

IZABELA MARIA MONTEZANO DE CARVALHO

COMPOSIÇÃO E EFEITO DA CASTANHA DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess.) NOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, HISTOLÓGICOS E INFLAMATÓRIOS EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETA DE CAFETERIA

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Bioquímica Agrícola, para obtenção
do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2013

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

C331c
2013

Carvalho, Izabela Maria Montezano de, 1983-
Composição e efeito da castanha de sapucaia
(*Lecythis pisonis* Cambess.) nos parâmetros bioquímicos,
histológicos e inflamatórios em ratos alimentados com a dieta
de cafeteria / Izabela Maria Montezano de Carvalho. – Viçosa,
MG, 2013.
x, 106 f. : il. ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: José Humberto de Queiroz.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Compostos bioativos. 2. Metabolismo. 3. Inflamação.
4. *Lecythis pisonis* - Composição. I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular.
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola.
II. Título.

CDD 22. ed. 572.4

IZABELA MARIA MONTEZANO DE CARVALHO

COMPOSIÇÃO E EFEITO DA CASTANHA DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess.) NOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS, HISTOLÓGICOS E INFLAMATÓRIOS EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETA DE CAFETERIA.

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Bioquímica Agrícola, para obtenção
do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 18 de junho de 2013

Agostinho Lopes de Souza

Neuza Maria Brunoro Costa

Andréa de Oliveira Barros Ribon
(Coorientadora)

Sônia Machado Rocha Ribeiro
(Coorientadora)

José Humberto de Queiroz
(Orientador)

SUMÁRIO

Lista de Quadros	iv
Lista de Tabelas	iv
Lista de Figuras	vi
Resumo	vii
Abstract	ix
Introdução Geral	1
Referências Bibliográficas	4
Capítulo 1: O consumo de castanhas pode reduzir o risco de processos inflamatórios e doenças crônicas	6
Resumo	7
Abstract	8
1. Introdução	9
2. Marcadores moleculares associados a processos inflamatórios	10
3. Relação entre o consumo de castanhas e o processo inflamatório ..	16
4. Considerações finais	24
5. Referências	25
Capítulo 2: Caracterização química da castanha de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.) da região da zona da mata mineira	33
Resumo	34
Abstract	35
Introdução	36
Material e Métodos	37
Resultados e Discussão	39
Conclusão	44
Referências Bibliográficas	46
Capítulo 3: Efeito da suplementação com castanha de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.) nos parâmetros bioquímicos sanguíneos e histológicos em ratos alimentados com dieta de cafeteria	50
Resumo	51
1. Introdução	52
2. Materiais e Métodos	54

3. Resultados	59
4. Discussão	69
5. Conclusão	73
6. Referências Bibliográficas	75
Capítulo 4: Efeito da castanha de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.) na modulação da expressão dos marcadores inflamatórios adiponectina e fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) no tecido adiposo de ratos alimentados com dieta de cafeteria	82
Resumo	83
1. Introdução	84
2. Materiais e Métodos	87
3. Resultados	91
4. Discussão	94
5. Conclusão	97
6. Referências Bibliográficas	99
Considerações Finais	105
ANEXO I - Certificado do Comitê de Ética	106

LISTA DE QUAROS

Capítulo 1

Quadro 1: Relação entre a utilização de castanhas e marcadores inflamatórios	17
--	----

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1: Composição de castanhas e sementes comestíveis por 100g	22
--	----

Capítulo 2

Tabela 1: Composição centesimal e valor calórico de amêndoas de <i>Lecythis pisonis</i> Cambess. (sapucaia)	39
Tabela 2: Composição centesimal dos principais ácidos graxos de amêndoas de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.) expressa em p/p (%)	40
Tabela 3: Teores de minerais em amêndoas de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.)	42
Tabela 4: Perfil aminoacídico de amêndoas de sapucaia (<i>Lecythis pisonis</i> Cambess.)	43

Capítulo 3

Tabela 1: Tempos de tratamentos, grupos experimentais e tratamentos ...	54
Tabela 2: Composição das dietas AIN-93G e AIN-93G acrescida de castanha de sapucaia	56
Tabela 3: Composição das dietas de Cafeteria e Cafeteria acrescida de castanha de sapucaia	57
Tabela 4: Pesos e consumos de dietas de ratos Wistar tratados com dietas AIN-93G e cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia durante 1 semana	59
Tabela 5: Pesos e consumos de dietas de ratos Wistar tratados com dietas AIN-93G e cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia durante 2 semanas	59

Tabela 6: Pesos e consumos de dietas de ratos Wistar tratados com dietas AIN-93G e cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia durante 3 semanas	59
Tabela 7: Pesos e consumos de dietas de ratos Wistar tratados com dietas AIN-93G e cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia durante 4 semanas	60
Tabela 8: Concentrações séricas de glicose (mg/dL), colesterol total (mg/dL), HDL colesterol (mg/dL) e triacilgliceróis (mg/dL) dos grupos (G) de animais que consumiram, durante 4 semanas, dietas normal e de cafeteria, com e sem castanha de sapucaia	61
Tabela 9: Histomorfometria percentual (média ± desvio padrão da média) de elementos do parênquima lobular (hepatócitos com e sem depósitos de lipídios, sinusóides) de fígado de ratos alimentados durante 4 semanas com dietas AIN-93G e de cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia	66

Capítulo 4

Tabela 1: Tempos de tratamentos, grupos experimentais e tratamentos ...	87
Tabela 2: Composição das dietas AIN-93G e AIN-93G acrescida de castanha de sapucaia	88
Tabela 3: Composição das dietas de Cafeteria e Cafeteria acrescida de castanha de sapucaia	89
Tabela 4: Média ± desvio-padrão da expressão gênica de adiponectina e TNF- α em valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$ em ratos que consumiram, durante 4 semanas, dietas normal e de cafeteria, com e sem castanha de sapucaia	92

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1: Mecanismos desempenhados por componentes de castanhas que podem estar envolvidos na redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis. Adaptado de Casas-Agustench *et al.*, 2009 23

Capítulo 3

Figura 1: Evolução das concentrações plasmáticas dos parâmetros bioquímicos glicose (A), colesterol total (B), HDL-colesterol (C) e triacilgliceróis (D), em ratos tratados com dieta AIN-93G (G1); Dieta AIN-93G + castanha de sapucaia (G2); Dieta de cafeteria (G3); dieta de cafeteria + castanha de sapucaia (G4) 62

Figura 2: Tecidos hepáticos de animais tratados com dieta AIN-93G (G1) e dieta AIN-93G + castanha de sapucaia (G2) durante 4 semanas (T1, T2, T3 e T4). Setas indicam hepatócitos normais (1) e sinusóides (2). Aumento de 200X – HE 64

Figura 3: Tecidos hepáticos de animais tratados com dieta de cafeteria (G3) e dieta de cafeteria + castanha de sapucaia (G4) durante 4 semanas (T1, T2, T3 e T4). Setas indicam hepatócitos normais (1), sinusóides (2) e hepatócitos com depósito de lipídios (3). Aumento de 200X – HE 65

Figura 4: Evolução dos parâmetros histomorfométricos hepáticos de ratos tratados com diferente dietas (A), hepatócitos com depósito de lipídios (B), e sinusóides (C) dieta AIN-93G (G1), dieta AIN-93G + castanha de sapucaia (G2); dieta de cafeteria (G3); dieta de cafeteria + castanha de sapucaia (G4) 68

Capítulo 4

Figura 1: Expressão gênica de adiponectina (A) e TNF- α (B) em valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$ em ratos ao longo de 4 semanas. (G1) dieta AIN-93G; (G2) dieta AIN-93G + castanha de sapucaia; (G3) dieta de cafeteria; (G4) dieta de cafeteria + castanha de sapucaia 94

RESUMO

CARVALHO, Izabela Maria Montezano, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2013. **Composição e efeito da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) nos parâmetros bioquímicos, histológicos e inflamatórios em ratos alimentados com dieta de cafeteria.** Orientador: José Humberto de Queiroz. Coorientadores: Andréa de Oliveira Barros Ribon, João Paulo Viana Leite, Sônia Machado Rocha Ribeiro.

As castanhas têm recebido atenção especial, pois são fontes naturais de vitaminas, minerais, proteínas e ácidos graxos essenciais, podendo assim contribuir para a dieta humana e de animais. Pesquisas recentes confirmam que esses alimentos são fontes ainda de compostos bioativos, os quais podem trazer benefícios significativos à saúde humana. O presente trabalho teve como objetivos: avaliar a composição química de castanhas da espécie sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) coletadas na região sudeste do estado de Minas Gerais (lipídios, proteínas, carboidratos, cinzas e umidade), teor de minerais por espectrometria de plasma e perfil lipídico por cromatografia gasosa; avaliar o efeito do consumo da castanha de sapucaia no metabolismo de ratos alimentados com dieta normal (AIN-93G) e dieta de cafeteria, durante quatro semanas, através da análise de parâmetros bioquímicos séricos (glicose, colesterol total, lipoproteína de alta densidade ligada ao colesterol – HDL-colesterol e triacilgliceróis), avaliação histomorfométrica do tecido hepático (acúmulo de lipídios), e avaliação da expressão gênica dos marcadores inflamatórios adiponectina e fator de necrose tumoral alfa. Na análise da composição química da castanha de sapucaia, foram encontrados 54,8% de lipídios; 26,82% de proteínas; 5,01% de carboidratos; 3,17% de cinzas e 10,2% de umidade. O perfil lipídico revelou 43,1% de ácidos graxos polinsaturados, 41,7% de ácidos graxos monoinsaturados e 15,2% de ácidos graxos saturados. Os minerais que se destacaram pelos elevados teores foram fósforo, magnésio e manganês, revelando 941; 343 e 4,8 mg.100⁻¹, respectivamente. Em relação ao experimento animal, a adição de castanha de sapucaia à dieta normal não provocou alterações significativas nos parâmetros bioquímicos e histológicos avaliados. Por outro lado, a expressão dos genes avaliada nestes grupos revelou alterações significativas, com aumento da expressão gênica de

adiponectina e redução da expressão gênica de TNF- α após 4 semanas de experimento nos grupos que receberam castanha de sapucaia. Os grupos que tratados com dieta de cafeteria apresentaram aumento das concentrações séricas de glicose e colesterol total, com redução do HDL-colesterol. Além disso, a dieta de cafeteria levou ao acúmulo significativo de lipídios no tecido hepático. A adição de castanha de sapucaia à dieta de cafeteria não modificou o padrão de acúmulo lipídico no fígado dos animais, mas, em relação aos parâmetros bioquímicos, houve redução das concentrações da glicose e do colesterol sanguíneos, enquanto o HDL-colesterol foi aumentado. Finalmente, a adição da castanha de sapucaia à dieta de cafeteria aumentou significativamente a expressão gênica de adiponectina no tecido adiposo dos ratos.

ABSTRACT

CARVALHO, Izabela Maria Montezano, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2013. **Composition and effect of sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess.) consumption in biochemical parameters, histological and inflammatory in rats fed cafeteria diet.** Adviser: José Humberto de Queiroz. Co-advisers: Andréa de Oliveira Barros Ribon, João Paulo Viana Leite, Sônia Machado Rocha Ribeiro.

Currently the chestnuts have received special attention because they are natural sources of vitamins, minerals, proteins and essential fatty acids, and thus can contribute to the diet of humans and animals. Recent research confirms that these foods are also sources of bioactive compounds, which can bring significant benefits to human health. This study aimed to: assess the chemical composition of the species of sapucaia nuts (*Lecythis pisonis* Cambess.) collected in the southeastern state of Minas Gerais, through the centesimal composition (lipids, proteins, carbohydrates, ash and moisture) mineral content by plasma spectrometry and lipid profile by gas chromatography; evaluate the effect of sapucaia nut consumption on metabolism in rats fed with a normal diet (AIN-93G) and cafeteria diet for four weeks, by analysis of biochemical parameters serum (glucose, total cholesterol, high density lipoprotein linked to cholesterol - HDL-cholesterol and triglycerides), histomorphometric evaluation of liver tissue (fat accumulation), and assessment of gene expression of inflammatory markers adiponectin and tumor necrosis factor alpha. The analysis of the chemical composition of sapucaia nut founds 54.8% lipids, 26.82% protein, 5.01% carbohydrate, 3.17% ash and 10.2% moisture. The lipid profile revealed 43.1% of polyunsaturated fatty acids, 41.7% monounsaturated fatty acids and 15.2% saturated fatty acids. The minerals that were stressed by high levels were phosphorus, magnesium and manganese, revealing 941, 343 mg.100-1 and 4.8, respectively. Regarding the animal experiment, the addition of sapucaia nuts in the normal diet had no significant effect on biochemical and histological parameters evaluated. On the other hand, the expression of the genes evaluated in these groups revealed significant changes with increased gene expression of adiponectin and decreased gene expression of TNF- α after 4 weeks of the experiment in groups receiving

sapucaia nut. The groups treated with cafeteria diet showed increased serum concentrations of glucose and total cholesterol with low HDL-cholesterol. In addition, the cafeteria diet led to significant accumulation of lipids in liver tissue. The addition of the nut sapucaia cafeteria diet did not alter the pattern of lipid accumulation in the liver of animals, but in relation to biochemical parameters decreased concentrations of blood glucose and cholesterol, while HDL-cholesterol was increased. Finally, the addition of sapucaia nuts in the cafeteria diet significantly increased the gene expression of adiponectin in adipose tissue of rats.

Introdução Geral

Alguns hábitos de vida da população ocidental moderna, como o consumo de alimentos industrializados, sedentarismo, estresse e baixo consumo de alimentos vegetais, podem favorecer alterações metabólicas envolvidas na gênese das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), muitas consideradas problemas de saúde pública. Entre estas patologias estão as doenças cardiovasculares, a obesidade, as dislipidemias, o diabetes, a síndrome metabólica e alguns tipos de câncer. O desenvolvimento das DCNTs é decorrente do desequilíbrio entre agressões constantes ao organismo e a capacidade do mesmo em se defender, o que pode resultar em processos inflamatórios (Bakker et al., 2010).

O processo inflamatório é um conjunto de alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas do organismo em resposta a estímulos exógenos. A inflamação aguda ocorre imediatamente após a agressão e caracteriza-se por aumento no fluxo sanguíneo e permeabilidade vascular, recrutamento de leucócitos no local da lesão e início da liberação dos mediadores inflamatórios. Caso o estímulo à inflamação seja continuado, desenvolve-se o que se chama de inflamação crônica, caracterizada por resposta imune celular e resposta humoral específica, sendo muitas vezes um processo assintomático que se inicia de maneira silenciosa (Kumar et al., 2004; Bulló et al., 2007).

A resposta inflamatória promove, de um lado, o aumento da síntese de diversas moléculas com ação pro-inflamatória, como interleucinas 6 (IL-6), 1 β (IL-1 β) e 18 (IL-18), fator de necrose tumoral α (TNF- α), proteína C reativa (PCR) e moléculas de adesão solúveis, e de outro, a redução de substâncias com propriedades anti-inflamatórias, como interleucina 10 (IL-10) e adiponectina (Bastos et al., 2009; Volp et al., 2008).

Sabe-se que o aumento das concentrações plasmáticas de IL-6 e PCR está associado à resistência insulínica, ao diabetes tipo 2 e a desordens cardiovasculares (Lopes, 2007). O TNF- α está envolvido na

gênese da resistência insulínica e consequentemente, ao diabetes, uma vez que esta molécula inibe a fosforilação dos receptores insulínicos, impedindo assim a captação da glicose pela célula. Observam-se níveis séricos aumentados de TNF- α em indivíduos obesos (Hivert et al., 2010). A IL-1 β pode estimular a produção de IL-6 em células musculares lisas e está positivamente relacionada à progressão de doenças cardiovasculares, enquanto a IL-18 pode induzir à secreção de IL-6, TNF- α , IL-1 β e das moléculas de adesão endotelial ICAM-1 e VCAM-1, moléculas envolvidas diretamente na gênese e progressão de DCNTs (Francisco et al., 2006). Em relação às citocinas anti-inflamatórias, seu mecanismo de ação parece estar associado à inibição de algumas moléculas pró-inflamatórias e ativação de outras anti-inflamatórias (Choi et al., 2007).

O papel da alimentação na modulação do *status* inflamatório do organismo tem se destacado nos últimos anos. Condutas dietéticas como redução da ingestão de açúcares, colesterol e gorduras saturadas e *trans*, juntamente com o aumento do consumo de alimentos fontes de fibras e substâncias antioxidantes e anti-inflamatórias estão relacionadas à redução na prevalência de DCNTs (Santos et al, 2006).

O efeito do consumo de castanhas sobre os processos inflamatórios vem sendo avaliado em diversos estudos, tanto em modelo animal quanto em estudos com humanos, incluindo diferentes grupos populacionais: pessoas saudáveis, com sobrepeso e obesidade, resistência à insulina e sob risco de doenças cardiovasculares (Casas-Agustench et al., 2009).

Nesse contexto, é crescente o número de pesquisas que utilizam uma abordagem nutrigenômica, isto é, avaliam o efeito do consumo de castanhas sobre a expressão de determinados genes relacionados a proteínas inflamatórias, em diferentes tecidos corporais. Os efeitos benéficos das castanhas são atribuídos principalmente à ação sinérgica de seus ácidos graxos e conteúdo de compostos bioativos (Ros, 2009; Casas-Agustench et al., 2010). No entanto, a maioria dos trabalhos que avaliam o efeito do consumo de castanhas na saúde é realizada com castanhas exóticas, como nozes e amêndoas.

O Brasil é reconhecido mundialmente pela sua biodiversidade vegetal, a qual possui centenas de espécies que fornecem castanhas comestíveis. Apesar disso, o número de estudos sobre estas castanhas nativas ainda é muito pequeno, resumindo-se na maioria das vezes, às castanhas de caju e castanha-do-brasil. Nesse contexto, o presente estudo propõe estudar a castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.), uma castanha ainda pouco conhecida, oriunda de regiões de Floresta Pluvial Atlântica, pertencentes ao bioma Mata Atlântica, um dos mais ameaçados pela degradação humana. O trabalho engloba a avaliação bromatológica desta castanha e o estudo dos efeitos do seu consumo no metabolismo animal. Serão avaliados os efeitos no metabolismo lipídico e nos processos inflamatórios relacionados com a gênese de doenças crônicas e da expressão dos genes pro e anti inflamatórios: TNF- α e adiponectina.

Referências bibliográficas:

Bakker, GCM; Erk, MJ; Pellis, L; Wopereis, S; Rubingh, CM; Cnubben, NHP, Kooistra, T; Ommen, B; Hendriks, HFJ. An anti-inflammatory dietary mix modulates inflammation and oxidative and metabolic stress in overweight men: a nutrigenomics approach. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.91, p.1044–59, 2010.

Bastos, DHM; Rogero, MM; Areas, JAG. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.53, p.53-55, 2009.

Bulló, M; Casas-Agustench, P; Amigó-Correig, P; Aranceta, J; Salas-Salvadó, J. Inflammation, obesity and comorbidities: the role of diet. **Public Health Nutrition**, v.10, n.10A, p.1164–1172, 2007.

Casas-Agustench, P; López-Uriarte, P; Bulló, M; Ros, E; Cabré-Vila, JJ; Salas-Salvadó, J. Effects of one serving of mixed nuts on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease**, v.21, n.12, p.126-135, 2009.

Casas-Agustench, P; Bulló, M; Salas-Salvadó, J. Nuts, inflammation and insulin resistance. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.19, n.1, p.124-130, 2010.

Choi, KM; Ryu, OH; Lee, KW; Kim, HY Seo; JA; Kim, SG; Kim, NH; Choi, DS; Baik, SH. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. **Diabetes Research Clinical Practice**, v.75, n.2, p.235-240, 2007.

Francisco, G; Hernández, C; Simó, R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipidemia. **Clinical Chemical Acta**, v.369, n.1, p.1-16, 2006.

Hivert, MF; Sullivanc, LM; Shraderb, P; Fox, CS; Nathana, DM; D'agostino, RB; Wilsonh, PWF; Benjamind, EJ; Meigsa, JB. The association of tumor necrosis factor α receptor 2 and tumor necrosis factor α with insulin resistance and the influence of adipose tissue biomarkers in humans. **Metabolism Clinical and Experimental**, v.59, p.540–546, 2010.

Kumar, R; Clermont, G; Vodovotz, Y; Chow, CC. The dynamics of acute inflammation. **Journal of Theoretical Biology**, v.230, p.145-55, 2004.

Lopes, HF. Hipertensão e inflamação: papel da obesidade. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.14, n.4, p.239-244, 2007.

Ros, E. Nuts and novel biomarkers os cardiovascular disease. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.89, n.5, p.1649-56, 2009.

Santos, CRB; Portella, ES; Avila, SS; Soares, EA. Fatores dietéticos na prevenção e tratamento de comorbidades associados à síndrome metabólica. **Revista de Nutrição**, v.19, n.3, p.389-401, 2006.

Volp, ACP.; Alfenas; RCG.; Costa; NMB.; Minim; V.P.R.; Stringueta, P.C.; Bressan, J. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em predizer a síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.52, n.3, p.537-549, 2008

**O CONSUMO DE CASTANHAS PODE REDUZIR O RISCO DE
PROCESSOS INFLAMATÓRIOS E DOENÇAS CRÔNICAS**

(Artigo publicado e nas normas da Revista Enciclopédia Biosfera,
30/11/2012)

O CONSUMO DE CASTANHAS PODE REDUZIR O RISCO DE PROCESSOS INFLAMATÓRIOS E DOENÇAS CRÔNICAS

Izabela Maria Montezano de Carvalho¹; Larissa Froede Brito¹; Renata Celi Lopes Toledo¹; Agostinho Lopes de Souza²; José Humberto de Queiroz^{3*}

- 1.Doutoranda em Bioquímica Agrícola, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil
- 2.Professor do Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa
- 3.Professor do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa (jqueiroz@ufv.br)

RESUMO

A importância da alimentação é inquestionável na manutenção do bom estado de saúde e na redução do risco das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), que muitas vezes resultam de processos inflamatórios crônicos. Estudos epidemiológicos mostram que o aumento no consumo de alimentos ricos em vitaminas, minerais, fibras e pobres em gorduras saturadas, gorduras *trans*, açúcares simples e sódio influencia positivamente a saúde. Além desses nutrientes, uma nova classe de substâncias presente nos alimentos vem se destacando pelos seus efeitos benéficos sobre a saúde: os compostos bioativos, presentes principalmente em alimentos de origem vegetal. Nesse contexto, o presente trabalho destaca as castanhas, alimentos ricos em macronutrientes como lipídios e proteínas, e importantes fontes de compostos bioativos, como substâncias antioxidantes e anti-inflamatórias. Vale destacar em relação às castanhas a biodisponibilidade de seus compostos bioativos. Estudos confirmam que seu efeito benéfico é mais pronunciado quando elas são ingeridas integralmente do que quando seus compostos são administrados isoladamente. Esta revisão abordou alguns mecanismos envolvidos no processo inflamatório, sua relação com as DCNT e possíveis interações entre o consumo de castanhas e a modulação dos processos inflamatórios pelos seus compostos bioativos.

PALAVRAS-CHAVE: inflamação, castanhas, compostos bioativos.

NUTS CONSUMPTION CAN REDUCE THE RISK OF INFLAMMATORY PROCESSES AND CHRONIC DISEASES

ABSTRACT

The importance of food is unquestionable in maintaining of good health and reducing the risk of non transmissible chronic diseases (NTCD), which often result from chronic inflammation. Epidemiological studies show that increased consumption of foods rich in vitamins, minerals, fiber and low in saturated fats, *trans* fats, simple sugars and sodium influences health positively. In addition to these nutrients, a new class of substances present in foods has been highlighted for its beneficial effects on health: the bioactive compounds, mainly present in foods of plant origin. In this context, this work highlights the nuts, foods rich in nutrients such as lipids and proteins, and important sources of bioactive compounds such as antioxidants and anti-inflammatory. It is worth noting in relation to nuts the bioavailability of its bioactive compounds. Studies confirm that its beneficial effect is more pronounced when they are ingested integrally than when compounds are administered alone. This revision addressed some mechanisms involved in the inflammatory process, its relationship with the NTCD and possible interactions between the consumption of nuts and modulating inflammatory processes for their bioactive compounds.

KEYWORDS: inflammation, nuts, bioactive compounds.

1. INTRODUÇÃO

Alguns hábitos de vida da população ocidental moderna, como o consumo de alimentos industrializados, sedentarismo, estresse e baixo consumo de vegetais, podem favorecer alterações metabólicas envolvidas na gênese das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Entre as DCNT estão as doenças cardiovasculares, a obesidade, as dislipidemias, o diabetes, a síndrome metabólica e alguns tipos de câncer (BAKKER *et al.*, 2010).

O processo inflamatório é um conjunto de alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas do organismo em resposta a estímulos exógenos. A inflamação aguda ocorre imediatamente após o estímulo e caracteriza-se por aumento no fluxo sanguíneo e permeabilidade vascular, recrutamento de leucócitos no local da lesão e início da liberação dos mediadores inflamatórios. Caso o estímulo à inflamação seja continuado, desenvolve-se o que se chama de inflamação crônica, caracterizada por resposta imune celular e resposta humoral específica, sendo muitas vezes um processo assintomático que se inicia de maneira silenciosa (KUMAR *et al.*, 2004; BULLÓ *et al.*, 2007).

