, L. S., et al. Anti-inflammatory and toxicological evaluation of essential oil from *Piper glabratum* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v.198, n.1, p.372–378, 2017.
- DUARTE, A. Y. S., et al. Ethnobotany of Natural Fibres – *Bactris setosa* (tucum) in a Traditional Rural Community. **Fibres & Textiles in Eastern Europe**, v.20,n.2, p.18-20, 2012.
- EKOR, M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. **Frontiers in Pharmacology**, v.4, p.177, 2013.
- LI, X.; et al. Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v.131, p.110–115, 2010.
- LIMA, F. F., et al. Acute and subacute oral toxicity assessment of the oil extracted from *Attalea phalerata* Mart ex Spreng. pulp fruit in rats. **Food Research International**, v.91, n.1, p.11-17, 2017.
- LIMA, F.E.G. **Perfil bioquímico e hematológico de ratos e camundongos do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará**. 2018. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.
- OECD. **Guidelines for testing of chemical. Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents**. OECD (Ed.): Paris, 2008.
- OLIVEIRA, A.K.M., et al. Ethnobotany and traditional medicine of the inhabitants of the Pantanal negro sub-region and the raizeiros of Miranda and Aquidauna, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.71, p.283-289, 2011.
- SANTOS, E. W., et al., 2016. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.53, n.2, p.138-145, 2016.
- TRAESEL, G. K., et al. Oral acute and subchronic toxicity studies of the oil extracted from pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.) pulp in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.97 p.224-231, 2016.