

EFEITOS DO CONSUMO DE AMENDOIM RICO EM ÁCIDO GRAXO OLEICO COMPARADO AO AMENDOIM CONVENCIONAL SOBRE A HISTOLOGIA DO EPITÉLIO INTESTINAL DE RATOS WISTARI

Danielli Carvalho de Oliveira², Luzia Maria Pinheiro da Silva³, Antônio José Natali⁴, Neuza Maria Brunoro Costa⁵, Eliene da Silva Martins Viana⁶, João Paulo Machado⁷, Raquel Duarte Moreira Alves⁸

Resumo^a: *O amendoim tem sido muito estudado por apresentar um perfil lipídico que exerce efeitos benéficos à saúde. É recente a inclusão de cultivares de amendoim rico em ácido graxo oleico na alimentação. Com isso, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos do consumo de amendoim convencional e rico em ácido graxo oleico sobre a histologia do epitélio intestinal de ratos Wistar. Foram utilizados quinze ratos machos da linhagem Wistar. Os animais foram distribuídos em grupos experimentais após atingirem 21 semanas de vida, sendo 5 animais por grupo. A dieta foi oferecida ad libitum durante 10 semanas da seguinte maneira: grupo 1: dieta controle (sem amendoim); grupo 2: dieta contendo amendoim convencional; e grupo 3: dieta contendo amendoim alto oleico. Após a eutanásia, coletou-se o intestino de cada animal e lâminas histológicas foram preparadas e analisadas. Com relação à histologia das células intestinais, não houve diferença entre grupos quanto aos parâmetros analisados. Concluiu-se que nenhum dos tratamentos provocou alterações no epitélio intestinal dos animais, sendo sugeridos estudos relacionando a atividade imunológica intestinal e os ácidos graxos presentes no amendoim rico em ácido graxo oleico.*

1 Parte do Trabalho de Iniciação Científica do primeiro autor;

2Graduanda em Nutrição- FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail: danielli-dco@hotmail.com

3Graduanda em Nutrição – FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail: luziapinheirosilva@gmail.com

4Professor do curso de Educação Física – Universidade Federal de Viçosa. e-mail: anatali@ufv.br

5 Professora do curso de Nutrição – Universidade Federal do Espírito Santo. e-mail: neuzambc@gmail.com

6 Professora do curso de Nutrição- FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail:elieneavs@yahoo.com.br

7 Professoro do curso de Medicina Veterinária- FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail:jpmvet@gmail.com

8 Orientadora, Professora do curso de Nutrição- FACISA/UNIVIÇOSA. e-mail: raqueldmalves@gmail.com

Palavras-chave: *Oleaginosa, intestino, saúde.*

Abstract: *Peanut has been a food widely studied due to its nutritional composition, being highlighted its high oleic fatty acid content that has beneficial health effects. It is the recent inclusion of rich peanut cultivars in oleic fatty acid in food. In this sense, the present study aimed to analyze the effects of conventional peanut consumption and rich in oleic fatty acid on the histology of the intestinal epithelium of Wistar rats. Fifteen male Wistar rats were used. The animals were divided into 3 groups after reaching 21 weeks of life, each group of 5 animals. The diet was offered ad libitum for 10 weeks as follows Group 1: control diet (no peanuts), group 2: conventional diet containing peanuts, and group 3: diet containing high oleic peanuts. After euthanasia, the intestines is collected from each animal and histological sections were prepared and analyzed. Regarding the histology of intestinal cells, there was no difference between groups in terms of the parameters analyzed. It was concluded that none of the treatments caused changes in the intestinal epithelium of the animals, and suggested studies relating the intestinal immune activity and the fatty acids present in peanuts rich in oleic fatty acid.*

Keywords: *Oilseed, gut, health.*

Introdução

Atualmente são discutidos os efeitos fisiológicos de alguns alimentos na redução de riscos de doenças crônicas. O amendoim é uma oleaginosa de alto valor nutritivo com um rico perfil vitamínico e uma grande quantidade de proteínas vegetais (25 a 30 % de sua composição). Assim como outras oleaginosas (nozes, castanhas, amêndoas, avelãs, dentre outros), o amendoim é um alimento que apresenta alto teor de ácidos graxos insaturados (ácido oleico, ácido linoleico e ácido alfa-linolênico) e baixo teor de ácidos graxos saturados. O amendoim também é uma ótima fonte de fibra dietética, vitaminas antioxidantes, minerais (selênio, magnésio e manganês) e fitoquímicos como o resveratrol, além da arginina (CRUZ, 2006).