A resposta inflamatória promove, por um lado, o aumento da síntese de moléculas com ação pro-inflamatória, como a interleucina 6 (IL-6), a interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 18 (IL-18), fator de necrose tumoral α (TNF- α), proteína C reativa (PCR) e moléculas de adesão solúveis, e por outro, promove a redução de substâncias com propriedades anti-inflamatórias, como a interleucina 10 (IL-10) e a adiponectina (BASTOS *et al.*, 2009; VOLP *et al.*, 2008).

Sabe-se que o aumento das concentrações plasmáticas de IL-6 e PCR está associado à ocorrência de resistência insulínica, diabetes *mellitus* tipo 2 e a desordens cardiovasculares (LOPES, 2007). O TNF- α está envolvido na gênese da resistência insulínica e diabetes, uma vez que esta molécula inibe a fosforilação dos receptores insulínicos, impedindo assim a captação da glicose pela célula. Níveis séricos aumentados de TNF- α foram observados em indivíduos obesos (HIVERT *et al.*, 2010). A IL-1 β pode

estimular a produção de IL-6 em células musculares lisas e está positivamente relacionada à progressão de doenças cardiovasculares, enquanto a IL-18 pode induzir à secreção de IL-6, TNF- α , IL-1 β e das moléculas de adesão endotelial ICAM-1 (molécula de adesão intracelular 1) e VCAM-1 (molécula de adesão vascular 1), moléculas envolvidas diretamente na gênese e progressão de DCNTs (FRANCISCO *et al.*, 2006). Em relação as citocinas anti-inflamatórias, o seu mecanismo de ação parece estar associado à inibição de algumas moléculas pró-inflamatórias e ativação de outras anti-inflamatórias (CHOI *et al.*, 2007).

As estratégias adotadas com o objetivo de reduzir o risco das DCNT englobam, entre outras, condutas dietéticas como a redução da ingestão de açúcares, colesterol e gorduras saturadas e *trans*, juntamente com o aumento do consumo de alimentos fontes de fibras e componentes bioativos, como antioxidantes e fitoesteróis, que estão relacionadas à redução na prevalência de DCNT (SANTOS *et al.*, 2006). Entre os alimentos cujo consumo tem sido associado à redução de marcadores inflamatórios, o presente trabalho irá destacar as castanhas.

2. MARCADORES MOLECULARES ASSOCIADOS A PROCESSOS INFLAMATÓRIOS

O processo inflamatório que dá origem às doenças crônicas é caracterizado por uma inflamação constante e de baixo grau, na qual a produção de moléculas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias não está em equilíbrio. Nesse contexto, estas moléculas podem atuar como marcadores do *status* inflamatório do organismo (BAKKER *et al.*, 2010; FRANCISCO *et al.*, 2006).

Considerando a estreita relação destas moléculas com as DCNT, algumas delas serão destacadas quanto aos possíveis mecanismos de ação nestas enfermidades.

2.1. Proteína C reativa (PCR)

A proteína C reativa (PCR) é uma molécula característica de processos inflamatórios agudos, como resposta a infecções, sendo pequenas alterações detectadas em situações de inflamação crônica. Sua síntese ocorre principalmente no fígado, e sua produção é regulada predominantemente pela interleucina 6 (IL-6) e pelo fator de necrose tumoral α (TNF- α). Além da resposta as infecções, suas concentrações também podem aumentar discretamente em resposta a estímulos como tabagismo, infecções crônicas, avanço da idade, obesidade, dislipidemias e diabetes (FRANCISCO *et al.*, 2006; PACKER & SIES, 2008).

Os mecanismos sugeridos pelos quais a PCR está relacionada à gênese de DCNT envolvem: 1) inibição da enzima óxido-nítrico sintase endotelial nas células endoteliais e desestabilização do mRNA desta enzima levando à diminuição da liberação de óxido nítrico (NO); 2) indução da expressão de moléculas de adesão vascular (VCAM-1) e moléculas de adesão intracelular (ICAM-1) pelas células endoteliais; 3) indução de captação de colesterol pelos macrófagos; 4) estímulo aos monócitos à produção de IL-6 e TNF- α por meio da regulação do fator de transcrição nuclear *kappa* B (NF- κ B) (TAYLOR *et al.*, 2005; FRANCISCO *et al.*, 2006).

Para verificar a associação entre níveis plasmáticos de PCR e risco de ocorrência de doença cardiovascular periférica, RIDKER & colaboradores (2001) realizaram um estudo com 280 homens saudáveis entre 40 e 84 anos, durante nove anos. Além da PCR, foram mensurados níveis plasmáticos de LDL colesterol, HDL colesterol, triacilgliceróis, apolipoproteína A, apolipoproteína B-100, homocisteína e fibrinogênio. Entre os parâmetros não lipídicos, a PCR apresentou a melhor correlação com o desenvolvimento da doença cardiovascular periférica.

JUNQUEIRA *et al.*, (2009) avaliaram as concentrações séricas de PCR em homens e mulheres adultos portadores de síndrome metabólica e sugeriram uma forte relação entre concentrações séricas de PCR e acúmulo de gordura visceral.

Em estudo realizado com 245 crianças e adolescentes, entre dois e 19 anos, portadores de obesidade e sobrepeso, e eutróficas, BRASIL *et al.*,

(2007) verificaram uma relação positiva entre concentrações séricas elevadas de PCR e aumento do índice de massa corpórea (IMC).

Apesar de apresentar uma grande eficácia em predizer risco para futuras doenças, a PCR deve ser avaliada com cuidado, uma vez que suas concentrações séricas podem elevar-se transitoriamente por alguns dias após períodos de infecção ou traumas (FRANCISCO *et al.*, 2006).

2.2. Interleucina 6 (IL-6)

A interleucina 6 (IL-6) é uma citocina pleiotrópica com uma ampla variedade de efeitos imunológicos relacionados à inflamação e injúria tecidual. Produzida e secretada por células endoteliais, células musculares lisas, monócitos e macrófagos, esta citocina pode contribuir para o desenvolvimento e progressão de doenças cardiovasculares devido ao seu efeito parácrino, autócrino e endócrino. Os adipócitos também secretam IL-6, sendo responsáveis por cerca de 30% da secreção desta molécula, que ocorrem principalmente no tecido adiposo visceral (VOLP *et al.*, 2008). Esta citocina é mediadora central da resposta inflamatória de fase aguda e a principal citocina pró-coagulante, pois determina a produção e a elevação das concentrações plasmáticas de outras moléculas pró-inflamatórias, em especial a PCR (HERMSDORFF & MONTEIRO; 2004).

RAUCHHAUS *et al.*, (2000) avaliaram a relação entre concentrações séricas de IL-6 e a mortalidade em portadores de insuficiência cardíaca crônica. O estudo acompanhou 152 indivíduos de ambos os sexos por um período de seis anos e concluiu que valores séricos aumentados de IL-6 estão diretamente associados à ocorrência de mortalidade, sugerindo que este parâmetro seja considerado no prognóstico desta condição cardiovascular.

Um estudo com pessoas saudáveis demonstrou que a IL-6 se correlaciona com todos os componentes da síndrome metabólica (SM): hiperglicemia, aumento da circunferência da cintura, hipertrigliceridemia, baixas concentrações séricas de HDL-colesterol, alterações na pressão sistólica/diastólica. Neste estudo, quanto mais componentes da SM os

indivíduos apresentaram, maiores eram as concentrações de IL-6 sérica (HUNG *et al.*, 2005).

2.3. Interleucinas 1 (IL-1)

A família de interleucinas 1 (IL-1) compreende diferentes citocinas pró-inflamatórias que estão intimamente relacionadas às doenças crônicas não transmissíveis. São produzidas por células endoteliais, células musculares lisas, plaquetas ativadas, monócitos e macrófagos. Entre estas citocinas, a interleucina 1 β (IL-1 β) se destaca pois possui um amplo espectro de ação, uma vez que promove a ativação de NF- κ B, fator de transcrição envolvido em vários eventos inflamatórios. Além da ação sobre NF- κ B, IL-1 β estimula a produção de IL-6 por células musculares lisas e aumenta a expressão de fator derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento de fibroblastos (FGF), moléculas associadas à progressão do processo inflamatório nas doenças cardiovasculares (FRANCISCO *et al.*, 2006; LOPES, 2007).

Um estudo realizado com 150 voluntários, incluindo homens e mulheres, revelou uma correlação direta entre a elevação da concentração plasmática de IL-1 β e os aumentos de peso e percentual de gordura corporal. Além disso, os autores testaram a hipótese de ocorrência de polimorfismos no gene que codifica um antagonista de receptor de IL-1, o IL-1Ra. Este antagonista é considerado uma molécula anti-inflamatória e reguladora endógena da inflamação, uma vez que compete pelos mesmos receptores de superfície celular de IL-1. De cinco alelos analisados, observou-se que a frequência do alelo 2 (A2) foi significativamente maior nos indivíduos obesos e nos pré-obesos, em relação ao grupo de peso normal, sugerindo que o A2 deste gene pode ser um importante marcador de risco genético para a ocorrência de doenças crônicas relacionadas à inflamação e obesidade (DI RENZO *et al.*, 2007).

Em outro trabalho mais recente, AHONEN & colaboradores (2010) verificaram que há correlação entre concentrações séricas aumentadas de IL-1 β e a presença de síndrome metabólica.

Outro importante membro da família das IL-1 é a interleucina 18 (IL-18). Produzida por macrófagos, esta citocina pró-inflamatória está envolvida principalmente na gênese de doenças cardiovasculares. Em células endoteliais e células musculares lisas, IL-18 induz à secreção de outras citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-1 β e TNF- α , além das moléculas de adesão endotelial ICAM-1 e VCAM-1 (VOLP *et al.*, 2005). Além disso, a IL-18 pode atuar diretamente na progressão da doença cardiovascular por meio de recrutamento de células T e indução da expressão de metaloproteinases na placa de ateroma. Assim, a IL-18 pode ser considerada como um importante marcador para o risco de ocorrência de doenças cardiovasculares (HUNG *et al.*, 2005; FRANCISCO *et al.*, 2006).

HUNG *et al.*, (2005) avaliaram 960 voluntários sem história clínica pregressa de diabetes e verificaram que elevadas concentrações séricas de IL-18 podem atuar como forte preditora para a ocorrência de síndrome metabólica nestes indivíduos, uma vez que esta citocina se correlacionou diretamente com IMC, circunferência de cintura, trigliceridemia, pressão sanguínea sistólica e diastólica, glicemia de jejum, insulinemia, PCR sérica e IL-6 sérica, e inversamente com o HDL colesterol.

2.4. Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α)

O fator de necrose tumoral- α (TNF- α) é uma citocina multifuncional com atividades biológicas pleiotrópicas. Desempenha um papel importante na cascata de citocinas inflamatórias, como fator estimulador da síntese de IL-6 e IL-1. Secretado por macrófagos, células endoteliais e musculares lisas, adipócitos e células do músculo esquelético, o TNF- α possui ação autócrina, parácrina e endócrina. Particularmente nos adipócitos, esta citocina age inibindo a lipogênese via inibição da expressão das enzimas lipase lipoprotéica (LLP) e da acetil coenzima A sintetase, cumprindo importante papel regulador no acúmulo de gordura no tecido adiposo (HERMSDORFF *et al.*, 2004). O TNF- α atua também na supressão da sinalização da insulina por meio da redução da fosforilação do substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1), o que resulta em redução da síntese e translocação do transportador de glicose (GLUT-4) para a membrana. Além

disso, o TNF- α está envolvido no processo aterogênico, uma vez que participa da migração de monócitos e de sua conversão em macrófagos na parede endotelial através da ativação do NF- κ B, desencadeando alterações inflamatórias na parede vascular, como a expressão de moléculas de adesão na superfície das células endoteliais e das células musculares lisas (BULLÓ *et al.*, 2003; FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2007).

BULLÓ *et al.*, (2003) avaliaram a relação entre a expressão de TNF- α no tecido adiposo visceral e os níveis plasmáticos de IL-6 e PCR em 96 mulheres entre 19 e 25 anos, com IMC entre 19 e 65 kg/m². Os autores sugeriram que a síntese de TNF- α no tecido adiposo leva ao aumento da produção de IL-6 e PCR, contribuindo para a manutenção do estado de inflamação de baixo grau envolvido na progressão da obesidade e de suas co-morbidades associadas.

Em outro trabalho, KERN *et al.*, (2001) verificaram a associação entre a presença de obesidade e presença de resistência à insulina, ao aumento na expressão de TNF- α nos adipócitos.

2.5. Interleucina 10 (IL-10) e Adiponectina

IL-10 e adiponectina são consideradas citocinas anti-inflamatórias.

A IL-10 é uma citocina pleiotrópica produzida por linfócitos, monócitos e macrófagos. Suas propriedades anti-inflamatórias se baseiam na regulação do sistema imune, uma vez que inibe fortemente a expressão e produção de citocinas pró-inflamatórias. Seu efeito anti-inflamatório também pode acontecer por inibição de interações entre células endoteliais e leucocitárias (VOLP *et al.*, 2005; CHOI *et al.*, 2007).

A adiponectina é secretada pelo tecido adiposo e, ao contrário de outras substâncias secretadas por este tecido, age como fator protetor para doenças cardiovasculares por meio de sua ação anti-inflamatória. Os mecanismos pelos quais a adiponectina atua incluem a diminuição da expressão da molécula de adesão vascular VCAM-1 via redução da expressão de TNF- α , diminuindo a quimiotaxia ao macrófago para a formação de células gordurosas e inibindo a sinalização inflamatória do tecido endotelial. Além disso, a adiponectina pode promover o aumento da

sensibilidade à insulina e modulação de NF- κ B. Há uma correlação inversa entre a concentração sérica de adiponectina e: 1) risco de obesidade; 2) resistência à insulina; e 3) doenças cardiovasculares (HERMSDORFF & 2004; FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2007).

CHOI *et al.*, (2007) avaliaram a associação entre IL-10 e adiponectina e a síndrome metabólica em 312 indivíduos com e sem a doença. Foi verificada correlação inversa entre concentrações de IL-10 e de adiponectina e a presença da síndrome.

AHONEN & colaboradores (2010) acompanharam 680 homens e mulheres durante 6,5 anos e verificaram correlação inversa entre as concentrações séricas de adiponectina e de PCR nos indivíduos que desenvolveram síndrome metabólica.

3. RELAÇÃO ENTRE O CONSUMO DE CASTANHAS E O PROCESSO INFLAMATÓRIO

Em vista de sua composição e biodisponibilidade de seus componentes, o efeito do consumo de castanhas nos processos inflamatórios vem sendo avaliado em diversos estudos, tanto em modelo animal quanto em estudos epidemiológicos, transversais e prospectivos com humanos, incluindo diferentes grupos populacionais: pessoas saudáveis, com sobrepeso e obesidade, resistência à insulina e sob risco de doenças cardiovasculares (CASAS-AGUSTENCH *et al.*, 2010). Além de dosagens de marcadores inflamatórios circulantes, cresce o número de pesquisas que utilizam uma abordagem nutrigenômica, isto é, avaliam o efeito do consumo de castanhas sobre a expressão de determinados genes relacionados a proteínas inflamatórias, em diferentes tecidos corporais.

O quadro 1 mostra pesquisas que avaliaram o efeito do consumo de castanhas sobre marcadores moleculares de inflamação, bem como a expressão de alguns genes em resposta a esta intervenção dietética.

QUADRO 1: Relação entre a utilização de castanhas e marcadores inflamatórios.

Amostra	Intervenção ou Observação	Duração	Parâmetros avaliados	Tecido/Local	Metodologia utilizada	Resultados	Referência
50 homens e mulheres com síndrome metabólica	Dieta normocalórica + 30g de castanhas	12 semanas	Capacidade antioxidante do plasma (ORAC); LDLox; dienos conjugados; ICAM-1; VCAM-1; 8-isoprostano	Soro; plasma; urina	ELISA; Espectrofotometria; HPLC; Kits comerciais	↓ ORAC; ↓ LDLox; ↓ VCAM-1; ↓ ICAM-1; ↓ 8-isoprostano;	LÓPES-URIATE <i>et al.</i> , 2010
36 camundongos C57BL/6J	Dieta padrão com 10% de nozes	1 semana	GSH; GSSG; dienos conjugados	Plasma	Espectrofluorimetria; Espectrofotometria	↓ GSH; ↓ GSSG; ↑ dienos conjugados	BULLÓ <i>et al.</i> , 2010
37 homens e mulheres com DM2 ou ≥ 3 fatores de risco para DCV	Dieta do Mediterrâneo suplementada com 15g de nozes + 7,5g de amêndoas + 7,5g de avelã	3 meses	Expressão de genes pró-inflamatórios (MCP-1, COX-1, COX-2); pró-trombóticos (TF, TFPI, e de receptores de lipoproteínas (LRP1, CD36, de LDL)	Monócitos	rtPCR	↑ da expressão de todos os genes avaliados	LLORENTE-CORTÉS <i>et al.</i> , 2010
32 homens saudáveis	Dieta do Mediterrâneo suplementada com pistache	8 semanas	hs-PCR; IL-6; TNF-α; SOD	Plasma	Quimioluminescência; ELISA; Kits comerciais	↓ IL-6; ↓ PCR; ↑ TNF-α; ↑ SOD	SARI <i>et al.</i> , 2010
Culturas de células Bv-2 da micróglia	Pré-tratamento com extrato metanólico de nozes e posterior estimulação com LPS	12 horas	iNOS; NO; TNF-α	Células BV-2 da micróglia	Western-Blot; ELISA; Imunohistoquímica; Quantificação de nitrito	↓ Produção NO; ↓ Produção TNF-α; ↓ Expressão iNOS *os autores sugerem que intervenções nutricionais com noz poderiam atuar na prevenção/tratamento de doenças neurodegenerativas	WILLIS <i>et al.</i> , 2010

50 homens e mulheres com síndrome metabólica	Dieta normocalórica suplementada com 15g de nozes + 7,5g de amêndoas + 7,5g de avelã	12 semanas	IL-6; hsPCR; adiponectina; MCP-1; PAI-1; IL-18; resistência à insulina	Plasma; soro	ELISA; HOMA	↓ Adiposidade; ↓ HOMA; ↓ IL-6, IL-18, MCP-1 e PAI-1; ↑ adiponectina	CASAS-AGUSTENCH <i>et al.</i> , 2009
847 homens e mulheres com DM2 ou ≥ 3 fatores de risco para DCV	Dieta do Mediterrâneo associada ao consumo de castanhas	5 anos	IMC; circunferência de cintura, colesterol total; triacilgliceróis; glicemia de jejum; LDLc	Plasma	Antropometria; Kits comerciais	Correlação inversa entre o consumo de castanhas e adiposidade	CASAS-AGUSTENCH <i>et al.</i> , 2009
60 homens saudáveis fumantes	Suplementação com 84g de amêndoas à dieta habitual	4 semanas	Dano ao DNA; SOD; GPX; catalase	Plasma; linfócitos	Microscopia de fluorescência; Kits comerciais	↓ Dano ao DNA; ↑ SOD e GPX; Catalase inalterada	LI <i>et al.</i> , 2007
12 indivíduos saudáveis e 12 hipercolesterolêmicos	Dieta normocalórica + 40g de nozes	1 semana	E-selectina; ICAM-1; VCAM-1; receptores de TNF-α	Soro	ELISA	↓ E-selectina; ↓ ICAM-1; ↓ VCAM-1; ↓ Receptores de TNF-α	CORTÉS <i>et al.</i> , 2006
41 Homens e mulheres hipercolesterolêmicos	Dieta normocalórica + 60g de amêndoas	6 semanas	ICAM-1; VCAM-1; hsPCR	Soro	ELISA; Espectrofotometria	↓ ICAM-1; ↓ VCAM-1; ↓ hsPCR	KURLANDSKY <i>et al.</i> , 2006

ORAC: capacidade antioxidante do plasma; LDLox: lipoproteína de baixa densidade oxidada; LDLc: colesterol LDL; GSH: glutatona reduzida; GSSG: glutatona oxidada; MCP: proteína quimiotática de monócitos; COX-1 e COX-2: ciclooxigenases 1 e 2; TF: fator tecidual; TFPI: inibidor da via do fator tecidual; LRPI: proteína relacionada ao receptor de LDL; CD36: receptor de membrana associado às lipoproteínas; PCR: proteína C reativa; IL-6: interleucina 6; TNF-α: fator de necrose tumoral alfa; SOD: superóxido dismutase; GPX: glutatona peroxidase; IMC: índice de massa corpórea; ICAM-1: molécula de adesão intercelular 1; VCAM-1: molécula de adesão vascular 1; iNOS: óxido nítrico sintase; NO: óxido nítrico; LPS: lipopolissacarídeo; PAI-1: inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1; IL-18: interleucina 18; ELISA: imuno-ensaio enzimático; HOMA: modelo de avaliação de homeostase; IMC: índice de massa corpórea.

Os efeitos benéficos do consumo de castanhas são atribuídos à ação sinérgica de seus ácidos graxos e conteúdo de compostos bioativos. Recentes observações sugerem que os compostos antioxidantes e anti-inflamatórios das castanhas estão fortemente relacionados a um efeito favorável na redução do risco de ocorrência de doenças cardiovasculares (BLOMHOFF *et al.*, 2006; ROS, 2009; YANG, 2009).

As castanhas são descritas como ricas fontes de substâncias antioxidantes, como compostos fenólicos (taninos, ácido elágico, curcumina e flavonóides - luteolina, quercetina, miricetina, kaempferol, resveratrol) e isoflanovas (genisteína e daidzeína) (KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002). Em amêndoas, por exemplo, já foram identificados os flavonóides catequina, flavonóis e flavononas. As nozes contêm uma variedade considerável de polifenóis (tipicamente elagitaninos) e ácidos graxos poli-insaturados. Os alquil fenóis são particularmente abundantes em castanhas de caju (ALASALVAR & SHAHIDI, 2009).

ANDERSON *et al.*, (2001) estudaram a habilidade do extrato de nozes de inibir a oxidação de LDL mediada por cobre *in vitro* e verificaram que a capacidade antioxidante do extrato de nozes foi superior à do ácido elágico. Os pesquisadores verificaram que a inibição foi de 84 e 14% para o extrato de nozes e ácido elágico, respectivamente. CHEN *et al.*, (2005) demonstraram que os flavonóides da casca de amêndoas aumentaram a resistência à oxidação da LDL *in vitro* e *in vivo*. HATIPOGLU *et al.*, (2004) investigaram o efeito de óleo de avelã sobre o *status* pró-oxidante/antioxidante em coelhos alimentados com dieta rica em colesterol. A suplementação com óleo de avelã reduziu os níveis de peróxidos no plasma, no fígado e na aorta, além de melhorar as lesões ateroscleróticas nas aortas dos coelhos.

Os fitosteróis constituem um grupo de compostos presentes em grande quantidade nas castanhas, também relacionados com benefícios à saúde. Em nozes, fitosteróis representam 0,1 a 0,2% da fração lipídica total, dos quais 87% são representados por β -sistosterol. Sementes de amêndoas e avelãs constituem ricas fontes de fitosteróis (MARANGONI & POLI, 2010). YANG (2009) pesquisou o conteúdo de fitosteróis em óleo de castanha-do-

brasil e encontrou 1930 µg de fitosteróis por grama de óleo, dos quais 1325,4µg/g eram de β-sistosterol, 26,9 µg/g campesterol e 577,5 µg/g estigmasterol.

A ingestão habitual de fitosteróis tem sido associada à redução do risco de alguns tipos de câncer e melhora no perfil lipídico plasmático, como redução dos níveis séricos de colesterol total e LDL colesterol (cLDL) (PLAT & MENSINK, 2005). Um mecanismo proposto para esta melhora do perfil lipídico é que os fitosteróis reduzem a absorção intestinal de colesterol, eventualmente induzindo a uma redução nas concentrações plasmáticas de colesterol total e LDL colesterol. Ao que tudo indica, as moléculas de fitosteróis competem com as de colesterol pela incorporação nas micelas mistas no trato intestinal (MARANGONI & POLI, 2010).

As castanhas também são fontes ricas em tocoferóis. ROS (2009) descreveu os teores de α-tocoferol em 10 sementes oleaginosas, entre as quais as amêndoas apresentaram maior teor, 259 µg/g de amostra, enquanto a castanha-do-brasil e a castanha de caju totalizaram 57 e 9 µg/g respectivamente. COSTA *et al.*, (2010) quantificaram os tocoferóis totais (α, γ, e δ-tocoferóis) em seis frutas e sementes brasileiras e, entre as oleaginosas avaliadas, a castanha de buriti e a castanha-do-brasil apresentaram 995,7 e 152,8 µg/g de tocoferóis totais respectivamente.

Aos tocoferóis são atribuídas atividades antioxidantes relacionadas a mecanismos de proteção das membranas celulares dos compostos oxidáveis do citoplasma celular. Sua estrutura e facilidade de interação com membranas celulares fazem desta substância um antioxidante muito mais eficiente em relação aos hidrossolúveis, contribuindo eficazmente no combate ao estresse oxidativo (PEREIRA, 2002; FOGAÇA, 2005).

Estudos *in vivo* constataram que o α-tocoferol inibe a expressão de moléculas de adesão no endotélio, recupera a disfunção endotelial desencadeada pela LDL oxidada, reduz a agregação e adesão plaquetária, previne a oxidação da LDL, inibe a proliferação de células musculares lisas e modula a resposta inflamatória (KOGA *et al.*, 2004).

Além dos componentes bioativos, o perfil de ácidos graxos das castanhas é considerado favorável à saúde, principalmente devido aos

teores apreciáveis de ácidos graxos essenciais, o ácido oléico (18:1) e o ácido linoléico (18:2) (FREITAS & NAVES, 2010).

Em relação aos minerais, o magnésio merece destaque, uma vez que é elemento encontrado em grandes quantidades nas castanhas e pode ser relacionado à atividade de redução de biomarcadores inflamatórios. Acredita-se que a deficiência de magnésio esteja relacionada à patogênese da resistência à insulina, do diabetes *mellitus* tipo 2, da hipertensão, da síndrome metabólica e de doenças cardiovasculares. Estudos transversais demonstraram associação inversa entre ingestão dietética de magnésio e concentrações plasmáticas das moléculas pró-inflamatórias de PCR, E-selectina e ICAM-1 (SEGURA *et al.*, 2006; SONG *et al.*, 2007; SALAS-SALVADÓ *et al.*, 2008).

O selênio, mineral particularmente abundante na castanha-do-brasil, está estreitamente relacionado a processos antioxidantes. Este elemento é essencial para a síntese da enzima glutathione peroxidase e em muitas reações de óxido-redução. Concentrações reduzidas de selênio no plasma são associados ao aumento no risco de desenvolvimento de doença coronariana. O consumo de 45 g de castanha-do-brasil por dia durante 15 dias elevou a concentração plasmática deste elemento de 56 µg/L para 208 µg/L em voluntários saudáveis (STRUNZ *et al.*, 2008).

A tabela 1 resume a composição de alguns tipos de castanhas.

TABELA 1: Composição de castanhas e sementes comestíveis por 100g.

Castanha	Energia (kcal)	Lipídios totais (g)	Proteínas totais (g)	Ácidos graxos saturados (g)	Ácidos graxos monoinsaturados (g)	Ácidos graxos poli-insaturados (g)	Fitosteróis totais (mg)	Arginina (g)	Tocoferóis totais (mg)	Magnésio (mg)	Cálcio (mg)
Amêndoas	578,4	50,6	21,3	3,9	32,2	12,2	217,7	2,47	45,2	275	248
Avelã	628,9	60,8	15	4,5	45,7	7,9	109,6	2,21	37,1	163	114
Castanha de caju	553,5	46,4	18,2	9,2	27,3	7,8	199,0	2,12	6,08	292	37
Castanha de sapucaia	736,8	65,9	19,6	16,5	34,22	42,7	-	1,9	-	449,9	229,4
Castanha-do-brasil	656,2	66,4	14,3	15,1	24,5	42	192,9	2,15	19,9	376	160
Macadâmiã	718,6	75,8	7,9	12,1	58,9	1,5	161,8	1,4	12,2	130	85
Noz	701,7	65,7	15,2	9,8	16,3	72,7	123,6	2,28	32,1	158	98
Pecã	692,1	72	9,2	6,2	40,8	21,6	196,5	1,18	18,0	121	70
Pinhão	673,6	68,4	13,7	4,9	18,8	34,1	273,7	2,41	22,9	251	16
Pistache	557,9	44,4	20,6	5,4	23,3	13,5	558,6	2,03	29,1	121	107

Referências: VALLILO *et al.*, 1999; KURLANDSKY *et al.*, 2006; DENADAI *et al.*, 2007; COSTA *et al.*, 2009; YANG, 2009; COSTA *et al.*, 2010.

O consumo regular de castanhas revela-se cada vez mais como um fator protetor contra DCNT. Isto se deve, em grande parte, à capacidade dos componentes presentes nestes alimentos (macro e micronutrientes e compostos bioativos) de modular os biomarcadores envolvidos na patogênese destas doenças. Além disso, ressalta-se a importância da biodisponibilidade destas substâncias quando presentes nas castanhas e outras sementes oleaginosas, uma vez que, sua atuação sinérgica parece ser mais interessante para a manutenção da função celular do que quando administrados em sua forma isolada.

A figura 1 resume alguns mecanismos pelos quais alguns componentes de castanhas podem proteger contra a inflamação.

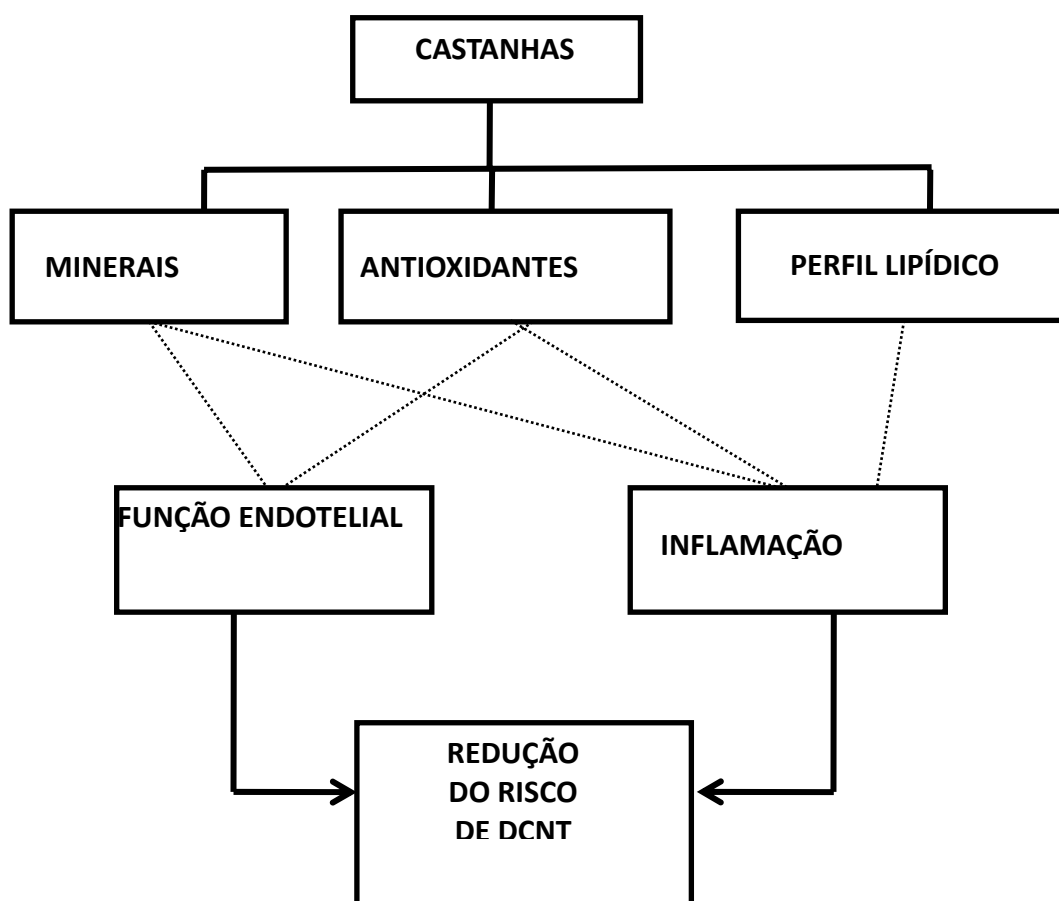


FIGURA 1: Mecanismos desempenhados por componentes de castanhas que podem estar envolvidos na redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis. Adaptado de Casas-Agustench *et al.*, 2009.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mudança de hábitos relacionados à vida moderna nas últimas décadas tem sido cada vez mais associada à prevalência de DCNT. Entre esses hábitos estão o sedentarismo, o estresse, e a alimentação.

A adoção de uma dieta nutricionalmente balanceada é uma das premissas básicas para a manutenção da boa saúde e prevenção de futuros agravos. Uma alimentação que, além de ser balanceada, conta com o consumo regular de castanhas e outras sementes oleaginosas, oferece um fator de proteção adicional à saúde.

O aumento do número de estudos sobre castanhas e sementes comestíveis é necessário para se tentar entender e elucidar os mecanismos biológicos e bioquímicos pelos quais estes alimentos exercem seus efeitos protetores na saúde e incentivar o seu consumo.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

5. REFERÊNCIAS

AHONEN, T.M.; SALTEVO, J.T.; KAUTIAINEN, H.J.; KUMPUSALO, E.A.; VANHALA, M.J. The association of adiponectin and low-grade inflammation with the course of metabolic syndrome. **Nutrition, Metabolism & Cardiac Diseases**, v.22, p.285-291, 2010.

ALASALVAR, C.; SHAHIDI, F. Natural antioxidants in tree nuts. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.111, p.1056-1062, 2009.

ANDERSON, K.J.; TEUBER, S.S.; GOBEILLE, A.; CREMIN, P.; WATERHOUSE, A.L.; STEINBERG, F.M. Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. **Journal of Nutrition**, v.131, p.2837-2842, 2001.

BAKKER, G.C.M.; ERK, M.J.; PELLIS, L.; WOPEREIS, S.; RUBINGH, C.M.; CNUBBEN, N.H.P., KOOISTRA, T.; OMMEN, B.; HENDRIKS, H.F.J. An anti-inflammatory dietary mix modulates inflammation and oxidative and metabolic stress in overweight men: a nutrigenomics approach. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.91, p.1044–59, 2010.

BASTOS, D.H.M.; ROGERO, M.M.; AREAS, J.A.G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.53, p.53-55, 2009.

BLOMHOFF, R.; CARLSEN, M.H.; ANDERSEN, L.F.; JACOBS Jr, D.R. Health benefits of nuts: potential role of antioxidants. **British Journal of Nutrition**, v. 96, n.2, p.S52–S60, 2006.

BRASIL, A.R.; NORTON, R.C.; ROSSETTI, M.B.; LEÃO, E.; MENDES, R.P. C-reactive protein as an indicator of low intensity inflammation in children and

adolescents with and without obesity. **Jornal de Pediatria**, v.83, n.5, p.477-480, 2007.

BULLÓ, M.; CASAS-AGUSTENCH, P.; AMIGÓ-CORREIG, P.; ARANCETA, J.; SALAS-SALVADÓ, J. Inflammation, obesity and comorbidities: the role of diet. **Public Health Nutrition**, v.10, n.10A, p.1164–1172, 2007.

BULLÓ, M.; GARCÍA-LORDA, P.; MEGIAS, I.; SALAS-SALVADÓ, J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. **Obesity Research**, v.11, n.4, p.525-531, 2003.

BULLÓ, M.; NOGUÉS, M.R.; LÓPEZ-URIARTE, P.; SALAS-SALVADÓ, J.; ROMEU, M. Effect of whole walnuts and walnut-skin extracts on oxidant status in mice. **Nutrition**, v.26, p.823–828, 2010.

CASAS-AGUSTENCH, P.; BULLÓ, M.; SALAS-SALVADÓ, J. Nuts, inflammation and insulin resistance. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.19, n.1, p.124-130, 2010.

CASAS-AGUSTENCH, P.; BULLÓ, M.; ROS, E.; BASORA, J.; SALAS-SALVADÓ, J. Cross-sectional association of nut intake with adiposity in a Mediterranean population. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease**, n.21, v.7, p.518-525, 2009.

CASAS-AGUSTENCH, P.; LÓPEZ-URIARTE, P.; BULLÓ, M.; ROS, E.; CABRÉ-VILA, J.J.; SALAS-SALVADÓ, J. Effects of one serving of mixed nuts on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease**, v.21, n.12, p.126-135, 2009.

CHEN, C.Y.; MILBURY, P.E.; LAPSLEY, K.; BLUMBERG, J.B. Flavonoids from almond skins are bioavailable and act synergistically with vitamins C

and E to enhance hamster and human LDL resistance to oxidation. **Journal of Nutrition**, v.135, n.6, p.1366–1373, 2005.

CHOI, K.M.; RYU, O.H.; LEE, K.W.; KIM, H.Y.; SEO, J.A.; KIM, S.G.; KIM, N.H.; CHOI, D.S.; BAIK, S.H. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. **Diabetes Research Clinical Practice**, v.75, n.2, p.235-240, 2007.

CORTÉS, B.; NÚÑEZ, I.; COFÁN, M.; GILABERT, R.; PÉREZ-HERAS, A.; CASALS, E.; DEULOFEU, R.; ROS, E. Acute effects of high-fat meals enriched with walnuts or olive oil on postprandial endothelial function. **Journal of American College Cardiology**, v.48, n.8, 2006.

COSTA, P. A.; BALLUS, C.A.; TEIXEIRA-FILHO, J.; GODOY, H.T. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. **Food Research International**, v.43, n.6, p.1603-1606, 2010.

DI RENZO, L.; BIGIONI, M.; DEL GOBBOC, V.; PREMROV, M.G.; BARBINI, U.; DI LORENZO, N.; DI LORENZO, A. Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist gene polymorphism in normal weight obese syndrome: Relationship to body composition and IL-1 and plasma levels. *Pharmacology Research*, v.55, n.2, p.131-138, 2007.

FOGAÇA, F.H.S. **Efeito do tocoferol no desempenho e na estabilidade lipídica da Tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)**. 2005. 79f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FONSECA-ALANIZ, M.H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M.I.C.; LIMA, F.B. O tecido adiposo como órgão endócrino: da teoria à prática, **Jornal de Pediatria**, v.83, p.192-203, 2007.

FRANCISCO, G.; HERNÁNDEZ, C.; SIMÓ, R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipidemia. **Clinical Chemical Acta**, v.369, n.1, p.1-16, 2006.

FREITAS, J.B.; NAVES, M.M.V. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição**, v.23, n. 2, p.269-279, 2010.

HATIPOGLU, A.; KANBAGLI, O.; Balkan, J.; Kucuk, M.; Cevikbas, U.; Aykac-Toker, G.; Berkkan, H.; Uysal, M. Hazelnut oil administration reduces aortic cholesterol accumulation and lipid peroxides in the plasma, liver, and aorta of rabbits fed a high-cholesterol diet. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.68, n.10, p.2050–2057, 2004.

HERMSDORFF, H.H.M.; MONTEIRO, J.B.R. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema? **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.48, n.6, p.803-811, 2004.

HIVERT, M.F.; SULLIVAN, L.M.; SHRADER, P.; FOX, C.S.; NATHAN, D.M.; D'AGOSTINO, R.B.; WILSON, P.W.F.; BENJAMIN, E.J.; MEIGS, J.B. The association of tumor necrosis factor α receptor 2 and tumor necrosis factor α with insulin resistance and the influence of adipose tissue biomarkers in humans. **Metabolism Clinical and Experimental**, v.59, p.540–546, 2010.

HUNG, J.; MCQUILLAN, B.M.; CHAPMAN, C.M.L; THOMPSON, P.L.; BEILBY, J.P. Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v.25, p.1268-1273, 2005.

JUNQUEIRA, A.S.M.; ROMÃO FILHO, L.J.M.; JUNQUEIRA, C.L.C. Avaliação do grau de inflamação vascular em pacientes com síndrome

metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.93, n.3, p.360-366, 2009.

KERN, P.; RANGANATHAN, S.; LI, C.; WOOD, L.; RANGANATHAN, G. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v.280, n.5, p.745–751, 2001.

KOGA, T.; KWAN, P.; ZUBICK, L.; AMEHO, C.; SMITH, D.; MEYDANI, M. Vitamin E supplementation suppress macrophage accumulation and endothelial cell expression of adhesion molecules in aorta of hypercholesterolemic rabbits. **Atherosclerosis**, v.176, n.1, p.265-272, 2004.

KRIS-ETHERTON, P.M.; HECKER, K.D.; BONANOME, A. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **American Journal of Medicine**, v.113, n.9, p.71-88, 2002.

KUMAR, R.; CLERMONT, G.; VODOVOTZ, Y.; CHOW, C.C. The dynamics of acute inflammation. **Journal of Theoretical Biology**, v.230, p.145-55, 2004.

KURLANDSKY, S.B.; STOTE, K.S. Cardioprotective effects of chocolate and almond consumption in healthy women. **Nutrition Research**, v.26, p.509–516, 2006.

LI, N.; JIA, X.; CHEN, O.C.Y.; BLUMBERG, J.B.; SONG, Y.; ZHANG, W.; ZHANG, X.; MA, G.; CHEN, J. Almond Consumption Reduces Oxidative DNA Damage and Lipid Peroxidation in Male Smokers. **Journal of Nutrition**, v.137, n.12, p.2717–2722, 2007.

LLORENTE-CORTÉS, V.; ESTRUCH, R.; MENA, M.P.; ROS, E.; GONZALEZ, M.A.M.; FITÓ, M.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M.; BADIMON, L. Effect of Mediterranean diet on the expression of pro-atherogenic genes in a

population at high cardiovascular risk. **Atherosclerosis**, v.208, n.2, p.442–450, 2010.

LÓPEZ-URIARTE, P.; NOGUÉS, R.; SAEZ, G.; BULLÓ, M.; ROMEU, M.; MASANA, L.; TORMOS, C.; CASAS-AGUSTENCH, P.; SALAS-SALVADÓ, J. Effect of nut consumption on oxidative stress and the endothelial function in metabolic syndrome. **Clinical Nutrition**, v.29, n.3, p.373–380, 2010.

LOPES, H.F. Hipertensão e inflamação: papel da obesidade. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.14, n.4, p.239-244, 2007.

MARANGONI, F.; POLI, A. Phytosterols and cardiovascular health. **Pharmacology Research**. v.61, n.3, p.193–199, 2010.

PACKER, L.; SIES, H. **Oxidative stress and inflammatory mechanisms in obesity, diabetes, and the metabolic syndrome**, 2008. 332p.

PEREIRA, E.C. **Efeitos da sinvastatina, α -tocoferol e L-arginina sobre os inibidores endógenos da oxido nítrico sintase, metabolitos do oxido nítrico e tióis em pacientes hipercolesterolêmicos**. 2002. 122f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

PLAT, J.; MENSINK, R.P. Plant stanol and sterol esters in the control of blood cholesterol levels: mechanism and safety aspects. **American Journal of Cardiology**. v.96, n.1A, p.15-22, 2005.

RAUCHHAUS, M.; DOEHNER, W.; FRANCIS, D.P.; DAVOS, C.; KEMP, M.; LIEBENTHAL, C.; NIEBAUER, J.; HOOPER, J.; VOLK, H.D.; COATS, A.J.S.; ANKER, S.D. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. **Circulation**, v.102, n.25, p.3060-3067, 2000.

RIDKER, P.M.; STAMPFER, M.J.; RIFAI, N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: A comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. **Journal of American Medical Association**, v.285, n.19, p.2481-2485, 2001.

ROS, E. Nuts and novel biomarkers of cardiovascular disease. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.89, n.5, p.1649-56, 2009.

ROS, E.; MATAIX, J. Fatty acid composition of nuts – implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition**. v.96, n.2, p.29–35, 2006.

SALAS-SALVADÓ, J.; FERNÁNDEZ-BALLART, J.; ROS, E. Effect of a Mediterranean diet supplemented with nuts on metabolic syndrome status: one-year results of the PREDIMED randomized trial. **Archives Internal of Medicine**. v.168, n.22, p.2449–58, 2008.

SANTOS, C.R.B.; PORTELLA, E.S.; AVILA, S.S.; SOARES, E.A. Fatores dietéticos na prevenção e tratamento de comorbidades associados à síndrome metabólica. **Revista de Nutrição**, v.19, n.3, p.389-401, 2006.

SARI, I.; BALTACI, Y.; BAGCI, C.; DAVUTOGLU, V.; EREL, O.; CELIK, H.; OZER, O.; AKSOY, N.; AKSOY, M. Effect of pistachio diet on lipid parameters, endothelial function, inflammation, and oxidative status: A prospective study. **Nutrition**, v.26, n.4, p.399–404, 2010.

SEGURA, R.; JAVIERRE, C.; LIZARRAGA, M.A.; ROS, E. Other relevant components of nuts: phytosterols, folates and minerals. **British Journal of Nutrition**, v.96, n.2, p.36-44, 2006.

SONG, Y.; LI, T.Y.; VAN DAM, R.M.; MANSON, J.E.; HU, F.B. Magnesium intake and plasma concentrations of markers of systemic inflammation and

endothelial dysfunction in women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.85, n.4, p.1068-74, 2007.

STRUNZ C.C.; OLIVEIRA, T.V.; VINAGRE, J.C.M.; LIMA, A.; COZZOLINO, S.; MARANHÃO, R.C. Brazil nut ingestion increased plasma selenium but had minimal effects on lipids, apolipoproteins, and high-density lipoprotein function in human subjects. **Nutrition Research**, v.28, p.151–155, 2008.

TAYLOR, K.E.; GIDDINGS, J.C.; BERG, C.W. C-Reactive Protein–Induced In Vitro Endothelial Cell Activation Is an Artefact Caused by Azide and Lipopolysaccharide. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v.25, p.1225-1230, 2005.

VOLP, A.C.P.; ALFENAS; R.C.G.; COSTA; N.M.B.; MINIM; V.P.R.; STRINGUETA, P.C.; BRESSAN, J. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em predizer a síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.52, n.3, p.537-549, 2008.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **Food Science and Technology**. v.42, n.2, p.1573–1580, 2009.

WILLIS, L.M.; BIELINSKI, D.F.; FISHER, D.R.; MATTHAN, N.R.; JOSEPH, J.A. Walnut Extract Inhibits LPS-induced Activation of Bv-2 Microglia via Internalization of TLR4: Possible Involvement of Phospholipase D2. **Inflammation**, v.33, n.5, p.325-333, 2010.

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CASTANHA DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess.) DA REGIÃO DA ZONA DA MATA MINEIRA.

(Artigo publicado e nas normas da Revista Bioscience Journal, Nov/Dez 2012)

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA CASTANHA DE SAPUCAIA (*Lecythis pisonis* Cambess.) DA REGIÃO DA ZONA DA MATA MINEIRA.

*CHEMICAL CHARACTERIZATION OF SAPUCAIA NUTS (*Lecythis pisonis* Cambess.) FROM ZONA DA MATA MINEIRA REGION.*

Izabela Maria Montezano de CARVALHO¹; Livia Dias QUEIRÓS²; Larissa Froede BRITO¹; Fernando Almeida SANTOS¹; Ana Vlândia Moreira BANDEIRA³; Agostinho Lopes de SOUZA⁴; José Humberto de QUEIROZ⁵.

1. Doutoranda (o) em Bioquímica Agrícola – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. i_montezano@yahoo.com.br; 2. Mestranda em Ciência de Alimentos – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil; 3. Professora Doutora – Departamento de Nutrição e Saúde, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brasil; 4. Professor Doutor, Departamento de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brasil; 5. Professor Doutor, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

RESUMO

Atualmente as castanhas têm recebido atenção especial, pois são fontes naturais de vitaminas, minerais, proteínas e ácidos graxos essenciais, podendo assim contribuir para a dieta humana e de animais. Pesquisas recentes confirmam que esses alimentos são fontes ainda de compostos bioativos, os quais podem trazer benefícios significativos à saúde humana. Este trabalho teve como objetivo avaliar a composição química de castanhas da espécie sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) localizadas na zona da mata mineira. Foram analisadas a composição centesimal (lipídios, proteínas, carboidratos, cinzas e umidade), teor de minerais por espectrometria de plasma e perfil lipídico por cromatografia gasosa. A composição centesimal revelou 54,8% de lipídios; 26,82% de proteínas;

5,01% de carboidratos; 3,17% de cinzas e 10,2% de umidade. Quanto ao perfil lipídico, 43,1% eram ácidos graxos polinsaturados, 41,7% ácidos graxos monoinsaturados e 15,2% ácidos graxos saturados. Os minerais fósforo, magnésio e manganês se destacaram pelos elevados teores, 941; 343 e 4,8 mg.100⁻¹, respectivamente. A castanha de sapucaia é uma potencial fonte energético-proteica e de minerais importantes para a saúde, mas deve ter sua toxicidade avaliada.

Palavras-chave: *Lecythis pisonis* Cambess., castanha de sapucaia, sementes oleaginosas.

ABSTRACT

Currently the nuts have received special attention of researchers because they are natural sources of vitamins, minerals, protein and essential fatty acids, could also contribute to the diet of humans and animals. Recent research confirms that these foods are also sources of bioactive compounds, which can bring significant benefits to human health through regular consumption. This study evaluated the chemical composition of sapucaia nut (*Lecythis pisonis* Cambess.) of the state of Minas Gerais. We analyzed the chemical composition (lipids, proteins, carbohydrates, ash and moisture), and the mineral content by mass spectrometry, and the lipid profile by gas chromatography. The chemical composition showed 54,8% lipids; 26,82% protein; 5,01% carbohydrates; 3,17% ash and 10,2% moisture. The lipid, 43,1% were polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids 41,7% and 15,2% saturated fatty acids. The minerals phosphorus, magnesium and manganese are highlighted by high levels, 941; 343 and 4,8 mg.100⁻¹, respectively. Sapucaia nut is a potential protein-energy and minerals source, but its toxicity must be evaluated.