Considerando as pesquisas as quais sugerem que parte dos benefícios à saúde que o amendoim pode promover estão relacionados ao seu elevado

teor de ácidos graxos monoinsaturados (AGMI) e poli-insaturados, bem como ao fato de que o ácido oleico reduz a peroxidação lipídica durante o armazenamento dos grãos, atualmente, há um grande interesse em se estudar e produzir cultivares de amendoim com elevado conteúdo de ácido graxo oleico. Até o momento, são poucos os estudos encontrados com a avaliação dos efeitos da ingestão de amendoim rico em ácido graxo oleico (ALVES et al., 2014^a). Recentemente verificou-se em um experimento com seres humanos que os efeitos desse cultivar sobre o metabolismo foram promissores (ALVES et al., 2014a; ALVES et al., 2014b). Entretanto, devido ao alto grau de invasão para análise de células intestinais, os efeitos desse amendoim sobre o epitélio intestinal ainda não foram estudados. Diante do exposto, justificou-se comparar os efeitos de uma dieta contendo amendoim alto-oleico com o amendoim convencional sobre a histologia do epitélio intestinal em ratos Wistar.

Material e Métodos

Dietas

Foram preparados 3 tipos de dieta: controle sem amendoim, contendo amendoim convencional e contendo amendoim alto-oleico. A composição das dietas e o teor de proteínas foram estabelecidos com base nas recomendações da AIN-93G do American Institute of Nutrition (REEVES et al., 1993). As dietas contendo amendoim apresentavam 10% de seu peso em amendoim (100g de amendoim para cada quilo de dieta); dessa maneira, as dietas foram ajustadas de forma que praticamente 100% dos lipídeos fossem provenientes de ácidos graxos fornecidos pelos amendoins. Ademais, em função do elevado teor de fibras alimentares e proteínas presente nos amendoins, esses elementos foram levados em consideração para a formulação das dietas. Todos os ingredientes foram pesados em balança semianalítica, misturados manualmente e, em seguida, as misturas foram homogeneizadas em batedeira industrial por 15 minutos. Após o preparo, foram acondicionadas em sacos de polietileno, devidamente rotulados e armazenados em refrigerador. A análise dos amendoins quanto aos teores de umidade, lipídeos totais e cinzas foram realizadas seguindo a recomendação do Instituto Adolfo Lutz (1985).

Ensaio Biológico

Quinze ratos (*Rattus norvegicus*) machos da linhagem Wistar, com seis semanas de vida, foram obtidos no Biotério do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os animais foram alojados coletivamente em caixas (5 ratos por caixa), para os quais foram oferecidas ração comercial e água ad libitum até que os animais atingissem 21 semanas de vida e, então, fossem distribuídos nos grupos experimentais. Os animais foram divididos em 3 grupos, com 5 animais cada, com o cuidado de que a diferença da média dos pesos dos animais entre os grupos não excedesse 15g. A dieta foi oferecida ad libitum durante 10 semanas em que os ratos foram mantidos em gaiolas individuais de aço inoxidável, em ambiente com temperatura controlada a 22 °C e ciclo de claro e escuro de 12 horas controlado automaticamente. A água filtrada foi oferecida ad libitum. Os animais permaneceram em jejum de 12 horas antes da eutanásia, que ocorreu por anestesia por inalação de gás em câmara com isoflurano 3% e oxigênio 100%, em fluxo constante de 1L/minuto, seguido por deslocamento da cervical.

O ensaio biológico ocorreu no Laboratório de Biologia do Exercício do Departamento de Educação Física da UFV. Todos os procedimentos adotados foram realizados em consonância com os princípios éticos, sendo o protocolo revisado e aprovado pela Comissão de ética no uso de animais da UFV (Protocolo 67/14).

Histologia di epitélio intestinal

Após a eutanásia, os intestinos delgado e grosso foram retirados. Cortes transversais nos mesmos foram realizados de modo a facilitar a penetração da substância fixadora (formaldeído a 10% tamponada). Após a fixação (no mínimo 48 horas), os órgãos foram colocados em diferentes concentrações de álcool, ficando em cada uma por 30 minutos até chegar à concentração de 70%, sendo, então, reservados e enviados ao Laboratório de Histologia da UNIVIÇOSA, onde foram preparadas as laminas histológicas de acordo com protocolo padrão.