Keywords: *Lecythis pisonis* Cambess., sapucaia nuts, oilseeds.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as sementes, nozes e castanhas comestíveis de plantas têm recebido atenção especial de pesquisadores uma vez que são fontes naturais de vitaminas, minerais, proteínas e ácidos graxos essenciais, podendo assim contribuir para a dieta humana e de animais. Pesquisas recentes confirmam que esses alimentos também são fontes potenciais de compostos bioativos, os quais podem trazer benefícios significativos à saúde humana através do seu consumo regular (COSTA et al., 2010; FREITAS et al., 2010; JOHN et al., 2010; ROS, 2009; JENKINS et al., 2008; JIANG et al., 2006; ROS et al., 2006).

As principais sementes comestíveis nativas comercializadas no Brasil são a castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) e a castanha do Pará ou castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa* Kunth) (CHAVES et al., 2004). No entanto, as florestas brasileiras possuem outras espécies nativas cujos frutos e sementes podem ser utilizados como fontes de nutrientes, sendo, portanto, de extrema importância o estudo destas novas fontes alternativas de alimentos. Nesse contexto encontra-se a espécie *Lecythis pisonis* Cambess, ou, castanha de sapucaia. Alguns estudos realizados sobre a composição nutricional desta espécie sugerem que ela possa ser empregada na alimentação humana em substituição às castanhas já comumente utilizadas (DENADAI et al., 2010; SOUZA et al., 2008; VALLILO et al., 1999; VALLILO et al., 1998).

Conhecida popularmente como castanha-sapucaia, marmita-de-macaco, cumbuca-de-macaco ou simplesmente "sapucaia", esta árvore da família Lecythidaceae tem origem brasileira e ocorre do Ceará até o Rio de Janeiro. Pode atingir 20 a 30 metros de altura, com tronco de 50 a 90 centímetros de diâmetro a altura do peito (DAP) (LORENZI, 1992). As amêndoas aromáticas e oleaginosas da sapucaia podem ser consumidas cruas, cozidas ou assadas, constituindo-se em excelente alimento. Um quilograma destas castanhas fornece aproximadamente 180 sementes e podem substituir, em igualdade de condições, as nozes, amêndoas ou

castanhas comuns, prestando-se como ingrediente para doces, confeitos e pratos salgados (PANTANO, 2010).

As sementes oleaginosas são ricas em proteínas e muito ricas em lipídios, não possuem colesterol, são boas fontes de fibras e possuem quantidades razoáveis de tiamina, riboflavina e niacina e de vitaminas B1 e B2. Possuem também teores consideráveis de fósforo e potássio, sendo pobres em sódio, favorecendo assim o sistema cardiovascular. Contêm, ainda, quantidades razoáveis de cálcio e magnésio (SOUZA et al., 2008). Estudos realizados com castanhas de sapucaia de diferentes regiões brasileiras revelaram elevados teores de proteínas e lipídios neste alimento, além de fornecer quantidades consideráveis de minerais e um perfil lipídico rico em ácidos graxos poli-insaturados (DENADAI et al., 2010; SOUZA et al., 2008; VALLILO et al., 1999; VALLILO et al., 1998). No entanto, os teores de nutrientes encontrados nestas castanhas de diferentes regiões apresentam grandes variações, o que pode ser reflexo dos diferentes tipos de solos e condições ambientais em que estas árvores se encontram.

Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo caracterizar a castanha da espécie *Lecythis pisonis* Cambess da região da Zona da Mata Mineira, através da realização da composição centesimal, do perfil lipídico, análise da composição de minerais e do perfil de aminoácidos.

MATERIAL E MÉTODOS

As castanhas de sapucaia foram coletadas em cinco árvores de ocorrência natural no campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizada (20°76'S e -42°86'W) na região da Zona da Mata Mineira, porção sudeste do estado. De cada árvore foram coletados cinco frutos, e de cada fruto foram extraídos dez amêndoas. Em seguida, estas foram homogeneizadas em processador de alimentos no Laboratório de Metabolismo e Fermentação da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Todas as análises a seguir foram realizadas em triplicata.

As determinações dos teores de lipídios, proteínas, cinzas totais e umidade foram realizadas de acordo com as normas analíticas do Instituto

Adolfo Lutz, sendo os carboidratos calculados por diferença (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Para a análise do perfil lipídico, as amostras foram preparadas segundo Folch et al. (1957) e Hartman e Lago (1973). A identificação dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi realizada por cromatografia gasosa, utilizando o modelo CG-17A Shimadzu/Class, equipado com a coluna capilar de sílica fundida de biscianopropil polysiloxane (SP-256), medindo 100 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro com detector de ionização em chama. A programação de análise teve como temperatura inicial de 150°C, isotérmica por 10 minutos e posterior aquecimento de 4°C por minuto até 250°C, permanecendo nesta temperatura por 40 minutos. A temperatura do vaporizador foi de 240°C e o detector em 260°C. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio em 24 cm/seg., a 175°C. A razão da divisão da amostra no injetor foi de 1/10 e injetou-se 1 µL da solução. Os picos foram identificados por comparação dos tempos de retenção de uma mistura de metil ésteres conhecidos (FAME mix Supelco®, EUA) e quantificados por áreas de integração automática, sendo os resultados expressos em percentual.

As análises dos minerais (Cádmio, Cromo, Cobre, Manganês, Níquel, Chumbo, Zinco, Fósforo, Cálcio, Magnésio, Ferro, Alumínio, Arsênio, Molibdênio) foram realizadas por digestão nítrico-perclórica em bloco digestor, por meio da adição de 1mL de ácido nítrico p.a 65% que foi misturado na noite anterior à digestão, com uma pré-digestão de 12 h. A seguir, foram adicionados mais 3 mL de ácido nítrico e iniciou-se a digestão com a elevação gradual da temperatura até $\pm 95^{\circ}\text{C}$. A amostra foi digerida até a metade em relação ao volume inicial e em seguida adicionaram-se 2mL de ácido perclórico p.a 70%, aumentando a temperatura gradativamente até 150°C, até o clareamento das amostras no tubo digestor. A seguir, as amostras foram retiradas do bloco, resfriadas em temperatura ambiente, com extrato digerido (cerca de 2 mL) completando o volume com água destilada para 25 mL. Na sequência, foi realizada a leitura no espectrofotômetro de plasma.

Os aminoácidos foram identificados e quantificados no Centro Interdepartamental de Química de Proteínas da USP-Ribeirão Preto, SP,

utilizando-se o método feniltiocarbamil aminoácidos (PTC) (análise de aminoácidos: derivação pré-coluna com fenilisotiocianato) (BIDLINGMEYER et al., 1984; ROSA et al, 1987). A composição aminoacídica foi determinada em amostras previamente hidrolisadas com HCl 6 N bidestilado, seguida de derivação pré-coluna dos aminoácidos livres com fenilisotiocianato, e a separação dos derivativos feniltiocarbamil-aminoácidos foi realizada em coluna de fase reversa C18 (Pico-Tag - 3,9 x 150 mm) com monitoração em comprimento de onda em 254 nm. A quantificação da amostra foi baseada na área de cada pico de aminoácido, utilizando-se a área do pico do padrão de aminoácidos com concentração conhecida como referência, sendo o padrão derivado nas mesmas condições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 descreve a composição centesimal das amêndoas de sapucaia. Observa-se elevados teores de lipídios (54,8%) e de proteínas (26,82%), e baixo teor de carboidratos (5,01%).

Tabela 1 – Composição centesimal e valor calórico de amêndoas de *Lecythis pisonis* Cambess. (sapucaia).

Componente	Resultado (g. 100g ⁻¹)
Umidade	10,20 ± 0,68*
Cinzas	3,17 ± 0,50*
Extrato etéreo	54,80 ± 4,15*
Proteínas (N x 6,25)	26,82 ± 2,60*
Carboidratos (por diferença)	5,01
Conteúdo calórico total (kcal. 100g ⁻¹)**	620,52

*Valores de médias ± desvio padrão obtidos por determinações realizadas em triplicatas.

**O conteúdo calórico total foi calculado baseado nos seguintes fatores: teor de proteínas e de carboidratos multiplicados por 4 e teor de lipídios multiplicados por 9 (FAO, 1991).

Castanhas de sapucaia oriundas do estado do Piauí revelaram teor de lipídios maior (65,9%) e de proteínas menor (19,6%) do que as castanhas do presente estudo. Já no estado de São Paulo, os teores de lipídios e proteínas das castanhas de sapucaia foram mais próximos aos do presente

trabalho (60,6% a 63% e 19,8 a 20,4%, respectivamente) (DENADAI et al., 2007; SOUZA et al., 2008; VALLILO et al., 2008). As diferenças encontradas na literatura em relação à composição centesimal das castanhas de sapucaia devem-se, provavelmente, aos diferentes estágios de maturação dos frutos no momento da coleta, às características de solo e clima das diferentes regiões de coleta e/ou aos protocolos analíticos utilizados na determinação destes componentes.

O teor de lipídios na castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*) (66,4%) é maior do que na castanha de sapucaia analisada neste estudo. No entanto, o teor de proteínas é menor na castanha-do-pará (14,3%) quando comparada à de sapucaia (YANG, 2009). Já em relação à castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.), esta possui menor conteúdo de lipídios (46,4%) e proteínas (18,2%) em relação à castanha de sapucaia (ROS, 2009).

O perfil de ácidos graxos do óleo de castanha de sapucaia revelou elevado teor de ácidos graxos insaturados, totalizando 41,71% de ácidos graxos monoinsaturados e 43,1% de ácidos graxos poli-insaturados. Entre os monoinsaturados, destaca-se o ácido oléico, presente em 41,37% dos lipídios da amostra, e entre os poli-insaturados, o ácido linoléico predomina com 42,86% do total de lipídios. Observa-se ainda a presença do ácido graxo ômega-3 em 0,24%. Esses resultados estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição centesimal dos principais ácidos graxos de amêndoas de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) expressa em p/p (%).

Ácido graxo	Resultado (p/p %)
Ácido palmítico (C 16:0)	11,29
Ácido (C 16:1)	0,34
Ácido (C 18:0)	3,77
Ácido (C 18:1 ω 9c)	41,37
Ácido (C 18:2 ω 6c)	42,86
Ácido (C 20:0)	0,13
Acido (C 18:3 ω 3)	0,24

Total de AGS*	15,19
Total de AGM**	41,71
Total de AGP***	43,1

*AGS: ácidos graxos saturados; **AGM: ácidos graxos monoinsaturados;
 ***AGP: ácidos graxos poli-insaturados.

Em relação à castanha-do-pará, a castanha de sapucaia apresentou maior conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados (29,03% e 47,71% respectivamente), menor conteúdo de ácidos graxos saturados (25,47% e 15,19% respectivamente), e teor semelhante de ácidos graxos poli-insaturados (44,31% e 43,1% respectivamente). Comparando-se à castanha de caju, a sapucaia apresentou menor teor de ácidos graxos monoinsaturados (59,33% e 47,71% respectivamente) e saturados (20,66% e 15,19%), e maior conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados (19,12% e 43,1% respectivamente) (VENKATACHALAM et al., 2006; RYAN et al., 2006).

O perfil de ácidos graxos de castanhas pode ser considerado favorável à saúde, principalmente devido a teores consideráveis de ácido oléico (18:1) e linoléico (18:2) (FREITAS et al., 2010). Esta composição em ácidos graxos mono e poli-insaturados é importante para a saúde, uma vez que esses ácidos contribuem para a redução das frações de Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL) e de Muito Baixa Densidade (VLDL), responsáveis, em parte, pelo aumento do colesterol sérico. O efeito benéfico do consumo de sementes comestíveis sobre o perfil sérico lipídico tem sido confirmado em diversos trabalhos. Isto reforça a importância de estudos sobre as sementes comestíveis dos seus efeitos sobre a nutrição e saúde de humanos (JENKINS et al., 2008; ROS, 2006; FITÓ et al., 2007, JENKINS et al., 2002).

A composição de minerais das castanhas de sapucaia é demonstrada na tabela 3. Em relação à ingestão diária recomendada de minerais para adultos (FAO, 2001), a castanha de sapucaia apresenta elevados teores de minerais importantes para a saúde humana. A ingestão de 100 gramas de

castanhas de sapucaia supre as necessidades diárias de manganês, fósforo e magnésio. Além disso, a ingestão desta quantidade de castanhas garante 50% da recomendação diária de ferro, mineral importante na prevenção de anemia ferropriva. Comparando os resultados de minerais obtidos neste estudo com dados de castanhas de *L. pisonis* coletadas em outras regiões, elevadas quantidades de magnésio, ferro e fósforo foram detectadas nas castanhas da região da Zona da Mata no estado de Minas Gerais (SOUZA et al., 2008; DENADAI et al., 2007; VALLILO et al., 1999; VALLILO et al., 1998).

Tabela 3 - Teores de minerais em amêndoas de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.)

Elemento	Quantidade (mg.100g ⁻¹)	Valores de referência [#] (mcg* ou mg/dia)
Cádmio	Nd	-
Cromo	Nd	-
Cobre	2,3	900*
Manganês	4,8	2,3
Níquel	0,5	-
Chumbo	0,4	-
Zinco	4,4	7
Fósforo	941,7	700
Cálcio	182,1	1000
Magnésio	343,4	260
Ferro	7,0	14
Alumínio	6,9	-
Arsênio	Nd	-
Molibdênio	Nd	45*

Nd: não detectado. [#] FAO, 2001.

Vale ressaltar que o teor de chumbo encontrado neste trabalho é inferior ao de castanhas de sapucaia coletadas em outras regiões brasileiras. Vallilo et al. (1998) encontraram média de 0,96 mg.g⁻¹, sendo que o limite máximo de chumbo em vegetais recomendado pelo *Codex Alimentarius* é de 0,3 mg.kg⁻¹ (FAO/WHO, 2001). A legislação brasileira estabelece que o limite máximo de tolerância de chumbo em alimentos esteja entre 0,05 a 2,0 mg.kg⁻¹ (BRASIL, 1998). A presença de chumbo em alimentos pode resultar de várias fontes: absorção por plantas presentes em solos com concentrações elevadas desse elemento ou tratadas com pesticidas à base de arseniato de chumbo; deposição de Pb na superfície de vegetais consumidos por animais empregados no consumo humano ou consumidos pelo homem diretamente; adição inadvertida de Pb no processamento de alimentos; liberação de Pb de latas de conservas e cerâmicas usadas como utensílios na alimentação (MACHADO et al., 2008).

Considerando os limites de chumbo estabelecidos para alimentos, as castanhas de sapucaia coletadas na Zona da Mata Mineira estão mais próximas às recomendações do que as sementes coletadas em outros locais, mas ainda continuam acima do preconizado.

A tabela 4 mostra os teores de aminoácidos essenciais e não essenciais encontrados nas castanhas de sapucaia avaliadas.

Tabela 4 – Perfil aminoacídico de amêndoas de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.).

Aminoácido	Aminoácido em g.100 g ⁻¹ de proteína	Padrão FAO/WHO Pré-escolares	Padrão FAO/WHO Adultos
Aspartato	8,27		
Glutamina	18,70		
Serina	4,55		
Glicina	4,37		
Histidina*	2,52	1,9	1,6
Arginina	14,30		
Treonina*	3,47	3,4	0,9
Alanina	3,65		
Prolina	5,10		

Valina*	4,65	3,5	1,3
Metionina + Cistina*	6,06	2,5	1,7
Cisteína	0,63		
Isoleucina*	2,99	2,8	1,3
Leucina*	8,01	6,6	1,9
Fenilalanina + Tirosina*	7,83	6,3	1,9
Lisina*	5,10	5,8	1,6

*Aminoácidos essenciais.

A castanha de sapucaia apresentou excelente composição aminoacídica, atendendo a todas as recomendações para os aminoácidos essenciais com base no padrão da FAO/WHO (1991) para crianças na faixa etária de 2,0 a 5,0 anos. Além disso, a castanha de sapucaia também contém elevadas quantidades de aminoácidos sulfurados, que desempenham importantes funções antioxidantes (SINHA et al., 2007). Normalmente, as proteínas de castanhas comestíveis atendem a boa parte das necessidades de aminoácidos essenciais de escolares e indivíduos adultos (FREITAS e NAVES, 2010).

Além da composição qualitativa e quantitativa das proteínas de um alimento, um fator importante que deve ser investigado é a biodisponibilidade de seus aminoácidos. Nesse contexto, Denadai et al. (2007) demonstraram que a castanha de sapucaia possui considerável digestibilidade *in vitro*, uma vez que ela apresentou níveis muito baixos de lectina e inibidores de proteinases, e uma significativa digestibilidade de globulinas *in vitro*. Os autores sugerem, portanto, que a castanha de sapucaia possa ser uma nova fonte de proteínas para o consumo humano.

CONCLUSÃO

As castanhas apresentaram elevados teores de lipídios e proteínas, e podem, portanto, fazer parte da dieta como boa fonte energético-proteica. O perfil lipídico revelou elevado teor de ácido linoléico, um importante ácido graxo essencial. Além disso, o conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados também foi elevado, indicando um perfil lipídico favorável à saúde cardiovascular. O perfil aminoacídico da sapucaia merece destaque, uma

vez que, entre os aminoácidos detectados, a castanha atende às recomendações de aminoácidos para escolares. Estudos de toxicidade à saúde humana devem ser realizados em virtude do teor de chumbo encontrado estar acima dos limites recomendados pela legislação.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIDLINGMEYER, B. A.; COHEN, S. A.; TARVIN, T. L. Rapid analysis of aminoacids using pre-column derivatization. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 336, n. 1, p. 93-104, 1984.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Ministério da Saúde. Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998. Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos. Diário Oficial da União nº 165-E, Seção I, p. 28-29, Brasília, ago., 1998.

CHAVES, M.H.; BARBOSA, A.S.; MOITA NETO, J.M.; AUED-PIMENTEL, S.; LAGO, J.H.G. Caracterização química do óleo da amêndoa de *Sterculia striata* St Hill et Nauda. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n. 3, p. 404-408, 2004.

COSTA, P. A.; BALLUS, C.A.; TEIXEIRA-FILHO, J.; GODOY, H.T. Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. **Food Research International**, Toronto, v. 43, n. 6, p. 1-4, 2010.

DENADAI, S.M.S.; HIANE, P.A.; MARANGONI, S.; BALDASSO, P.A.; MIGUEL, A.M.R.O.; MACEDO, M.L.R. In vitro digestibility of globulins from sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.) nuts by mammalian digestive proteinases. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, n.3, p. 535-543, 2007.

FAO/WHO. Report of a joint FAO/WHO expert consultation held in Bethesda, MD, USA. Dec 1989. Protein quality evaluation. FAO/Rome/Italy, 1991.

FAO/WHO. Codex Alimentarius Commission. Food additives and contaminants. Joint FAO/WHO Food Standards Programme; ALINORM 01/12A:1- 289, 2001.

FITÓ, M.; GUXENS, M.; CORELLA, D.; SAEZ, G.; ESTRUCH, R. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized,

controlled trial. **Archives of Internal Medicine**, Chicago, v.167, n. 11, p. 1195–1203, 2007.

FOLCH, J., LEES, M.; STANLEY, S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, Boston, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957.

FREITAS, J.B.; NAVES, M.M.V. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 269-279, 2010.

HARTMANN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practices**, Londres, v. 22, n. 6, p. 475-477, 1973.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4ª ed. São Paulo, 2008. 1020p.

JENKINS, D.J.; KENDALL, C.W.; MARCHIE, A.; JOSSE, A.R.; NGUYEN, T.H.; FAULKNER, D.; LAPSELY, K.G.; BLUMBERG, J. Almonds reduce biomarkers of lipid peroxidation in older hyperlipidemic subjects. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 138, n. 5, p. 908-13, 2008.

JENKINS, D.J.; KENDALL, C.W.; MARCHIE, A.; PARKER, T.L.; CONNELLY, P.W.; QIAN, W.; HAIGHT, J.S.; FAULKNER, D.; VIDGEN, E.; LAPSELY, K.G.; SPILLER, G.A. Dose response of almonds on coronary heart disease risk factors: blood lipids, oxidized low density lipoproteins, lipoprotein(a), homocysteine, and pulmonary nitric oxide: a randomized, controlled, crossover trial. **Circulation**, Dallas, v.106, n.10, p. 1327–32, 2002.

JIANG, R.; JACOBS, D.R.; MAYER-DAVIS, E.; SZKLO, M.; HERRINGTON, D.; JENNY, N.S.; KRONMAL, R.; GRAHAM BARR, R. Nut and seed consumption and inflammatory markers in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **American Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 163, n. 3, p. 222–31, 2006.

JOHN, J.A.; SHAHIDI, F. Phenolic compounds and antioxidant activity of Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). **Journal of Functional Foods**, Shanghai, v. 2, n. 3, p. 196-209, 2010.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 1^a ed., São Paulo, Plantarum, 1992. 352p.

MACHADO, S.S; BUENO, P.R.M.; OLIVEIRA, M.B.; MOURA, C.J. Concentração de chumbo em alface cultivada com diferentes adubos orgânicos. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 10, n. 1, p. 63-70, 2008.

PANTANO, A. P. Sapucaia – *Lecythis ollaria* ou *L. pisonis*. Disponível em: <http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/A47sapucaia.htm>. Accessed em: 01 de jun. 2010.

ROS, E.; MATAIX, J. Fatty acid composition of nuts – implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition**, Cambrigde, v. 96, n. 2, p. 29–35, 2006.

ROS, E. Nuts and novel biomarkers of cardiovascular disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 89, p. 1649-1656, 2009.

ROSA, J. C.; IZUMI, C.; BELTRAMINI-SABBAG, L. M.; GREENE, L. J. Quantitative HPLC analysis of phenylisothio-carbamyl-amino acids at picomol levels. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 30, n. 1, p. 35, 1987.

RYAN, E.; GALVIN, K.; O'CONNOR, T.P.; MAGUIRE, A.R.; O'BRIEN, N.M. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, London, v. 57, n. 3, p. 219-228, 2006.

SINHA, R.; RADHA, C.; PRAKASH, J.; KAUL, P. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, Barking, v. 101, n. 4, p. 1484-1491, 2007.

SOUZA, V.A.B.; CARVALHO, M.G.; SANTOS, K.S.; FERREIRA, C.S. Características físicas de frutos e amêndoas e características químico-nutricionais de amêndoas de acessos de sapucaia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 4, p. 946-952, 2008.

VALLILO, M.I.; TAVARES, M.; PIMENTEL, S.A.; CAMPOS, N.C.; MOITA NETO, J.M. *Lecythis pisonis* Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**, Barking, v. 66, p. 197-200, 1999.

VALLILO, M.I.; TAVARES, M.; PIMENTEL, S.A.; BADOLATO, E.S.G.; INOMATA, E.I. Caracterização química parcial das sementes de *Lecythis pisonis* Camb. (SAPUCAIA). **Acta Amazonica**, Manaus, v. 28, n. 2, p. 131-140, 1998.

VENKATACHALAM, M.; SATHE, S.K. Chemical composition of selected edible nut seeds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Washington, v. 54, n. 13, p. 4705-4714, 2006.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **Food Science and Technology**, Oxford, v. 42, p. 1573-1580, 2009.

Efeito da suplementação com castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) nos parâmetros bioquímicos sanguíneos e histológicos em ratos alimentados com dieta de cafeteria.

Efeito da suplementação com castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) nos parâmetros bioquímicos sanguíneos e histológicos em ratos alimentados com dieta de cafeteria.

Resumo

A ingestão de alimentos ricos em vitaminas, minerais e fibras pode influenciar positivamente a saúde. Nesse contexto, destacam-se as castanhas, uma vez que são alimentos ricos em macronutrientes, vitaminas e minerais, além de importantes fontes de compostos bioativos. O consumo regular de castanhas como parte de uma alimentação equilibrada é frequentemente associado à redução do risco de doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e outras enfermidades correlatas. A gênese destas doenças pode estar relacionada a um padrão alimentar caracterizado pelo consumo de alimentos com elevados teores de açúcares, ácidos graxos saturados e ácidos graxos *trans* (dieta ocidental ou dieta de cafeteria). O presente trabalho objetivou avaliar o efeito do consumo de castanha de sapucaia no metabolismo de ratos alimentados com dieta normal e dieta de cafeteria. Foram utilizados ratos *wistar* machos, tratados durante 4 semanas com dieta AIN-93G acrescida ou não de castanha de sapucaia, e com dieta de cafeteria, acrescida ou não de castanha de sapucaia. Foram mensurados semanalmente as concentrações sanguíneas de glicose, colesterol total, HDL-colesterol e triacilgliceróis. Além disso, o acúmulo de lipídios no tecido hepático foi avaliado histologicamente. Foi observado que a adição de castanha de sapucaia à dieta normal, durante 4 semanas, não alterou significativamente os parâmetros bioquímicos e histológicos avaliados. Em relação à dieta de cafeteria, a adição de castanha de sapucaia foi benéfica, uma vez que reduziu significativamente as concentrações séricas de glicose e de colesterol total, além de aumentar as concentrações séricas de HDL-colesterol. Em relação aos parâmetros histológicos, a adição da castanha de sapucaia não provocou alterações significativas no tecido hepático dos animais alimentados com dieta normal ou dieta de cafeteria.

1. Introdução

As castanhas são alimentos ricos em ácidos graxos insaturados, vitaminas antioxidantes e compostos bioativos. O consumo regular de castanhas tem sido frequentemente associado à redução do risco de doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, e outras enfermidades associadas a processos inflamatórios crônicos (Doenças Crônicas Não Transmissíveis – DCNT) (Jiang et al., 2006; Alexiadou et al, 2011; Kendall et al, 2011; Russo et al., 2012; Vadivel et al, 2013; Mitjavila et al., 2013;). Esta associação surgiu após observações e estudos realizados nas populações que ingerem a dieta do Mediterrâneo, a qual inclui um grupo variado de oleaginosas como alimentos de consumo regular. Observou-se que nestas populações, a prevalência de DCTN era particularmente menor do que em outras regiões do mundo (Casas-Agustench et al, 2011; Upi-Sarda et al, 2012; Mitjavila et al., 2013). Entre os benefícios associados à dieta do Mediterrâneo, estão a redução das concentrações séricas de colesterol total e LDL colesterol, o aumento da concentração sérica do HDL colesterol, melhora da resistência à insulina e redução de marcadores inflamatórios associados às DCNT (Carvalho et al., 2012; Kesse-Guyot et al., 2012; Upi-Sarda et al, 2012; Mitjavila et al., 2013).

De maneira geral, além das castanhas, fazem parte da dieta do Mediterrâneo alimentos fontes de ácidos graxos insaturados e compostos antioxidantes, como azeite de oliva, pescado, frutas vermelhas, frutas secas (Bonaccio et al., 2013; Zamora-Ros et al., 2013). Este padrão alimentar difere consideravelmente da dieta ocidental, uma vez que esta é caracterizada pelo consumo de alimentos com elevados teores de açúcares, ácidos graxos saturados e ácidos graxos *trans*, além do baixo consumo de fibras. Contrariando os benefícios associados à dieta do Mediterrâneo, o padrão alimentar ocidental é cada vez mais associado ao aumento do risco de ocorrência de DCTN (Novello et al., 2008; Ferreira, 2010; Llorente-Cortés et al., 2010; Fett et al., 2010).

Recentemente, modelos experimentais têm simulado os efeitos da dieta ocidental em animais. Dietas hipercalóricas e hiperlipídicas, dieta

ocidental, dieta de cafeteria ou do tipo *fast food* são capazes de induzir fatores de risco para DCNT, como obesidade, alterações no perfil lipídico e inflamação, em modelos experimentais (Kretschmer et al., 2005; Burneiko et al., 2006). Essas dietas, além do valor aumentado de energia, têm baixo valor nutritivo por serem ricas em carboidratos e lipídios (Kretschmer et al., 2005; Scoaris et al., 2010).

A castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) é uma castanha nativa do Brasil, pertencente à família Lecythidaceae, originária de regiões de Floresta Pluvial Atlântica. A árvore de sapucaia é de grande porte, podendo atingir cerca de 20 a 40 metros de altura. Seus frutos são pesados e resistentes, produzindo uma média de 20 castanhas por fruto. Um quilograma destas sementes fornece aproximadamente 180 sementes e pode substituir, em igualdade de condições, as nozes, amêndoas ou castanhas comuns, prestando-se como ingrediente para a culinária em geral. Atualmente, os maiores consumidores de castanhas de sapucaia ainda são os animais, principalmente morcegos e macacos. (Lorenzi, 1995).

Estudos anteriores realizados com as amêndoas da sapucaia revelaram teores lipídico e proteico um pouco maiores do que os da castanha-do-brasil, variando entre 61 e 66%, e de 19,6 a 20,5%, respectivamente. O perfil de ácidos graxos mostra elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente o ácido linoléico (em média 47% enquanto a castanha-do-pará possui em média 21%), um ácido graxo essencial. Em relação aos minerais, análises de castanhas de sapucaia coletadas no estado do Piauí, demonstraram valores também superiores aos da castanha-do-pará para cálcio, potássio, magnésio, cobre e manganês. Quanto às vitaminas, as castanhas de sapucaia nativas do estado de São Paulo destacam-se pelo teor elevado de vitamina C e riboflavina em relação à castanha-do-pará. (Vallilo et al., 1999; UNICAMP, 2006; Denadai et al., 2007; Souza et al., 2008; Yang, 2009).

As castanhas de sapucaia utilizadas no presente trabalho foram coletadas na região da Zona da Mata do estado de Minas Gerais e

apresentam a seguinte composição centesimal: 54,8% de lipídios; 26,82% de proteínas; 5,01% de carboidratos; 3,17% de cinzas e 10,2% de umidade. Quanto ao perfil lipídico, 43,1% são ácidos graxos polinsaturados, 41,7% ácidos graxos monoinsaturados e 15,2% ácidos graxos saturados. Os minerais fósforo, magnésio e manganês se destacam pelos elevados teores, 941; 343 e 4,8 mg. 100⁻¹, respectivamente (Carvalho et al., 2012)

Considerando os potenciais benefícios à saúde, associados ao consumo de castanhas, sobretudo nos fatores de risco para DCNT, o presente estudo avaliou os efeitos da adição de castanha de sapucaia às dietas normal e de cafeteria, sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos e histológicos, em ratos.

2. Materiais e Métodos

2.1. Animais e Desenho Experimental

Foram utilizados 96 ratos albinos machos da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, com 30 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os animais foram mantidos em 4 tempos diferentes: 1 semana, 2 semanas, 3 semanas e 4 semanas. Em cada tempo os animais foram distribuídos em 4 grupos de 6 animais, os quais receberam dietas normal (AIN93-G) e de cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia, conforme detalhado na Tabela 1.

Tabela 1: Tempos de tratamentos, grupos experimentais e tratamentos.

Tempo de tratamento	Tempo (T) e Grupo (G)	Tratamento
1 semana	T1-G1	Dieta AIN93-G
	T1-G2	Dieta AIN93-G + castanha
	T1-G3	Dieta de Cafeteria
	T1-G4	Dieta de Cafeteria + castanha
2 semanas	T2-G1	Dieta AIN93-G
	T2-G2	Dieta AIN93-G + castanha

3 semanas	T2-G3	Dieta de Cafeteria
	T2-G4	Dieta de Cafeteria + castanha
	T3-G1	Dieta AIN93-G
	T3-G2	Dieta AIN93-G + castanha
	T3-G3	Dieta de Cafeteria
4 semanas	T3-G4	Dieta de Cafeteria + castanha
	T4-G1	Dieta AIN93-G
	T4-G2	Dieta AIN93-G + castanha
	T4-G3	Dieta de Cafeteria
	T4-G4	Dieta de Cafeteria + castanha

Os animais foram acondicionados em gaiolas coletivas (Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde - UFV), mantidas em ambiente controlado, com temperatura entre 22 – 25°C, ciclos claro-escuro de 12 horas por dia, recebendo dietas e água *ad libitum*.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (CEEa/UFJF) – protocolo nº 036/2011 (Anexo I).

2.2. Dietas experimentais

Os animais do G1 receberam dieta AIN-93G (Revees, et al., 1993), e os animais do G2 receberam a dieta AIN-93G acrescida da castanha de sapucaia. A densidade calórica destas dietas foi de aproximadamente 3,95 kcal/g, sendo que as duas apresentaram a mesma proporção de carboidratos (62,95%), proteínas (20,0%) e lipídios (17,05%), de acordo com a rotulagem dos ingredientes (Rhoster®) utilizados na formulação da dieta e a tabela de composição de alimentos - Taco (Unicamp, 2006). As dietas foram preparadas semanalmente e mantidas sob refrigeração a 4°C para evitar a oxidação. A composição das dietas experimentais AIN-93 está detalhada na Tabela 2.

Tabela 2: Composição das dietas AIN-93G e AIN-93G acrescida de castanha de sapucaia.

Ingrediente	Dieta AIN-93G	Dieta AIN-93G + Castanha de sapucaia
Caseína (81,50%)	200,00 g	192,20 g
Amido Dextrinizado	132,00 g	132,00 g
Sacarose	100,00 g	100,00 g
Óleo de soja	70,00 g	54,00 g
Celulose microcristalina	50,00 g	50,00 g
Mistura mineral	35,00 g	35,00 g
Mistura de vitaminas	10,00 g	10,00 g
L-Cistina	3,00 g	3,00 g
Colina	2,50 g	2,50 g
Castanha de sapucaia	-	29,40 g
Amido de milho	q.s.p. 1.000 g	q.s.p. 1.000 g
Densidade calórica	3,95 kcal/g	3,96 kcal/g

Para a indução do aumento de peso nos animais foi utilizada uma dieta do tipo cafeteria, hipercalórica, manipulada no laboratório. Sua composição foi constituída dos seguintes alimentos: patê de presunto, batata palha, bacon, mortadela, biscoito maisena, achocolatado, leite em pó integral e ração comercial nas proporções de 2:1:1:1:1:1:1. O grupo G3 recebeu dieta de cafeteria e o grupo G4 recebeu a dieta de cafeteria acrescida de castanha de sapucaia. Baseando-se em um consumo humano habitual de 3 (três) castanhas por dia, foram realizados cálculos para simular este padrão de ingestão nos animais, a partir de informações nutricionais da castanha de sapucaia obtidas no presente estudo (Carvalho et al., 2012). Para estes cálculos, foi utilizada a referência de um indivíduo adulto, do sexo masculino, de peso corporal de 70 kg, recebendo 2000 kcal por dia. Foram usadas as seguintes informações:

➔ 3 castanhas = 15 g = 93,08 kcal, que equivalem a 4,65% de 2000 kcal.

Portanto, o consumo de 15 g de castanha de sapucaia por dia corresponde a 4,65% do valor energético total (VET) de uma dieta de 2000

kcal. A partir desta informação, à dieta de cafeteria do grupo G4 foram adicionados 5,22 g de castanha de sapucaia por 100 g de dieta.

A composição em macronutrientes da dieta de cafeteria, acrescida ou não de castanha, foi de aproximadamente 31,34% de carboidratos, 9,82% de proteínas e 58,84% de lipídios, e suas densidades calóricas foram de 6,91 e 6,94, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3: Composição das dietas de Cafeteria e Cafeteria acrescida de castanha de sapucaia.

Ingrediente	Dieta de Cafeteria	Dieta de Cafeteria + Castanha de Sapucaia
Patê de presunto	222,22 g	215,7 g
Batata palha	111,11 g	104,61 g
Bacon	111,11 g	104,61 g
Mortadela	111,11 g	104,61 g
Biscoito maisena	111,11 g	104,61 g
Achocolatado	111,11 g	104,61 g
Leite em pó integral	111,11 g	104,61 g
Ração comercial	111,11 g	104,61 g
Castanha de sapucaia	-	52,2 g
Densidade calórica	6,94 kcal/g	6,92 kcal/g

2.3. Ganho de peso e Consumo Alimentar

O ganho de peso foi avaliado registrando-se o peso de todos os animais no início do experimento e ao final de cada semana de tratamento. O consumo alimentar foi avaliado diariamente pela diferença entre a reposição e a sobra de dieta no comedouro das gaiolas.

2.4. Análises Bioquímicas séricas

Ao final de cada tempo, após jejum de 12 horas, os animais foram eutanasiados sob anestesia com quetamina (25 mg/Kg IM) e xilazina (2

mg/Kg IM). Neste momento foram coletados sangue, fígado e tecido adiposo (gordura epididimal, retroperitoneal e visceral).

Para realização das análises bioquímicas sanguíneas, o sangue foi centrifugado a 1000g durante 10 minutos para obtenção do soro. As dosagens séricas foram realizadas em analisador automático BS-200, utilizando-se Kits Bioclin® específicos para colesterol total, glicose, colesterol HDL, glicose e triacilgliceróis.

2.5. Morfometria Hepática

Para as análises morfométricas do tecido hepático, os fígados retirados foram pesados e, em seguida, fragmentos foram fixados em formol a 10% V/V tamponado. Após 24 horas, os fragmentos foram desidratados em série crescente de alcoóis de 70 a 100%, diafanizados em xilol e incluídos em parafina histológica. Em seguida foram feitos cortes de 5 µm de espessura corados com hematoxilina e eosina (HE). Dez campos aleatórios em cada corte histológico foram fotografados para identificação do fragmento e posteriores análises morfométricas.

2.6. Estatística

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do *software* Sigma Plot, versão 11.0. Foi realizada análise descritiva dos dados e testes de comparação de grupos independentes, entre os tratamentos. Para avaliar a diferença entre os grupos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância <0,05.

3. Resultados

3.1. Ganho de peso e Consumo alimentar

As tabelas 4, 5, 6 e 7 apresentam os dados de ganho de peso e de consumo alimentar dos grupos experimentais tratados durante 1, 2, 3 e 4 semanas respectivamente.

Tabela 4: Pesos e consumos de dietas de ratos Wistar tratados com dietas AIN-93G e cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia durante **1 semana**.

Grupo	Peso dos animais (g)			Consumo diário por animal (g)
	Inicial	Final	Ganho	
G1	95,48±2,30 ^a	138,83±11,01 ^a	43,35±13,04 ^a	26,70±7,98 ^a
G2	99,87±3,90 ^a	148,50±10,36 ^a	48,63±12,72 ^a	26,27±6,60 ^a
G3	100,30±2,19 ^a	146,67±13,02 ^a	46,37± 6,77 ^a	27,54±4,73 ^a
G4	98,11±4,01 ^a	147,50±10,31 ^a	49,39± 8,31 ^a	24,31±5,28 ^a

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (Teste de Tukey de Mann-Whitney, $p < 0,05$). **G1**: dieta AIN-93G; **G2**: dieta AIN-93G + castanha de sapucaia; **G3**: dieta de cafeteria; **G4**: dieta de cafeteria + castanha de sapucaia.

Tabela 5: Pesos e consumos de dietas de ratos Wistar tratados com dietas AIN-93G e cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia durante **2 semanas**.

Grupo	Peso dos animais (g)			Consumo diário por animal (g)
	Inicial	Final	Ganho	
G1	101,06±3,03 ^a	196,16±17,41 ^a	95,10±19,89 ^a	26,60±7,02 ^b
G2	98,32 ±2,96 ^a	195,17±19,06 ^a	96,85±16,46 ^a	29,54±4,36 ^b
G3	99,18 ±2,78 ^a	197,00±14,32 ^a	97,82±14,46 ^a	32,73±6,05 ^a
G4	98,68 ±1,98 ^a	193,00±15,99 ^a	94,32±11,86 ^a	25,40±5,12 ^b

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (Teste de Tukey de Mann-Whitney, $p < 0,05$). **G1**: dieta AIN-93G; **G2**: dieta AIN-93G + castanha de sapucaia; **G3**: dieta de cafeteria; **G4**: dieta de cafeteria + castanha de sapucaia.

Tabela 6: Pesos e consumos de dietas de ratos Wistar tratados com dietas AIN-93G e cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia durante **3 semanas**.

Grupo	Peso dos animais (g)			Consumo diário por animal (g)
	Inicial	Final	Ganho	
G1	98,23±2,58 ^a	227,50±10,75 ^a	129,27±12,75 ^a	32,26±9,26 ^a
G2	98,73±1,95 ^a	236,30±15,34 ^a	137,60±16,62 ^a	30,60±8,35 ^a
G3	95,30±3,45 ^a	241,17±25,31 ^a	145,87±28,44 ^a	29,04±6,44 ^a
G4	93,97±3,97 ^a	238,83±39,08 ^a	144,86±43,04 ^a	27,80±6,15 ^a

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (Teste de Tukey de Mann-Whitney, $p < 0,05$). **G1**: dieta AIN-93G; **G2**: dieta AIN-93G + castanha de sapucaia; **G3**: dieta de cafeteria; **G4**: dieta de cafeteria + castanha de sapucaia.

Tabela 7: Pesos e consumos de dietas de ratos Wistar tratados com dietas AIN-93G e cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia durante **4 semanas.**

Grupo	Peso dos animais			Consumo diário por animal (g)
	Inicial	Final	Ganho	
G1	95,73± 3,76 ^a	248,00±10,59 ^b	152,27±12,49 ^b	26,56± 6,24 ^b
G2	94,78± 2,53 ^a	255,67± 9,35 ^b	160,89± 8,14 ^b	30,21± 7,23 ^a
G3	95,33± 2,77 ^a	282,00±22,40 ^a	186,67±26,88 ^a	32,62± 9,39 ^a
G4	100,95±1,79 ^a	288,33±12,98 ^a	187,38±11,54 ^a	32,21± 5,06 ^a

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (Teste de Tukey de Mann-Whitney, $p < 0,05$). **G1**: dieta AIN-93G; **G2**: dieta AIN-93G + castanha de sapucaia; **G3**: dieta de cafeteria; **G4**: dieta de cafeteria + castanha de sapucaia.

Foi observado um ganho de peso significativo apenas na quarta semana de tratamento, nos grupos que receberam dieta de cafeteria com e sem castanha de sapucaia. Este dado demonstra que a dieta de cafeteria administrada pelo período de 4 semanas foi eficaz em elevar o peso dos animais, sugerindo ser este o período mínimo para que haja aumento de peso significativo em ratos alimentados com dieta de cafeteria de composição semelhante à do presente trabalho.

Em relação ao consumo alimentar, foi observado aumento significativo somente na segunda semana de tratamento no grupo alimentado com dieta de cafeteria. Já na quarta semana de tratamento, o grupo que recebeu dieta AIN-93G apresentou consumo significativamente menor em relação aos demais grupos. Os demais grupos e tempos de tratamento não apresentaram alterações significativas no padrão de consumo alimentar.

3.2. Parâmetros Bioquímicos

As concentrações séricas de glicose, colesterol total, HDL-colesterol e triacilgliceróis avaliadas durante as 4 semanas de experimento estão representadas na tabela 8.

Tabela 8: Concentrações séricas de glicose (mg/dL), colesterol total (mg/dL), HDL colesterol (mg/dL) e triacilgliceróis (mg/dL) dos grupos (G) de animais que consumiram, durante 4 semanas, dietas normal e de cafeteria, com e sem castanha de sapucaia.

Tempo e Tratamento	Parâmetro bioquímico			
	Glicose	Colesterol total	HDL-c	Triacilgliceróis
1 semana				
G1.1	99,7 ± 14,0 ^c	78,3 ± 10,6 ^b	28,8 ± 2,2 ^a	59,2 ± 16,1 ^b
G2.1	105,7 ± 10,5 ^c	81,1 ± 10,3 ^b	28,6 ± 2,7 ^a	75,3 ± 3,1 ^a
G3.1	139,7 ± 14,5 ^{a*}	99,0 ± 15,6 ^a	26,5 ± 3,1 ^a	114,7 ± 11,2 ^a
G4.1	129,6 ± 8,1 ^b	95,3 ± 12,8 ^a	28,7 ± 4,1 ^a	84,0 ± 18,3 ^a
2 semanas				
G1.2	118,6 ± 4,7 ^b	64,7 ± 4,1 ^b	28,7 ± 4,5 ^a	80,7 ± 12,4 ^a
G2.2	124,1 ± 3,6 ^b	73,7 ± 2,5 ^b	28,1 ± 1,7 ^a	73,5 ± 18,1 ^a
G3.2	133,1 ± 1,1 ^a	95,3 ± 16,8 ^a	26,3 ± 2,0 ^a	92,3 ± 4,1 ^a
G4.2	123,2 ± 3,6 ^b	75,3 ± 3,2 ^b	26,0 ± 1,4 ^a	69,5 ± 12,9 ^b
3 semanas				
G1.3	133,3 ± 6,6 ^a	72,3 ± 9,2 ^b	28,5 ± 2,3 ^a	74,5 ± 14,6 ^a
G2.3	133,7 ± 10,4 ^a	88,3 ± 14,1 ^b	29,3 ± 0,7 ^a	78,1 ± 10,1 ^a
G3.3	137,1 ± 4,9 ^{a*}	94,3 ± 14,2 ^a	22,5 ± 1,7 ^{b*}	81,0 ± 16,1 ^a
G4.3	121,3 ± 8,3 ^b	71,0 ± 11,7 ^b	22,6 ± 1,5 ^b	77,2 ± 13,1 ^a
4 semanas				
G1.4	127,7 ± 1,5 ^b	76,2 ± 2,5 ^b	29,3 ± 2,1 ^a	88,3 ± 7,5 ^a
G2.4	123,1 ± 4,3 ^b	76,6 ± 1,5 ^b	32,3 ± 1,1 ^{a*}	80,7 ± 8,3 ^a
G3.4	136,1 ± 19,1 ^{a*}	92,3 ± 4,7 ^a	25,3 ± 1,5 ^b	98,1 ± 2,1 ^a
G4.4	123,3 ± 2,5 ^b	78,7 ± 1,1 ^b	31,0 ± 3,1 ^a	85,7 ± 5,1 ^a

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (Teste de Tukey de Mann-Whitney, $p < 0,05$); * $p < 0,001$. **G1**: dieta AIN-93G; **G2**: dieta AIN-93G + castanha de sapucaia; **G3**: dieta de cafeteria; **G4**: dieta de cafeteria + castanha de sapucaia.

A figura 1 apresenta os gráficos de evolução dos parâmetros bioquímicos nos diferentes grupos de tratamento, no decorrer das 4 semanas experimentais.

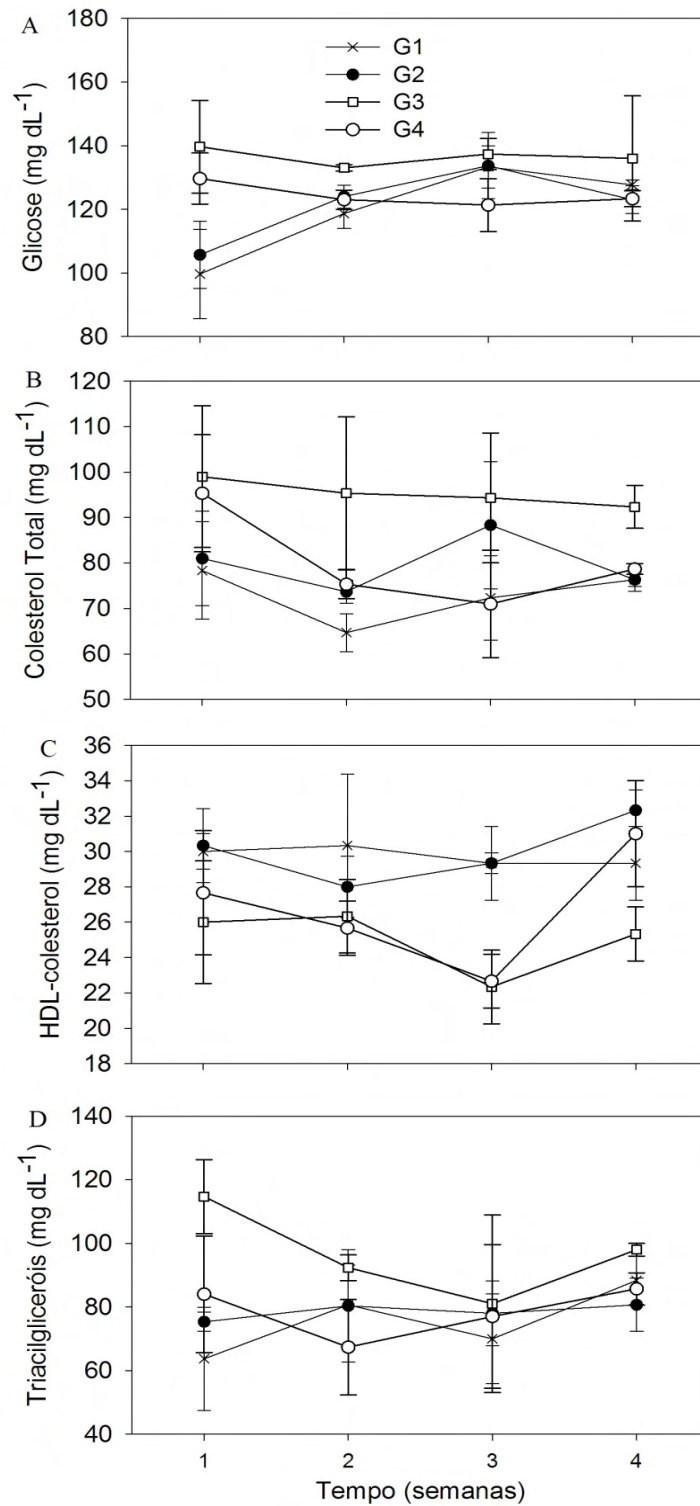


Figura 1: Evolução das concentrações plasmáticas dos parâmetros bioquímicos glicose (A), colesterol total (B), HDL-colesterol (C) e triacilgliceróis (D), em ratos tratados com dieta AIN-93G (G1); Dieta AIN-93G + castanha de sapucaia (G2); Dieta de cafeteria (G3); dieta de cafeteria + castanha de sapucaia (G4).