As análises histológicas foram realizadas no Laboratório de Microscopia da UNIVIÇOSA. Foram utilizados cortes transversais e longitudinais, sendo observados os seguintes parâmetros: perda do glicocálix; integridade das

células colunares; degeneração das células colunares; hiperplasia de células caliciformes; hipertrofia de células caliciformes; degeneração de células caliciformes; atrofia das vilosidades intestinais; integridade das vilosidades intestinais; inflamação das vilosidades intestinais; hiperplasia das Glândulas de Bruner; degeneração das Glândulas de Bruner; inflamação das Glândulas de Bruner; edema de submucosa e hiperemia de submucosa. Para tanto, foi utilizado microscópio óptico, sob a lente objetiva de 4x, no qual primeiramente era observado o corte como um todo e a presença de alteração em algum ponto do tecido. Sendo identificada a alteração, esta era observada sob lente objetiva de 10x e 40x para confirmação do diagnóstico. Essas análises foram realizadas por 3 observadores, sendo os resultados tabulados em planilha do Excel para posterior análise estatística. Para essa análise, utilizou-se o programa Sigma Plot (11.0), por meio do teste de ANOVA seguido do teste de Tukey, ou de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn, adotando-se o nível de significância de 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Quinze ratos machos da linhagem Wistar com 148 ± 3 dias de vida foram incluídos no estudo. Ao final do experimento, com intervenção dietética de 70 dias, os animais apresentavam 219 ± 3 dias de vida. A média de ingestão alimentar diária não diferiu entre os grupos ($p > 0,05$) e foi de $18,8 \pm 1,8$ g. Os ratos apresentaram peso médio $390,3 \pm 46,3$ g ao final do experimento, sem diferença entre os grupos ($P > 0,05$).

Com relação à histologia das células intestinais, não houve diferença entre grupos quanto ao grau de alterações na perda de glicocálix ($P = 0,516$), integridade de células colunares ($P = 0,544$), degeneração de células colunares ($P = 0,265$), hiperplasia de células caliciformes ($P = 0,335$), degeneração das células caliciformes ($P = 0,368$), atrofia das vilosidades ($P = 0,291$), integridade das vilosidades ($P = 0,315$), inflamação das vilosidades ($P = 0,641$), hiperplasia das glândulas de Bruner ($P = 0,556$), degeneração das glândulas de Bruner ($P = 0,581$), inflamação das glândulas de Bruner ($P = 0,459$), edema na submucosa ($P = 0,368$), hiperemia na submucosa ($P = 0,116$) e inflamação na submucosa ($P = 0,235$). A hipertrofia de forma leve das células caliciformes foi mais

frequente em WAO comparado ao WCT ($P = 0,039$).

Apesar de não haver significância estatística entre os grupos nos parâmetros analisados, pode-se verificar que, em cada um deles, houve maior frequência de animais com ausência de alterações, o que significa que a ingestão de amendoim convencional e amendoim rico em ácido graxo oleico não provocaram alteração estrutural das células intestinais, confirmando resultado já encontrado por outros autores de que os AGMI apresentam efeito protetor à integridade do epitélio intestinal.

Quanto aos parâmetros de inflamação nas vilosidades intestinais, Glândulas de Bruner e submucosa, verificou-se maior frequência do grau leve em todos os grupos. Isto pode estar relacionado à própria fisiologia do intestino, uma vez que a atividade das células imunológicas é aumentada devido ao conteúdo que recebe diariamente proveniente da alimentação, além da própria colonização bacteriana comum neste órgão que exerce diversas funções na proteção do organismo contra qualquer patologia de origem bacteriana (GREDEL, 2011).

Considerações Finais

No presente estudo, foi possível verificar que a ingestão do amendoim convencional e do amendoim rico em ácido graxo oleico não provocaram qualquer alteração significativa na estrutura do intestino.

Uma vez que a gordura da dieta apresenta diversas funções e implicações no funcionamento do organismo, em especial do sistema imune, e o fato de que o órgão estudado apresenta alta atividade imunológica, isto nos leva a outro campo de estudo, em que poderia ser observada a atuação dos ácidos graxos presentes no amendoim rico em ácido graxo oleico sobre parâmetros imunológicos e inflamatórios.

Referências Bibliográficas

ALVES, R. D. M. et al. (A) Regular intake of high-oleic peanuts improves fat oxidation and body composition in overweight/obese men pursuing a energy-restricted diet. *Obesity* (Silver Spring) , n. Article first published online: 27

mar 2014.

ALVES, R. D. M. et al. (B) High-Oleic Peanuts: New Perspective to Attenuate Glucose Homeostasis Disruption and Inflammation Related Obesity. Obesity (Silver Spring). Article first published online: 9 jun 2014.

CRUZ, A.C.R.F. Balanço energético em indivíduos saudáveis após consumo de grão, pasta, farinha ou óleo de amendoim. 117f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição) Pós-graduação em Ciência da Nutrição, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2006.

GREDEL, S. Nutrição e imunidade no homem. International Life Sciences Institute, 2. ed. 2011. Disponível em: < <http://www.ilsa.org/Europe/Documents/Nutri%C3%A7%C3%A3o%20e%20Imunidade%20no%20Homem%20-%20Site.pdf>>.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 3.ed. São Paulo, v.1, 533p, 1985 1985.

REEVES, P. G. et al. AIN-93 - Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. Journal of Nutrition , v. 123, n. 11, p. 1939-51, 1993.