Em relação às concentrações séricas de glicose e de colesterol total, observa-se que a dieta de cafeteria provocou um aumento significativo, o qual foi mantido durante o experimento. A adição de castanha de sapucaia à dieta de cafeteria alterou positivamente as concentrações destes parâmetros sanguíneos, uma vez que, as concentrações séricas de glicose e colesterol total no G4 foram estatisticamente iguais aos grupos que receberam dieta AIN-93G (G1 e G2), durante as quatro semanas de experimento.

As concentrações séricas de HDL-colesterol (HDL-c) foram estatisticamente menores no grupo que recebeu dieta de cafeteria a partir da terceira semana de experimento. Nota-se que a adição de castanha de sapucaia à dieta de cafeteria provocou alterações positivas em relação a este parâmetro, uma vez que, após uma queda de sua concentração observada em G4 na terceira semana, na quarta semana as concentrações séricas de HDL-c voltaram a aumentar, igualando-se novamente aos grupos G1 e G2. É importante ressaltar que, na quarta semana experimental, os grupos que receberam castanha de sapucaia (G2 e G4) apresentaram concentrações séricas de HDL-c especialmente maiores em relação aos demais.

Em relação aos valores encontrados para triacilgliceróis, observou-se uma redução significativa em suas concentrações nos grupos G1 e G4 na primeira e na segunda semana de experimento, respectivamente. Nos demais tempos avaliados não houve alterações significativas em relação a este parâmetro.

3.3. Histomorfometria Hepática

Na análise histomorfométrica do tecido hepático, foram quantificados hepatócitos com e sem depósito de lipídios, e sinusóides (Figuras 2 e 3), cujas proporções avaliam quantitativamente estes constituintes do órgão. Os resultados estão expressos na Tabela 9.

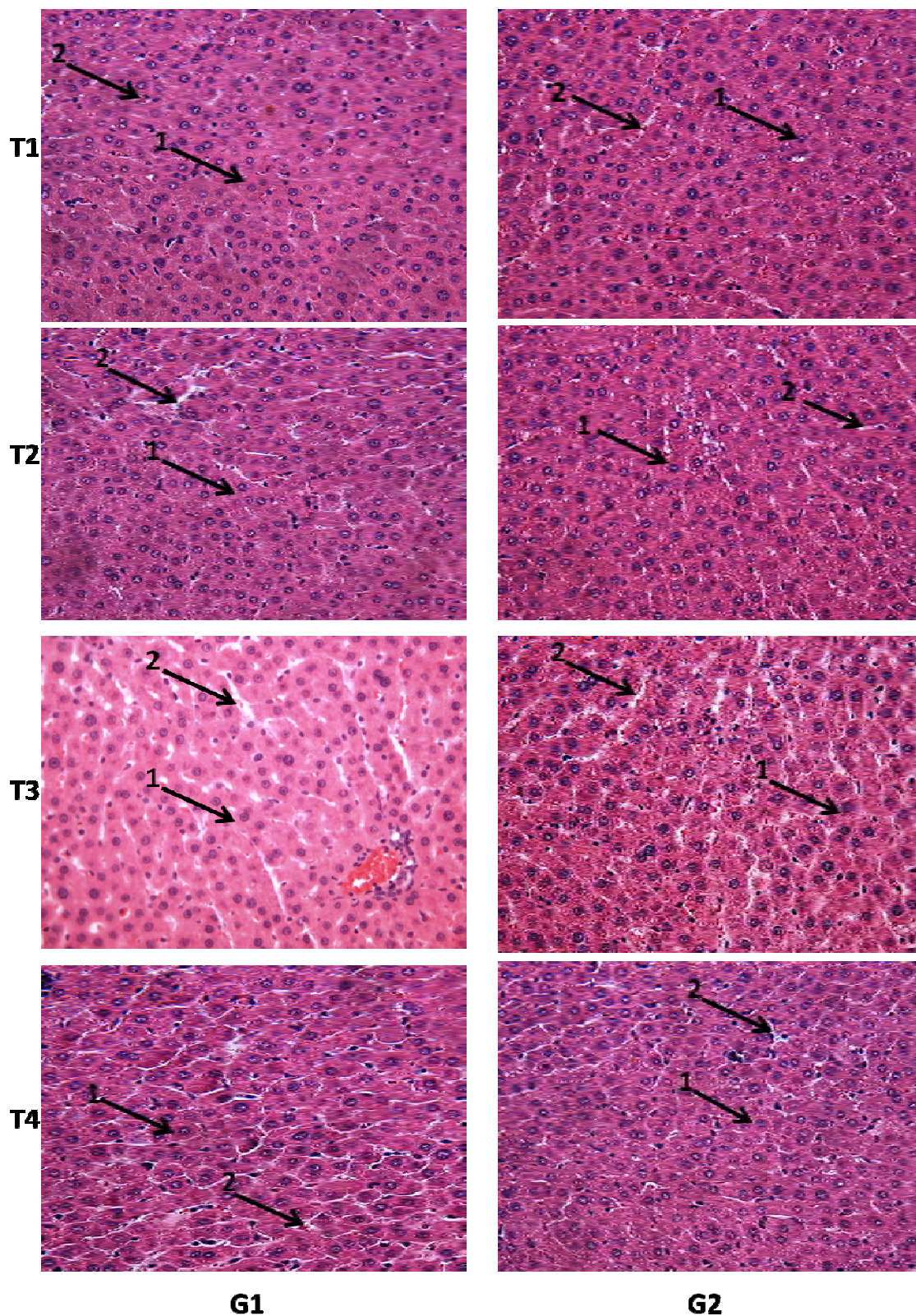


Figura 2: Tecidos hepáticos de animais tratados com dieta AIN-93G (G1) e dieta AIN-93G + castanha de sapucaia (G2) durante 4 semanas (T1, T2, T3 e T4). Setas indicam hepatócitos normais (1) e sinusóides (2). Aumento de 200X – HE.

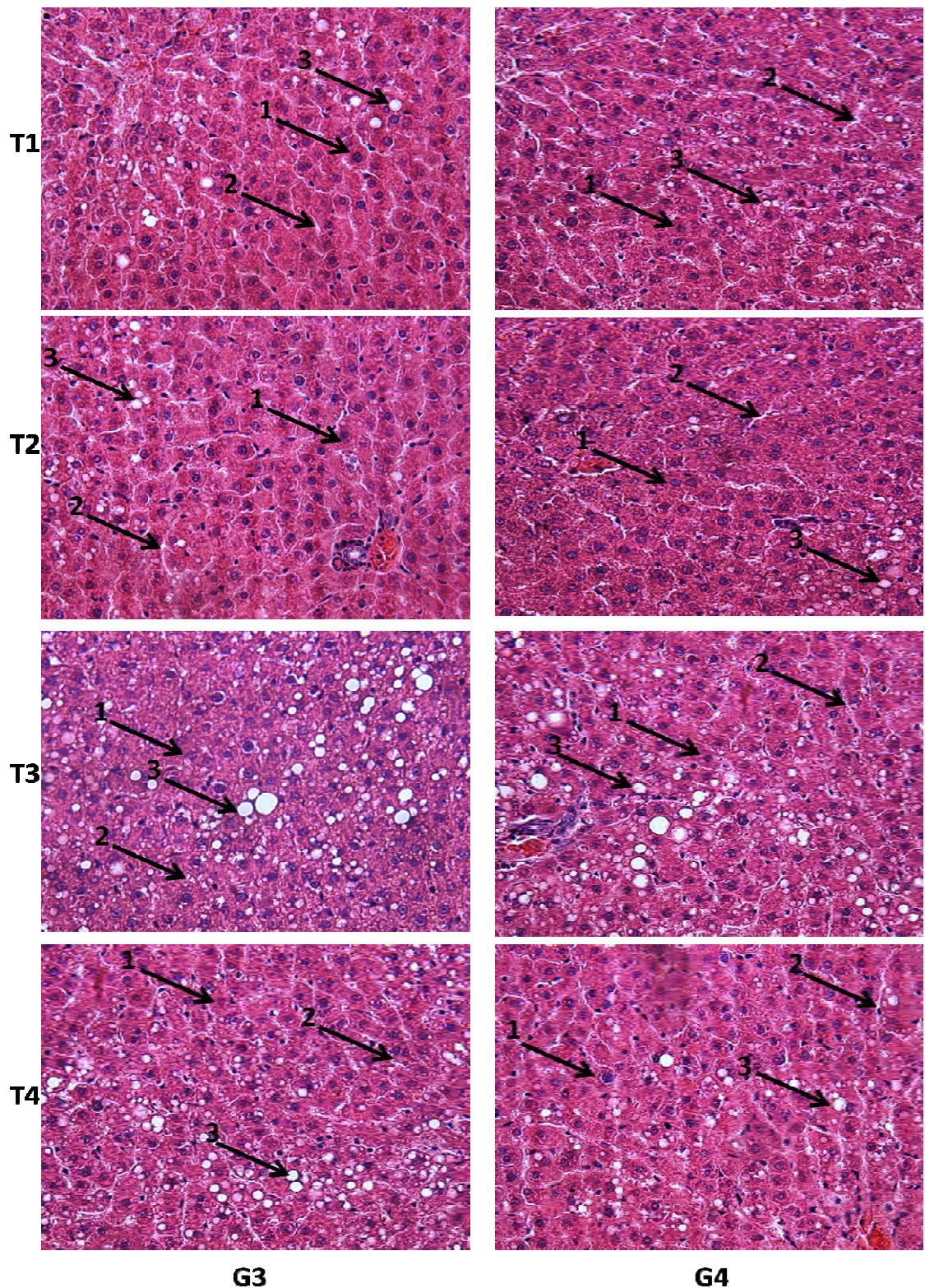


Figura 3: Tecidos hepáticos de animais tratados com dieta de cafeteria (G3) e dieta de cafeteria + castanha de sapucaia (G4) durante 4 semanas (T1, T2, T3 e T4). Setas indicam hepatócitos normais (1), sinusóides (2) e hepatócitos com depósito de lipídios (3). Aumento de 200X – HE.

Observa-se na figura 2 que o tecido hepático dos animais alimentados com dieta de cafeteria, com ou sem castanha de sapucaia, apresenta um grande acúmulo de gotículas lipídicas em seu citoplasma, conforme indicado pelas setas acompanhadas do número “3”.

Especialmente na terceira e na quarta semana do experimento, observa-se o aumento dos depósitos de lipídios nos hepatócitos dos animais dos grupos que receberam dieta de cafeteria acrescida ou não de castanha de sapucaia.

Tabela 9: Histomorfometria percentual (média $\pm$ desvio padrão da média) de elementos do parênquima lobular (hepatócitos com e sem depósitos de lipídios, sinusóides) de fígado de ratos alimentados durante 4 semanas com dietas AIN-93G e de cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia.

Tempo e Tratamento	Parênquima Lobular		
	Hepatócitos sem depósito de lipídios (%)	Hepatócitos com depósito de lipídios (%)	Sinusóides (%)
1 semana			
G1.1	90,07 $\pm$ 1,27 ^a	0,00 ^d	10,33 $\pm$ 1,96 ^c
G2.1	90,03 $\pm$ 0,40 ^a	0,00 ^d	9,93 $\pm$ 0,37 ^c
G3.1	80,23 $\pm$ 0,28 ^b	6,37 $\pm$ 0,70 ^c	13,27 $\pm$ 0,40 ^b
G4.1	82,37 $\pm$ 1,51 ^b	4,43 $\pm$ 0,50 ^c	13,27 $\pm$ 0,23 ^b
2 semanas			
G1.2	88,96 $\pm$ 0,60 ^a	0,00 $\pm$ ^d	10,93 $\pm$ 0,60 ^b
G2.2	87,73 $\pm$ 1,60 ^a	0,00 $\pm$ ^d	12,17 $\pm$ 1,60 ^b
G3.2	81,76 $\pm$ 1,02 ^b	5,57 $\pm$ 0,70 ^c	12,56 $\pm$ 1,26 ^b
G4.2	79,93 $\pm$ 1,27 ^b	5,03 $\pm$ 2,04 ^c	14,63 $\pm$ 1,05 ^b
3 semanas			
G1.3	88,87 $\pm$ 0,66 ^a	1,07 $\pm$ 0,68 ^d	10,03 $\pm$ 0,61 ^c
G2.3	87,03 $\pm$ 1,22 ^a	1,30 $\pm$ 0,26 ^d	11,23 $\pm$ 2,70 ^b
G3.3	75,50 $\pm$ 4,73 ^b	12,53 $\pm$ 1,12 ^b	12,97 $\pm$ 0,25 ^b
G4.3	74,47 $\pm$ 0,90 ^b	11,97 $\pm$ 3,35 ^b	12,67 $\pm$ 1,74 ^b
4 semanas			
G1.4	86,47 $\pm$ 2,10 ^a	1,60 $\pm$ 0,69 ^d	12,43 $\pm$ 2,06 ^b
G2.4	86,10 $\pm$ 0,72 ^a	1,70 $\pm$ 0,45 ^d	12,06 $\pm$ 0,97 ^b
G3.4	51,70 $\pm$ 1,25 ^c	29,43 $\pm$ 0,61 ^a	18,76 $\pm$ 1,25 ^a
G4.4	54,93 $\pm$ 2,32 ^c	27,27 $\pm$ 0,63 ^a	17,53 $\pm$ 2,10 ^a

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (Teste de Tukey de Mann-Whitney, $p < 0,05$). **G1:** dieta AIN-93G; **G2:** dieta AIN-93G + castanha de sapucaia; **G3:** dieta de cafeteria; **G4:** dieta de cafeteria + castanha de sapucaia.

O grupo que recebeu dieta AIN-93G acrescida de castanha de sapucaia não apresentou alterações significativas em relação ao grupo que recebeu somente dieta AIN-93G, indicando que a adição desta castanha à dieta normal, nas quantidades utilizadas no presente trabalho, não alteraram o acúmulo de lipídios no fígado dos ratos. Nos animais tratados com dieta de cafeteria, com e sem castanha de sapucaia, especialmente na terceira e na quarta semana de experimento, foi observado acúmulo significativo de gordura no tecido hepático.

A figura 4 representa a evolução dos parâmetros histomorfométricos hepáticos avaliados durante as quatro semanas de experimento.

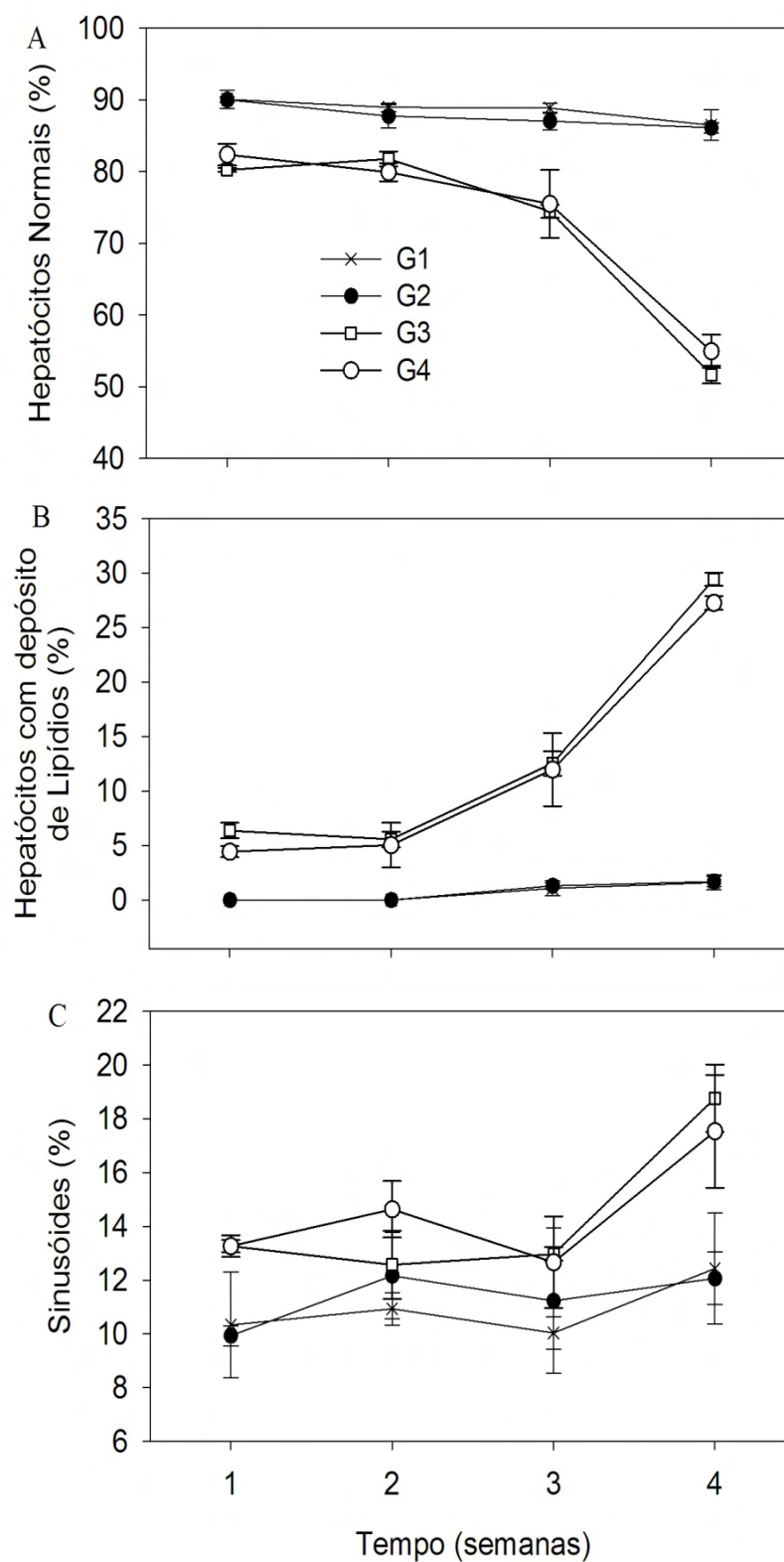


Figura 4: Evolução dos parâmetros histomorfométricos hepáticos de ratos tratados com diferente dietas (A), hepatócitos com depósito de lipídios (B), e sinusóides (C) dieta AIN-93G (G1), dieta AIN-93G + castanha de sapucaia (G2); dieta de cafeteria (G3); dieta de cafeteria + castanha de sapucaia (G4).

4. Discussão

Numerosos estudos clínicos têm sido realizados, especialmente nas ultimas duas décadas, com objetivo de avaliar o efeito do consumo de castanhas sobre o metabolismo de lipídios, glicose e lipoproteínas sanguíneas, considerados importantes fatores de risco para doenças cardiovasculares e enfermidades associadas, como diabetes *mellitus* e outras DCNT. Tais pesquisas ganharam força após observações de estudos epidemiológicos, os quais associaram efeitos benéficos do consumo de castanhas à redução do risco de diferentes DCNT. É importante ressaltar que, tanto estudos clínicos quanto epidemiológicos sobre o consumo de castanhas, têm demonstrado resultados favoráveis em diferentes grupos avaliados, como diferentes populações, homens e mulheres de diferentes idades, diferentes tipos de dietas, portadores ou não de algum tipo de enfermidade associada ao metabolismo lipídico ou outras DCNT (Kocyigit et al., 2006; Tapsell et al., 2004; Strunz et al., 2008; Alexiadou et al., 2011; Casas-Augustench et al., 2011; Fernandes, 2011; Kendall et al., 2011; Cominetti et al., 2012; Russo et al., 2012; Vadivel et al., 2012; Nergiz-Ünal et al., 2013).

Com o intuito de se detalhar um pouco mais os mecanismos de ação do consumo de castanhas sobre o metabolismo, estudos com animais, especialmente camundongos e ratos, têm sido extensivamente realizados, uma vez que estes modelos permitem procedimentos relativamente mais invasivos em relação aos estudos com humanos.

Nesse contexto, diversos modelos genéticos de obesidade, como camundongos *ob/ob*, camundongos *db/db*, rata Zucker *fa/fa*, rato amarelo (*agouti*), entre outros, têm contribuído significativamente para o entendimento de mecanismos genéticos e fisiológicos envolvidos na patogênese da obesidade e suas enfermidades correlatas (Marques-Lopes et al., 2004, Kennedy et al., 2010). Outro modelo de obesidade muito utilizado se baseia na indução da obesidade via dieta, também conhecido como modelo de obesidade exógena, isto é, induzida exogenamente pela

dieta. Tradicionalmente, estes modelos consistem em dietas de elevado teor de gorduras e calorias (*High-Fat Diets - HFD*) quando comparadas às dietas controle (Kennedy et al., 2010; Sampey et al., 2011).

Recentemente, uma variação dos modelos experimentais de obesidade exógena tem ganhado destaque, a denominada dieta de cafeteria (CAF). Tal modelo tem sido reconhecido por reproduzir com mais acurácia a dieta consumida em muitos países ocidentais, caracterizada em parte por alimentos altamente palatáveis, com elevados teores de sódio, gorduras e açúcares, baixo teor de fibras e alta densidade calórica. Este padrão alimentar é cada vez mais associado como sendo um fator de risco para o desenvolvimento da obesidade e outras DCNT, como síndrome metabólica, hipertensão arterial, diabetes *mellitus*, doenças cardiovasculares, dislipidemias, entre outras. A CAF promove hiperfagia voluntária nos animais, o que resulta rapidamente em ganho de peso, aumento o percentual de gordura corporal, especialmente gordura abdominal, elevação das concentrações de lipoproteínas e lipídios sanguíneos, alterações em parâmetros pré-diabéticos (glicose e tolerância à insulina), acúmulo anormal de lipídios no fígado, entre outras alterações (Heyne et al., 2009; Shafat et al., 2009; Sampey et al., 2011). Por estas razões, o presente trabalho optou por utilizar o modelo CAF para induzir modificações metabólicas nos animais, com intuito de verificar o efeito do consumo de castanha de sapucaia sobre tais alterações.

De acordo com os resultados encontrados para os parâmetros bioquímicos, a adição de castanha de sapucaia à dieta AIN-G93 e à dieta de cafeteria promoveu efeito significativamente benéfico em relação às concentrações de glicose, colesterol total e de HDL-c, especialmente na quarta semana de experimento. Várias pesquisas relatam o efeito benéfico do consumo habitual de castanhas sobre as concentrações de glicose e o perfil lipídico sanguíneo, tanto em modelos animais quanto em humanos.

Nergiz-Ünal et al. (2013) avaliaram o efeito do consumo de nozes sobre o metabolismo lipídico de camundongos *Apoe^{-/-}*, e, após 8 semanas de tratamento, observaram reduções de 36% e 23% nas concentrações

plasmáticas de triacilgliceróis e colesterol total, respectivamente, no grupo suplementado com nozes em relação ao grupo que recebeu dieta controle com elevada concentração de gordura (*“high fat control group”*).

Casas-Augustench et al. (2010) avaliaram o efeito da adição de um mix de castanhas (15 g de nozes; 7,5 g de amêndoas e 7,5 g de avelãs) à dieta habitual de indivíduos portadores de síndrome metabólica, durante 12 semanas. Ao final do experimento, foi verificada uma redução significativa nas concentrações de insulina de jejum ($p<0,05$) e a melhora da resistência à insulina ($p<0,05$), avaliada através do índice de HOMA.

Em trabalho realizado com indivíduos saudáveis e indivíduos portadores de diabetes *mellitus* do tipo 2, Kendall et al. (2011) avaliaram o resultado da ingestão de uma mistura de castanhas (amêndoas, macadâmias, nozes, pistaches, avelãs e pecãs, em iguais proporções), em três doses diferentes (30, 60 e 90 g) sobre os parâmetros de resposta glicêmica. As três doses do mix de castanhas testadas foram eficazes em reduzir significativamente ($p<0,001$) a resposta glicêmica relativa, em comparação aos grupos controle que ingeriram pão branco, tanto os normoglicêmicos quanto os diabéticos.

Tapsell et al. (2006) estudaram o efeito da inclusão de 30 g nozes à dieta habitual de indivíduos diabéticos do tipo II, durante 6 meses. Os pesquisadores concluíram que esta modificação na dieta melhorou o perfil lipídico, com aumento significativo das concentrações plasmáticas de HDL-colesterol ($p<0,05$).

Kocyigit et al. (2006) avaliaram a adição de pistache à dieta habitual de homens e mulheres saudáveis, durante 3 semanas. Ao final do período experimental, verificaram redução nas concentrações plasmáticas de colesterol total ($p<0,05$), de LDL-colesterol e de triacilgliceróis, enquanto as concentrações de HDL-c foram significativamente aumentadas ($p<0,001$).

A capacidade das castanhas e outras oleaginosas em modular parâmetros bioquímicos relacionados às DCNT, como glicose e perfil lipídico sanguíneo, se deve, em parte, ao seu perfil nutricional. Devido à sua

composição única, que mescla macro e micronutrientes com compostos bioativos, o consumo frequente de castanhas está relacionado à redução do risco de algumas DCNT, como síndrome metabólica, doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 (Jiang et al., 2006; Jenkins et al., 2008; Freitas et al., 2010).

Particularmente em relação aos efeitos benéficos do consumo de castanhas sobre o perfil lipídico sanguíneo, um mecanismo proposto está relacionado aos fitosteróis. Sugere-se que a melhora do perfil lipídico aconteça em função da estrutura molecular dos fitosteróis, que por ser semelhante à do colesterol, competem com as moléculas de colesterol pela incorporação nas micelas mistas de absorção no trato intestinal (Marangoni e Poli, 2010; Plat e Mesink, 2005).

Apesar de ser crescente o número de estudos que avaliam o efeito do consumo de castanhas sobre parâmetros bioquímicos sanguíneos relacionados às DCNT, não foram encontrados, até o momento, trabalhos publicados na literatura científica que avaliem os efeitos da adição da castanha de sapucaia no metabolismo humano ou animal.

Em relação ao estudo histomorfométrico do fígado, foi observado um acúmulo significativo de gordura no tecido hepático dos animais tratados com dieta de cafeteria, acrescida ou não de castanha de sapucaia.

Segundo Weibel et al. (1969), os dados morfométricos fornecidos pela microscopia de luz em fígados de ratos normais demonstram que, em média, 96% do volume hepático do rato é constituído pelo parênquima lobular, isto é, pelos hepatócitos normais, sinusóides, espaços de Disse e canálculos biliares, enquanto os 4% restantes constituem o estroma não lobular, ou seja, bainhas perivascularobiliares, ramos da artéria hepática, ramos da veia porta e ductos biliares que constituem os espaços portas.

Os resultados encontrados nos grupos G1 e G2 estão em acordo com os dados da literatura para fígados normais de ratos. Já os grupos alimentados com dieta de cafeteria, com ou sem castanha de sapucaia (G4 e G3), apresentaram acúmulo de gotículas lipídicas nos hepatócitos.

O consumo alimentar em excesso pode levar a uma condição conhecida como adiposidade, caracterizada por um acúmulo excessivo de gordura corporal localizada ou em regiões específicas. Tal condição pode levar, com frequência, a desequilíbrios em diversos tecidos no organismo (Barroso et al., 2002). Nesse contexto, o fígado atua como um órgão essencial para a manutenção da homeostase metabólica, indicando o que será utilizado, armazenado ou descartado (Klover et al., 2004). Por esta razão, o tecido hepático passa por inúmeras adaptações em decorrência do componente ou conjunto de componentes predominantes na alimentação, sejam macronutrientes, vitaminas, minerais, fármacos, entre outros (Guyton, 2002). O consumo de uma dieta com alto teor de lipídios resulta no aumento da infiltração e deposição de lipídios no tecido hepático (Sampey et al., 2011). Como observado no presente trabalho, o consumo da dieta de cafeteria, com ou sem castanha de sapucaia, levou a alterações visíveis nos fígados, que apresentaram características de esteatose hepática não alcoólica, devido à visível infiltração e deposição lipídica (MacQueen et al., 2007). A adição de castanha de sapucaia à dieta de cafeteria, portanto, não promoveu alterações significativas nos parâmetros avaliados no tecido hepático.

5. Conclusão

A partir dos resultados encontrados no presente estudo, pode-se concluir que a adição de castanha de sapucaia à dieta normal, na dose administrada e durante o período de 4 semanas, não alterou significativamente os parâmetros bioquímicos e histológicos avaliados. Em relação à dieta de cafeteria, a adição de castanha de sapucaia foi benéfica, uma vez que reduziu significativamente as concentrações séricas de glicose e de colesterol total, além de aumentar as concentrações séricas de HDL-colesterol. Por outro lado, a adição da castanha de sapucaia não provocou alterações significativas no tecido hepático dos animais alimentados com dieta de cafeteria, ou seja, não foi capaz de prevenir, atenuar ou recuperar

as injúrias causadas ao tecido hepático após a ingestão desta dieta, no tempo experimental utilizado.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

6. Referências Bibliográficas

Alexiadou, K; Katsilambros, N. Nuts: Anti-atherogenic food? **European Journal of Internal Medicine**. v.22, p.141-146, 2011.

Barroso, SG; Abreu, VG; Francischetti EA. A participação do tecido adiposo visceral na gênese da hipertensão e doença cardiovascular aterogênica. Um conceito emergente. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.78, p.618-630, 2002.

Bonaccio, M; Di Castelnuovo, A; Constanzo, S; De Lucia, F; Olivieri, M; Conati, MB; et al. Nutrition knowledge is associated with higher adherence to Mediterranean diet and lower prevalence of obesity. Results from the Moli-sani study. **Appetite**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2013.04.026>, 2013.

Burneiko. RCM; Diniz, YS; Galhardi, CM; Rodrigues, HG; Ebaid, GMX; Faine, LA; et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. **Food Chemistry Toxicology**. v.44, p.1167–1172, 2006.

Carvalho, IMM; Queirós, LD; Brito, LF; Santos, FA; Bandeira, AVM; Souza, AL; Queiroz, JH. Caracterização química da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) da região da Zona da Mata mineira. **Bioscience Journal**. v.28, n.6, p.971-977, 2012.

Carvalho, IMM; Queiroz, JQ; Brito, LF; Toledo, RCL; Souza, AL. O consumo de castanhas pode reduzir o risco de processos inflamatórios e doenças crônicas. **Enciclopédia Biosfera**. v.8, n.15, p.1977-1996.

Casas-Agustench, P; Bulló, M; Ros, E; Basora, J; Salas-Salvadó, J. Cross-sectional association of nut intake with adiposity in a Mediterranean population. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, p.1-8, 2009.

Casas-Agustench, P; López-Uriarte, P; Bulló, M; Ros, E; Cabré-Vila, JJ; Salas-Salvadó, J. Effects of one serving of mixed nuts on serum lipids,

insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, p.1-10, 2009.

Casas-Augutench, P; Bulló, M; Ros, E; Basora, J; Salas-Salvadó, J. Cross-sectional association of nut intake with adiposity in a Mediterranean population. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. v.21, p.518-525, 2011.

Cominetti, C; Bertoli, MC; Garrido Jr, A; Cozzolino, SMF. Brazilian nut consumption improves selenium status and glutathione peroxidase activity and reduces atherogenic risk in obese women. **Nutrition Research**. v.32, p.403-407, 2012.

Costa, PA. **Caracterização de ácidos graxos, tocoferóis e fitosteróis em frutas e castanhas das regiões norte e nordeste do Brasil**. Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas – UNICAMP. 2007.

Denadai, S.M.S. **Estudos Nutricional in vivo e in vitro, com ênfase em proteínas antinutricionais e tóxicas de amêndoas e sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.)**. Tese de doutorado. UFMS, Campo Gande-MS. 2006.

Denadai, S.M.S.; Hiane, P.A.; Marangoni, S.; Baldasso, P.A.; Miguel, A.M.R.O.; Macedo, M.L.R. In vitro digestibility of globulins from sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.) nuts by mammalian digestive proteinases. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, p.535-543, 2007.

Estadella, D; Oyama, LM; Damaso, AR; Ribeiro, EB; Oller; Nascimento, CM. Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats. **Nutrition**. v.20, p.218–24, 2004.

Fachin, A; Silva, RK; Noschang, CG; Pettenuzzo, L; Bertinetti, L; Billodre, MN; et al. Stress effects on rats chronically receiving a highly palatable diet are sex- specific. **Appetite**. v.51, p.592–8, 2008.

Fernandes, DC. **Efeito da amêndoa de baru, amendoim e castanha-do-pará no perfil sérico e na peroxidação de lipídios em ratos com dieta hiperlipídica.** Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Goiás – Goiânia. 61p. 2011.

Ferreira, SRG. Alimentação, nutrição e saúde: avanços e conflitos da modernidade. **Revista Alimento.** p.31-34, 2010.

Fett, CA; Fett, WCR; Marchini, JS; Ribeiro, RPP. Estilo de vida e fatores de risco associados ao aumento da gordura corporal de mulheres. **Ciência & Saúde Coletiva.** v.15, p.131-140, 2010.

Freitas, JB; Naves, MMV. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista de Nutrição de Campinas.** v.23, p.269-279, 2010.

Griel, AE; Kris-Etherton, M. Tree nuts and lipid profile: a review of clinical studies. **British Journal of Nutrition.** v.96, p.S68-S78, 2006.

Guyton, A.C.; Hall, J.E. **Tratado de fisiologia médica.** 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

Heyne A, Kiesselbach C, Sahún I *et al.* An animal model of compulsive foodtaking behaviour. **Addiction Biology.** v.14, p.373–383, 2009.

Jenkins, DJ; Kendall, CW; Marchie, A; Josse, AR; Nguyen, TH; Faulkner, D; Lapsely, KG; Blumberg, J. Almonds reduce biomarkers of lipid peroxidation in older hyperlipidemic subjects. **Journal of Nutrition.** v.138, p.908-13, 2008.

Jiang, R.; Jacobs, D.R.; Mayer-Davis, E.; Szklo, M.; Herrington, D.; Jenny, N.S.; Kronmal, R.; Graham Barr, R. Nut and seed consumption and inflammatory markers in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **American Journal of Epidemiology.** v.163, p.222–31, 2006.

Kendall, CWC; Esfahani, A; Josse, AR; Augustin, LSA; Vidgen, E; Jenkins, DJA. The glycemic effect of nut-enriched meals in healthy and diabetic subjects. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. v.21, p.S34-S39, 2011.

Kennedy, AJ; Ellacott, KL; King, VL; Hasty, AH. Mouse models of the metabolic syndrome. **Disease Models & Mechanisms**. v.3, p.156–166, 2010.

Kesse-Guyot, E; Ahluwalia, N; Lassale, C; Hercberg, S; Fezeu, L; Lairon, D. Adherence to Mediterranean diet reduces the risk of metabolic syndrome: A 6-year prospective study. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. v.X, p.1-7, 2012.

Klover, PJ; Mooney, RA. Hepatocytes: Critical for glucose homeostasis. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. v. 36, p.753-758, 2004.

Kocyigit, A.; Koylu, AA; Keles, H. Effects of pistachio nuts consumption on plasma lipid profile and oxidative status in healthy volunteers. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. v.16, p.202-209, 2006.

Kretschmer, BD; Schelling, P; Beier, N; Liebscher, C; Treutel, S; Kruger, N; et al. Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. **Life Science**. v.76, p.1553–1573, 2005.

Llorente-Cortés, V; Estruch, R; Mena, MP; Ros, E; Gonzalez, MAM; Fitó, M; Lamuela-Raventos, RM; Badimon, L. Effect of Mediterranean diet on the expression of pro-atherogenic genes in a population at high cardiovascular risk. **Atherosclerosis**, v.208, p.442–450, 2010.

Lorenzi, H.. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v.1. 1^a Ed. Plantarum, Nova Odessa, SP. 1995.

Macedo, IC; Medeiros, LF; Oliveira, C; Oliveira, CM; Rosisky, JR; Souza, A; et al. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. **Peptides**. v.38, p.189-196, 2012.

Marques-Lopes, I; Marti, A; Moreno-Aliaga, MJ; Martinez, A. Aspectos genéticos da obesidade. **Revista de Nutrição**. v.17, n.3, p.327-338, 2004.

Mitjavila, MT; Fandos, M; Salas-Salvadó, J; Covas, MI; Borrego, S; Estruch, R; et al. The Mediterranean diet improves the systemic lipid and DNA oxidative damage in metabolic syndrome individuals. A randomized, controlled, Trial. **Clinical Nutrition**. v.32, p.172-178, 2013.

Nergiz-Ünal, R; Kuijpers, MJE; Witt, SM; Heeneman, S; Feijge, Mah; Caraballo, SCG; et al. Atheroprotective effect of dietary walnut intake in ApoE-deficient mice: Involvement of lipids and coagulation factors. **Thrombosis Research**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2013.01.003>, 2013.

Novello, D; Franceschini, P; Quintiliano, DA. A importância dos ácidos graxos ω -3 e ω -6 para a prevenção de doenças e na saúde humana. **Revista Salus**. v.2, p.77-87, 2008.

Pantano, A.P. **Sapucaia – *Lecythis ollaria* ou *L. pisonis***. Disponível em: <http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/A47sapucaia.htm>. Acesso em: 01/06/2010.

Reeves PGPG, Nielsen FH, Fahey GN. AIN-93. Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition *ad hoc* Writing Committee on the formulation of the AIN-76. Rodent diet. **Nutrition**. v.123, n.11, p.467-72, 1993.

Russo, P; Siani, A. The role of nuts in the optimal diet: Time for a critical appraisal? **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. v.22, p.1019-1023, 2012.

Salas-Salvadó J, Garcia-Arellano A, Estruch R, Marquez-Sandoval F, Corella D, Fiol M, et al. PREDIMED Investigators. Components of the Mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.62, p.651–659, 2008..

Sampey, BP; Vanhoose, AM; Winfield, HM; Freemerman, AJ; Fueger, PT; Newgard, CB; et al. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. **Obesity**. p.1-9, 2011.

Scoaris, CR; Rizo, GV; Roldi, LP; Moraes, SMF; Proença, ARG; Peralta, RM; Natali, MRM. Effects of cafeteria diet on the jejunum in sedentary and physically trained rats. **Nutrition**. v.26, p.312-320, 2010.

Shafat A, Murray B, Rumsey D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite* 2009;52:34–38.

Souza, V.A.B.; Carvalho, M.G.; Santos, K.S.; Ferreira, C.S. Características físicas de frutos e amêndoas e características químico-nutricionais de amêndoas de acessos de sapucaia. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 30, p.946-952, 2008.

Strunz, CC; Oliveira, TV; Vinagre, JCM; Lima, A; Cozzolino, S; Maranhão, RC. Brazil nut ingestion increased plasma selenium but had minimal effects on lipids, apolipoproteins, and high-density lipoprotein function in human subjects. **Nutrition Research**. v.28, p.151-155, 2008.

Tapsell, LC; Gillen, LJ; Patch, CS; Batterham, M; Owen, A; Baré, M; et al. Including Walnuts in a Low-Fat/Modified-Fat Diet Improves HDL Cholesterol-to-Total Cholesterol Ratios in Patients With Type 2 Diabetes. **Diabetes Care**. v.27, p.2777-2783, 2004.

Unicamp. **Tabela brasileira de composição de alimentos** / NEPA-UNICAMP.- T113 Versão II. -- 2. ed. -- Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 113p. 2006.

Upi-Sarda, M; Casas, R; Chiva-Blanch, G; Romero-Mamani, ES; Valderas-Martinez, P; Arranz, S; et al. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. **Pharmacological Research**. v.65, p.577-583, 2012.

Weibel, ER; Staubli, W; Gnagi, HR; Hess, FA. Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. I. Morphometric model, stereologic methods, and normal morphometric data for rat liver. **Journal Cell Biology**. v.42, p.63-91, 1969.

Vadivel, V; Kunyanga, CN; Biesalki, HK. Health benefits of nut consumption with special reference to body weight Control. **Nutrition**. v.28, p.1089-1097, 2012.

Vallilo, M.I.; Tavares, M.; Aued-Pimentel, S.; Campos, N.C.; Moita Neto, J.M. *Lecythis pisonis* Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**. v.66, p.197-200, 1999.

Yang, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **Food Science and Technology**. v.42, p.1573–1580, 2009.

Zamora-Ros, R; Serafini, M; Estruch, R; Lamuela-Raventós, RM; Martínez-Gonzalez, MA; Salas-Salvadó, J; et al., Mediterranean diet and non enzymatic antioxidant capacity in the PREDIMED study: Evidence for a mechanism of antioxidant tuning. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2012.12.008>, 2013.

Efeito da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) na modulação da expressão dos marcadores inflamatórios adiponectina e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no tecido adiposo de ratos alimentados com dieta de cafeteria.

Efeito da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) na modulação da expressão dos marcadores inflamatórios adiponectina e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) no tecido adiposo de ratos alimentados com dieta de cafeteria.

Resumo

O papel da alimentação na modulação do *status* inflamatório do organismo está cada vez mais evidente nos últimos anos. A redução da ingestão de açúcares e de gorduras saturadas e *trans*, juntamente com o aumento do consumo de fontes de compostos bioativas, são condutas relacionadas à redução na prevalência de doenças crônicas não transmissíveis. A gênese de tais doenças, na maioria das vezes, está associada à presença de um processo inflamatório crônico de baixo grau. Nesse contexto, destacam-se as castanhas, pois, além de serem alimentos ricos em macro e micronutrientes, são importantes fontes de compostos bioativos. O presente trabalho avaliou o efeito do consumo de castanha de sapucaia no metabolismo de ratos alimentados com dieta normal e dieta de cafeteria. Foram utilizados ratos *wistar* machos, tratados durante 4 semanas com dieta AIN-93G acrescida ou não de castanha de sapucaia, e com dieta de cafeteria, acrescida ou não de castanha de sapucaia. Foi quantificada, semanalmente, a expressão dos genes que codificam os marcadores inflamatórios adiponectina e fator de necrose tumoral alfa, no tecido adiposo dos animais. Foi observado que a adição da castanha de sapucaia aumentou a expressão gênica de adiponectina no tecido adiposo de ratos alimentados com dieta normal e dieta de cafeteria. Além disso, a ingestão de castanha de sapucaia junto à dieta normal foi capaz de reduzir a expressão gênica do fator de necrose tumoral alfa após 4 semanas de experimento.

1. Introdução

O papel da alimentação na modulação do *status* inflamatório do organismo está cada vez mais evidente nos últimos anos. Condutas dietéticas como a redução da ingestão de açúcares e de gorduras saturadas e *trans*, juntamente com o aumento do consumo de alimentos fontes de substâncias bioativas, com potencial antioxidante e anti-inflamatório, estão relacionadas à redução na prevalência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como síndrome metabólica, obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, hipertensão, câncer, entre outras (Santos et al, 2006). Estas doenças possuem, na maioria das vezes, uma característica em comum: sua gênese está associada à presença de um processo inflamatório crônico de baixo grau (Ros et al., 2006).

O processo inflamatório, de maneira geral, se caracteriza por um conjunto de alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas do organismo em resposta a estímulos exógenos. Esta resposta pode ser definida como aguda ou crônica. A inflamação aguda ocorre imediatamente após a agressão e caracteriza-se por aumento no fluxo sanguíneo e permeabilidade vascular, recrutamento de leucócitos no local da lesão e início da liberação dos mediadores inflamatórios. Caso o estímulo à inflamação seja continuado, desenvolve-se o que se chama de inflamação crônica, caracterizada por resposta imune celular e resposta humoral específica, sendo muitas vezes um processo assintomático que se inicia de maneira silenciosa (Carvalho et al., 2012; Kumar et al., 2004; Bulló et al., 2003).

O processo inflamatório que dá origem às doenças crônicas é caracterizado por uma inflamação constante e de baixo grau, na qual há produção e manutenção de níveis elevados de moléculas pró-inflamatórias, concomitantes à redução dos níveis de moléculas que desempenham função anti-inflamatória. Nesse contexto, estas moléculas podem funcionar como marcadores do *status* inflamatório do organismo e são alvos potenciais na terapia de prevenção e/ou tratamento das DCNT. Além disso, recentemente se tem avaliado a capacidade desses marcadores em predizer futuros

agravos crônicos à saúde (Bakker et al., 2010; Volp et al., 2008; Francisco et al., 2006).

Os efeitos benéficos das castanhas relacionados a processos inflamatórios são atribuídos à ação sinérgica de seus ácidos graxos e o conteúdo de compostos bioativos (Ros, 2009; Casas-Agustench et al., 2010). Nesse contexto, o efeito do consumo de castanhas sobre processos inflamatórios vem sendo avaliado em diversos estudos, tanto em modelo animal quanto em estudos com humanos, incluindo diferentes grupos populacionais: pessoas saudáveis, com sobrepeso e obesidade, resistência à insulina e sob risco de doenças cardiovasculares (Orem et al., 2013; Alexiadou et al., 2011; Casas-Agustench et al., 2009). Assim, é crescente o número de pesquisas que utilizam uma abordagem nutrigenômica, isto é, avaliam o efeito do consumo de castanhas sobre a expressão de determinados genes relacionados a proteínas inflamatórias, em diferentes tecidos corporais (Bastos, 2009; Ros, 2009).

O Brasil é reconhecido mundialmente pela sua biodiversidade vegetal, a qual possui centenas de espécies que fornecem castanhas comestíveis. Apesar disso, o número de estudos sobre estas castanhas nativas ainda é muito pequeno, resumindo-se na maioria das vezes, às castanhas de caju (*Anacardium occidentale* L.) e castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* Kunth). No entanto, as florestas brasileiras possuem inúmeras outras espécies nativas cujos frutos e sementes podem ser utilizados como fontes de nutrientes, sendo, portanto, de extrema importância o estudo destas novas fontes alternativas de alimentos, nutricionalmente ricos e de baixo custo.

Entre essas espécies nativas encontra-se a sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.). Conhecida como castanha-sapucaia, marmitta-de-macaco, cumbuca-de-macaco ou simplesmente "sapucaia", esta árvore tem origem brasileira e é proveniente da Floresta Pluvial Atlântica. A sapucaia é uma árvore da mesma família da castanha-do-brasil, a família Lecythidaceae e ocorre do Ceará até o Rio de Janeiro (Lorenzi, 1995). As castanhas

aromáticas e oleaginosas da sapucaia podem ser consumidas cruas, cozidas ou assadas, constituindo-se em um alimento saboroso (Pantano, 2010).

Estudos realizados com as amêndoas da sapucaia *L. pisonis* Cambess. revelaram teores lipídico e proteico um pouco maiores do que os da castanha-do-brasil, variando entre 61 e 66%, e de 19,6 a 20,5%, respectivamente. O perfil de ácidos graxos mostra elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados, principalmente o ácido linoléico (em média 47% enquanto a castanha-do-pará possui em média 21%), um ácido graxo essencial. Em relação aos minerais, análises de castanhas de sapucaia coletadas no estado do Piauí, demonstraram valores também superiores aos da castanha-do-pará para cálcio, potássio, magnésio, cobre e manganês. Quanto às vitaminas, as castanhas de sapucaia nativas do estado de São Paulo destacam-se pelo teor elevado de vitamina C e riboflavina em relação à castanha-do-pará (Vallilo et al., 1999; UNICAMP, 2006; Denadai et al., 2007; Souza et al., 2008; Yang, 2009).

As castanhas de sapucaia utilizadas no presente trabalho foram coletadas na região da Zona da Mata do estado de Minas gerais e apresentam a seguinte composição centesimal: 54,8% de lipídios; 26,82% de proteínas; 5,01% de carboidratos; 3,17% de cinzas e 10,2% de umidade. Quanto ao perfil lipídico, 43,1% são ácidos graxos polinsaturados, 41,7% ácidos graxos monoinsaturados e 15,2% ácidos graxos saturados. Os minerais fósforo, magnésio e manganês se destacam pelos elevados teores, 941; 343 e 4,8 mg.100⁻¹, respectivamente (Carvalho et al., 2012)

Devido aos benefícios à saúde associados ao consumo de castanhas, especialmente sobre parâmetros inflamatórios e DCNT, o presente trabalho propõe avaliar o efeito da inclusão de castanha de sapucaia à dieta de ratos alimentados com dieta normal e dieta de cafeteria, sobre a expressão dos genes anti e pró-inflamatórios: adiponectina e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α).

2. Materiais e Métodos

2.1. Animais e Desenho Experimental

Foram utilizados 96 ratos albinos machos da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar, com 30 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Os animais foram mantidos em 4 tempos diferentes: 1 semana, 2 semanas, 3 semanas e 4 semanas. Em cada tempo os animais foram distribuídos em 4 grupos de 6 animais, os quais receberam dietas normal (AIN93-G) e de cafeteria, acrescidas ou não de castanha de sapucaia, conforme detalhado na Tabela 1.

Tabela 1: Tempos de tratamentos, grupos experimentais e tratamentos.

Tempo de tratamento	Tempo (T) e Grupo (G)	Tratamento
1 semana	T1-G1	Dieta AIN93-G
	T1-G2	Dieta AIN93-G + castanha
	T1-G3	Dieta de Cafeteria
	T1-G4	Dieta de Cafeteria + castanha
2 semanas	T2-G1	Dieta AIN93-G
	T2-G2	Dieta AIN93-G + castanha
	T2-G3	Dieta de Cafeteria
	T2-G4	Dieta de Cafeteria + castanha
3 semanas	T3-G1	Dieta AIN93-G
	T3-G2	Dieta AIN93-G + castanha
	T3-G3	Dieta de Cafeteria
	T3-G4	Dieta de Cafeteria + castanha
4 semanas	T4-G1	Dieta AIN93-G
	T4-G2	Dieta AIN93-G + castanha
	T4-G3	Dieta de Cafeteria
	T4-G4	Dieta de Cafeteria + castanha

Os animais foram acondicionados em gaiolas coletivas (Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde - UFV),

mantidas em ambiente controlado, com temperatura entre 22 – 25°C, ciclos claro-escuro de 12 horas por dia, recebendo dietas e água *ad libitum*.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (CEEa/UFJF) – protocolo nº 036/2011 (Anexo I).

2.2. Dietas experimentais

Os animais do G1 receberam dieta AIN-93G (Revees, et al., 1993), e os animais do G2 receberam a dieta AIN-93G acrescida da castanha de sapucaia. A densidade calórica destas dietas foi de aproximadamente 3,95 kcal/g, sendo que as duas apresentaram a mesma proporção de carboidratos (62,95%), proteínas (20,0%) e lipídios (17,05%), de acordo com a rotulagem dos ingredientes (Rhoster®) utilizados na formulação da dieta e a tabela de composição de alimentos - Taco (Unicamp, 2006). As dietas foram preparadas semanalmente e mantidas sob refrigeração a 4°C para evitar a oxidação. A composição das dietas experimentais AIN-93 está detalhada na Tabela 2.

Tabela 2: Composição das dietas AIN-93G e AIN-93G acrescida de castanha de sapucaia.

Ingrediente	Dieta AIN-93G	Dieta AIN-93G
		+ Castanha de sapucaia
Caseína (81,50%)	200,00 g	192,20 g
Amido Dextrinizado	132,00 g	132,00 g
Sacarose	100,00 g	100,00 g
Óleo de soja	70,00 g	54,00 g
Celulose microcristalina	50,00 g	50,00 g
Mistura mineral	35,00 g	35,00 g
Mistura de vitaminas	10,00 g	10,00 g
L-Cistina	3,00 g	3,00 g
Colina	2,50 g	2,50 g
Castanha de sapucaia	-	29,40 g
Amido de milho	q.s.p. 1.000 g	q.s.p. 1.000 g
Densidade calórica	3,95 kcal/g	3,96 kcal/g

Para a indução do aumento de peso nos animais foi utilizada uma dieta do tipo cafeteria, hipercalórica, manipulada no laboratório (CAF). Sua composição foi constituída dos seguintes alimentos: patê de presunto, batata palha, bacon, mortadela, biscoito maisena, achocolatado, leite em pó integral e ração comercial nas proporções de 2:1:1:1:1:1:1:1 (Tabela 3). O grupo G3 recebeu dieta de cafeteria e o grupo G4 recebeu a dieta de cafeteria acrescida de castanha de sapucaia. Baseando-se em um consumo humano habitual de 3 (três) castanhas por dia, foram realizados cálculos para simular este padrão de ingestão nos animais, a partir de informações nutricionais da castanha de sapucaia obtidas no presente estudo (Carvalho et al., 2012). Para estes cálculos, foi utilizada a referência de um indivíduo adulto, do sexo masculino, de peso corporal de 70 kg, recebendo 2000 kcal por dia. Foram usadas as seguintes informações:

➔ 3 castanhas = 15 g = 93,08 kcal, que equivalem a 4,65% de 2000 kcal.

Portanto, o consumo de 15 g de castanha de sapucaia por dia corresponde a 4,65% do valor energético total (VET) de uma dieta de 2000 kcal. A partir desta informação, à dieta de cafeteria do grupo G4 foram adicionados 5,22 g de castanha de sapucaia por 100 g de dieta.

A composição em macronutrientes da dieta de cafeteria, acrescida ou não de castanha, foi de aproximadamente 31,34% de carboidratos, 9,82% de proteínas e 58,84% de lipídios, e suas densidades calóricas foram de 6,91 e 6,94, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3: Composição das dietas de Cafeteria e Cafeteria acrescida de castanha de sapucaia.

Ingrediente	Dieta de Cafeteria	Dieta de Cafeteria + Castanha de Sapucaia
Patê de presunto	222,22 g	215,7 g
Batata palha	111,11 g	104,61 g
Bacon	111,11 g	104,61 g
Mortadela	111,11 g	104,61 g

Biscoito maisena	111,11 g	104,61 g
Achocolatado	111,11 g	104,61 g
Leite em pó integral	111,11 g	104,61 g
Ração comercial	111,11 g	104,61 g
Castanha de sapucaia	-	52,2 g
Densidade calórica	6,94 kcal/g	6,92 kcal/g

2.3. Análises da expressão gênica de adiponectina e fator de necrose tumoral alfa no tecido adiposo por RT-PCR

Ao final de cada tempo experimental, após jejum de 12 horas, os animais foram eutanasiados sob anestesia com quetamina (25 mg/Kg IM) e xilazina (2 mg/Kg IM). Neste momento foi coletado o tecido adiposo abdominal, sendo imediatamente congelado em nitrogênio líquido para posterior armazenamento em freezer a - 80°C. Os 6 animais que compunham cada grupo, foram agrupados de 2 em 2 para a extração do mRNA, tendo assim subgrupos com n=3, representativos de 6 animais por grupo.

O mRNA do tecido adiposo foi extraído utilizando kit SV Total RNA Isolation System (Promega), conforme instrução do fabricante. O RNA total foi usado para síntese de cDNA usando o Kit MMLV- Reverse Transcriptase (Invitrogen). A quantificação da expressão gênica foi realizada por RT-PCR utilizando o equipamento AB Step One Real Time PCR System (Applied Biosystem). Foi utilizado o reagente 2X SYBR Green Máster Mix (Applied Biosystem) obtendo um volume final para cada reação de 12,5µL. Os parâmetros utilizados na corrida foram 15 min a 95° C e em seguida 40 ciclos de 95° C (15s), 60° C (30s) e 72° C (30s), seguido pela análise da curva de Melting. Os iniciadores foram: Adiponectina (Fw- AATCCTGCCAGTCATGAAG, Rv- CATCTCCTGGGTACCCTTA), e TNF- α (Fw- CCCAGGCAGTCAGATCATCTTC, Rv- AGCTGCCCCTCAGCTTGA). A análise da expressão gênica foi realizada em duplicata.

A quantificação da expressão gênica foi calculada em relação ao controle endógeno β -actina (Fw-GTGGTGGTGAAGCTGTAGCCACGC, Rv-CCTCTGAACCCTAAGGCCAACCG).

Os resultados obtidos com a análise de expressão dos genes alvo (adiponectina e TNF- α) e do gene controle endógeno (β -actina) foram comparados diretamente. A normalização da expressão gênica foi feita através do método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak & Schmittgen, 2001), onde:

$$\Delta\Delta CT = CT (alvo) - CT (endógeno)$$

2.4. Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do *software* Sigma Plot, versão 11.0. Foi realizada análise descritiva dos dados e testes de comparação de grupos independentes, entre os tratamentos. Para avaliar a diferença entre os grupos foi utilizado o teste de Tukey na comparação de médias, com nível de significância $<0,05$.

3. Resultados

3.1. Expressão gênica de adiponectina e do fator de necrose tumoral alfa no tecido adiposo de ratos

A tabela 4 representa os valores de médias $\pm$ desvio-padrão de $2^{-\Delta\Delta CT}$ calculados para os genes adiponectina e TNF- α em todos os grupos tratados por quatro semanas.

Tabela 4: Média $\pm$ desvio-padrão da expressão gênica de adiponectina e TNF- α em valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$ em ratos que consumiram, durante 4 semanas, dietas normal e de cafeteria, com e sem castanha de sapucaia.

Tempo e Tratamento	Gene	
	Adiponectina ($2^{-\Delta\Delta CT}$)	TNF - α ($2^{-\Delta\Delta CT}$) $\times 10^{-4}$
1 semana		
G1.1	1,49 $\pm$ 1,59 ^{Bb}	2,11 $\pm$ 0,3 ^{Ab}
G2.1	5,70 $\pm$ 2,05 ^{Aa}	1,07 $\pm$ 0,5 ^{Bb}
G3.1	3,90 $\pm$ 0,51 ^{Aab}	1,69 $\pm$ 0,1 ^{Ab}
G4.1	3,25 $\pm$ 1,10 ^{Aab}	1,36 $\pm$ 0,1 ^{Bb}
2 semanas		
G1.2	0,88 $\pm$ 0,20 ^{Ab}	5,99 $\pm$ 5,4 ^{Ab}
G2.2	1,05 $\pm$ 0,18 ^{Ab}	38,7 $\pm$ 30,6 ^{Ab}
G3.2	0,29 $\pm$ 0,10 ^{Bc}	176,9 $\pm$ 110 ^{Aa}
G4.2	0,86 $\pm$ 0,40 ^{Ab}	127,0 $\pm$ 121 ^{Aa}
3 semanas		
G1.3	0,95 $\pm$ 0,51 ^{Bb}	13,3 $\pm$ 5,3 ^{Ab}
G2.3	2,19 $\pm$ 0,41 ^{Ab}	1,41 $\pm$ 0,1 ^{Bb}
G3.3	0,45 $\pm$ 0,12 ^{Bc}	2,14 $\pm$ 0,6 ^{Bb}
G4.3	0,74 $\pm$ 0,35 ^{Bb}	0,90 $\pm$ 0,2 ^{Cb}
4 semanas		
G1.4	1,26 $\pm$ 0,42 ^{Ab}	0,56 $\pm$ 0,4 ^{Bb}
G2.4	1,19 $\pm$ 0,04 ^{Bb}	0,49 $\pm$ 0,08 ^{Bc}
G3.4	0,33 $\pm$ 0,13 ^{Cc}	1,45 $\pm$ 0,3 ^{Ab}
G4.4	0,58 $\pm$ 0,11 ^{Cb}	0,52 $\pm$ 0,1 ^{Bb}

Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas na coluna e na mesma semana diferem estatisticamente (Teste de Tukey, $p < 0,05$). Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (Teste de Tukey, $p < 0,001$). **G1:** dieta AIN-93G; **G2:** dieta AIN-93G + castanha de sapucaia; **G3:** dieta de cafeteria; **G4:** dieta de cafeteria + castanha de sapucaia.

Em relação à expressão gênica da adiponectina, observa-se que houve uma queda significativa nos grupos que receberam a dieta de cafeteria (G3 e G4) a partir da segunda semana até o fim do experimento. Foi observado que, na comparação entre todos os grupos (letras minúsculas), os animais que receberam CAF + castanha de sapucaia (G4) apresentaram valores de expressão de adiponectina estatisticamente maiores do que os grupos G3 a partir da segunda semana de experimento, e iguais aos grupos G1 e G2 ao longo de todo o experimento.

A expressão gênica do TNF- α aumentou significativamente somente na segunda semana de experimento nos grupos G3 e G4, os quais receberam a dieta de cafeteria. Na quarta semana de tratamento, a

expressão deste gene foi significativamente menor no grupo que recebeu dieta AIN-93G adicionada de castanha de sapucaia (G2). Na comparação dos grupos dentro da mesma semana (letras maiúsculas), observa-se que ao final de uma semana de tratamento, a expressão gênica de TNF- α nos grupos que receberam castanha, G2.1 e G4.1, foi estatisticamente menor em relação aos que não receberam castanha na dieta. Comparando-se os grupos dentro da quarta semana de experimento, foi observado que o grupo que recebeu a CAF (G3.4) apresentou expressão gênica de TNF- α estatisticamente maior em relação aos demais grupos deste tempo.

Vale ressaltar que, exceto na segunda semana de tratamento, todos os grupos que receberam dietas acrescidas de castanha de sapucaia (AIN-93 ou CAF) apresentaram expressão gênica de TNF- α menor em relação aos demais. Apesar deste resultado não ter sido estatisticamente significativo em todas as comparações, pode-se considerar uma tendência da castanha de sapucaia em reduzir a expressão gênica de TNF- α no tecido adiposo.

A figura 1 representa a evolução da expressão gênica de adiponectina e TNF- α nos grupos de tratamento ao longo das 4 semanas de experimento.

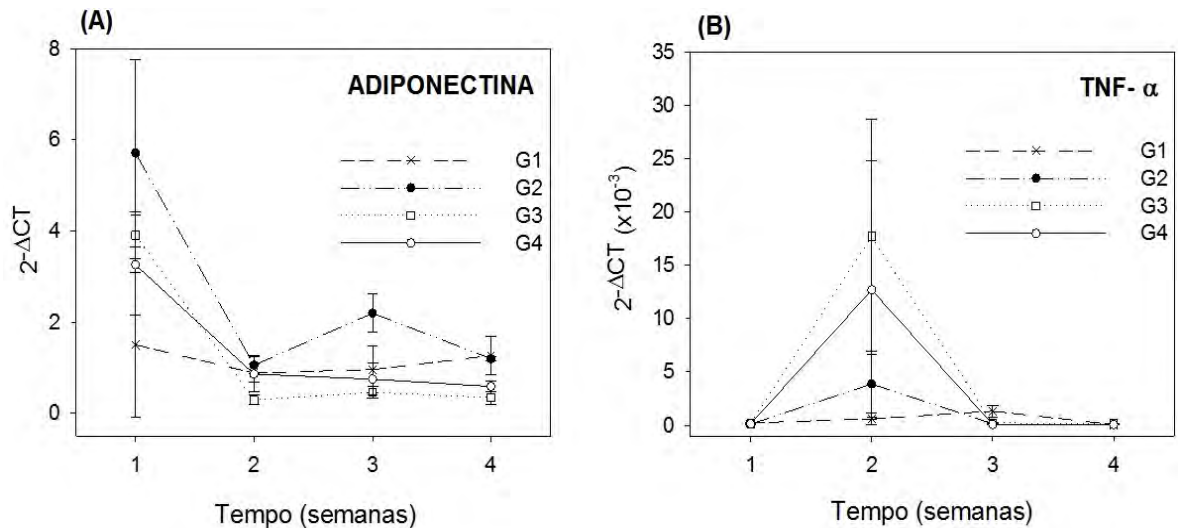


Figura 1: Expressão gênica de adiponectina (A) e TNF- α (B) em valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$ em ratos ao longo de 4 semanas. (G1) dieta AIN-93G; (G2) dieta AIN-93G + castanha de sapucaia; (G3) dieta de cafeteria; (G4) dieta de cafeteria + castanha de sapucaia.

Observou-se que, para todos os grupos, os maiores valores de expressão de adiponectina ocorreram na primeira semana, enquanto os picos de expressão de TNF- α foram detectados na segunda semana de tratamento.

4. Discussão

A adição de castanha de sapucaia às dietas experimentais alterou a expressão dos genes avaliados em diferentes tempos de tratamento.

Foi observado um aumento na expressão de adiponectina no grupo que recebeu dieta de cafeteria na primeira semana, com posterior redução a partir da segunda semana até o final do experimento. O gene da adiponectina (AMP1), em condições normais, é expresso exclusivamente nos adipócitos, sendo esta proteína classificada como uma adipocina (Matsuzawa, 2005).

López et al. (2004) encontraram resultados semelhantes ao do presente trabalho, com aumento da expressão de adiponectina em poucos dias. O estudo revelou um aumento da expressão desta adipocina,

concomitante ao aumento de peso corporal e do acúmulo de gordura visceral em ratos alimentados com dieta de cafeteria por 11 dias. Segundo os autores, a expressão de adiponectina é induzida nos estágios iniciais de diferenciação dos adipócitos, além de fazer parte de um mecanismo de defesa inicial de resposta contra o processo de obesidade que começa a se instalar. Por outro lado, estudos confirmam que a expressão desta adipocina é reduzida após períodos maiores de instalação e manutenção da obesidade, além de estar inversamente correlacionada com a ocorrência de DCNT (Palomer et al., 2005).

Baixos níveis de adiponectina estão relacionados ao maior acúmulo de gordura visceral, obesidade, diabetes tipo 2, síndrome metabólica, dislipidemia e doenças cardiovasculares. Em relação ao metabolismo glicêmico, pesquisas demonstram que o aumento da expressão de adiponectina se relaciona com a redução de concentrações séricas de glicose, por mecanismos que envolvem oxidação de ácidos graxos, estímulo à captação de glicose e supressão da gliconeogênese hepática (Palomer et al., 2005; Ebal et al., 2007; Poppit et al., 2008; Yang et al., 2012). Segundo resultados do presente trabalho (mostrados no capítulo 3, na página 60, tabela 8), as concentrações de glicose sanguínea do grupo que recebeu dieta AIN + castanha de sapucaia (G2) na primeira semana de experimento foram significativamente menores em relação aos demais tempos. Este mesmo grupo apresentou expressão de adiponectina significativamente maior no mesmo tempo de tratamento.

Alguns estudos demonstram associação inversa entre expressão de adiponectina e níveis séricos de triacilgliceróis e lipoproteínas de baixa densidade (LDL), e uma correlação direta com as lipoproteínas de alta densidade ligadas ao colesterol (HDL-c) (Matsuzawa, 2005; Sofer et al., 2012; Orem et al., 2013). No presente trabalho, os grupos alimentados com a dieta de cafeteria (G3) apresentaram concentrações séricas de colesterol total significativamente maiores durante as 4 semanas de experimento (dados mostrados no capítulo 3, na página 60, tabela 8). Nestes grupos, a expressão de adiponectina foi significativamente menor a partir da segunda semana até o final do tratamento. Além disso, estes mesmos grupos

apresentaram concentrações séricas de HDL-c significativamente menores na terceira e na quarta semana de experimento.

Além da relação entre adiponectina e parâmetros bioquímicos do metabolismo glicêmico e lipídico, estudos relacionam a adiponectina a processos inflamatórios, atribuindo, na maioria das vezes, ação anti-inflamatória a esta adipocina (Ahonen et al., 2010.). Um dos mecanismos propostos para explicar a ação anti-inflamatória da adiponectina está relacionado ao fator de transcrição nuclear κ B (NF- κ B), localizado no citoplasma (Bastos, et al., 2009).

Vários trabalhos relacionam o consumo de oleaginosas com o aumento da expressão de adiponectina bem como o aumento dos seus níveis sanguíneos circulantes (Bulló et al., 2007; Casas-Augustench et al., 2010; Fragopoulou et al., 2010; Aronis et al., 2012; Orem et al., 2013).

Em relação ao TNF- α , houve um aumento significativo em sua expressão somente na segunda semana do experimento, nos grupos alimentados com CAF, sem e com castanha de sapucaia (G3 e G4). Na quarta semana, o grupo que recebeu dieta AIN-93G + castanha de sapucaia (G2) apresentou expressão significativamente menor desta proteína no tecido adiposo. Além disso, de maneira geral, o consumo de castanha de sapucaia parece ter reduzido a expressão desta citocina no tecido adiposo.

O TNF- α é uma citocina secretada por macrófagos, células endoteliais e células musculares lisas, adipócitos e células do músculo esquelético, com atividades biológicas pleiotrópicas, que desempenha um dos principais papéis na cascata de citocinas inflamatórias, como fator estimulador da síntese de outras citocinas, como interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 (IL-1) (Jiménez-Gómez et al., 2009; Cawtorn et al., 2008). Entre os genes inflamatórios cuja expressão é induzida pelo NF- κ B, está o gene que codifica a expressão do próprio TNF- α , ocorrendo assim um “ciclo pró-inflamatório” (Bastos et al., 2009; Hermsdorff et al., 2008). Particularmente no adipócito, esta citocina age inibindo a lipogênese via inibição da expressão das enzimas lipase lipoprotéica (LLP) e da acetil CoA sintetase, cumprindo importante papel regulador no acúmulo de gordura no tecido adiposo (Gomes et al., 2010; Volp et al., 2010).

Diversas pesquisas, clínicas e epidemiológicas, em modelos animais e com humanos, correlacionam o consumo regular de castanhas com a redução nos valores de expressão de TNF- α , bem como em seus níveis circulantes no sangue (Jimenez-Gomes et al., 2009; Fragopoulou et al., 2010; Sari et al., 2010; Upi-Sarda et al., 2012).

A composição peculiar das castanhas é a grande responsável pelos seus efeitos benéficos à saúde.

Ainda não há um mecanismo totalmente esclarecido que explique como o consumo regular de castanhas atua na modulação de processos inflamatórios. No entanto, as evidências científicas apontam que os compostos presentes nestes alimentos atuam em conjunto para exercer seu efeito anti-inflamatório, o qual seria resultante de ambos os processos: atividade antioxidante e modulação de sinais em vias de transcrição de genes, como a via do NF- κ B (Ros et al., 2006; Ros, 2009).

5. Conclusão

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que a adição da castanha de sapucaia foi eficaz em aumentar a expressão gênica de adiponectina no tecido adiposo de ratos alimentados com dieta normal e dieta de cafeteria. Além disso, a ingestão de castanha de sapucaia junto à dieta normal foi capaz de reduzir a expressão gênica de TNF- α após 4 semanas de experimento.

É importante ressaltar que a expressão dos genes avaliados foi nitidamente diferente em função do tempo de tratamento.

Tal fato deve ser considerado no planejamento de futuros ensaios que utilizem modelos semelhantes a este para avaliar a expressão de adiponectina e TNF- α , afim de que não se perca o momento da sua expressão. Além disso, novos trabalhos devem ser realizados visando estabelecer de forma “mais segura” a relação da expressão destes genes em função do tempo de tratamento.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

6. Referencias Bibliográficas:

Alexiadou, K; Katsilambros, N. Nuts: Anti-atherogenic food? **European Journal of Internal Medicine**. v.22, p.141-146, 2011.

Ahonen, TM; Saltevo, JT; Kautiainen, HJ; Kumpusalo, EA; Vanhala, MJ. The association of adiponectin with the course of metabolic syndrome. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**. p.1-7, 2010.

Aronis, KN; Vamvini, MT; Chamberland, JP; Sweeney, LL; Brennan, AM; Magkos, F; et al. Short-term walnut consumption increases circulating total adiponectin and apolipoprotein A concentrations, but does not affect markers of inflammation or vascular injury in obese humans with the metabolic syndrome: data from a double-blinded, randomized, placebo-controlled study. **Metabolism Clinical and Experimental**. v.61, p.577-582, 2012.

Bakker, GCM.; Erk, MJ; Pellis, L; Wopereis, S; Rubingh, CM; Cnubben, NHP, Kooistra, T; Ommen, B; Hendriks, HFJ. An anti-inflammatory dietary mix modulates inflammation and oxidative and metabolic stress in overweight men: a nutrigenomics approach. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.91, p.1044–59, 2010.

Bastos, DHM.; Rogero, MM.; Areas, JAG. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.53, p.53-55, 2009.

Bulló, M; García-Lorda, P; Megias, I; Salas-Salvadó, J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. **Obesity Research**, v.11, n.4, p.525-531, 2003.

Bulló, M; Casas-Agustench, P; Migo-Correig, P; Aranceta, J; Salas-Salvado, J. Inflammation, obesity and comorbidities: the role of diet. **Public Health Nutrition**. v.10, p.1164-1172, 2007.

Casas-Agustench, P; Bulló, M; Ros, E; Basora, J; Salas-Salvadó, J. Cross-sectional association of nut intake with adiposity in a Mediterranean population. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease**, n.21, v.7, p.518-525, 2009.

Casas-Agustench, P; Bulló, M; Salas-Salvadó, J. Nuts, inflammation and insulin resistance. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.19, n.1, p.124-130, 2010.

Casas-Augustench, P; López-Uriarte, P; Bulló, M; Ros, E; Cabre-Vila, JJ; Salas-salvadó, J. Effects o fone serving of mixed nuts on serum lipids, insulin resistance and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**. p.1-10, 2010.

Carvalho, IMM; Queirós, LD; Brito, LF; Santos, FA; Bandeira, AVM; Souza, AL; Queiroz, JH. Caracterização química da castanha de sapucaia (*Lecythis pisonis* Cambess.) da região da Zona da Mata mineira. **Bioscience Journal**. v.28, n.6, p.971-977, 2012.

Carvalho, IMM; Queiroz, JQ; Brito, LF; Toledo, RCL; Souza, AL. O consumo de castanhas pode reduzir o risco de processos inflamatórios e doenças crônicas. **Enciclopédia Biosfera**. v.8, n.15, p.1977-1996.

Cawtorn, WP; Sethi, JK. TNF- α and adipocyte biology. **FEBS Letters**. v.582, p.117-131, 2008.

Denadai, SMS.; Hiane, PA; Marangoni, S; Baldasso, PA; Miguel, AMRO; Macedo, MLR. In vitro digestibility of globulins from sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.) nuts by mammalian digestive proteinases. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.27, p.535-543, 2007.

Ebal, E; Cavalié, H; Michaux, O; Lac, G. Effect of a lipid-enriched diet on body composition and some regulatory hormones of food intake in growing rats. **Annales d'Endocrinologie**. v.68, p.366–371, 2007.

Fragopoulou, E; Panagiotakos, DB; Pistavos, C; Tampourlou, M; et al. The association between adherence to the Mediterranean diet and adiponectin levels among healthy adults: the ATTICA study. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v.21, p.285-289, 2010.

Francisco, G; Hernández, C; Simó, R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipidemia. **Clinical Chemical Acta**, v.369, n.1, p.1-16, 2006.

Gomes, F; Telo, DF; Souza, HP; Nicolau, JC; Halpern, A; Serrano, A. Obesidade e Doença Arterial Coronariana: Papel da Inflamação Vascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v.94, p.273-279, 2010.

Hermsdorff, HHM; Zulet, MA; Bressan, J; Martinez, A. Efecto de la dieta em La inflamación crônica y de bajo grado relacionada com la obesidad y el síndrome metabólico. **Enocrinologia y Nutricion**. v.55, n.9, p.409-419, 2008.

Jiménez-Gómez, Y; López-Miranda, J; Blanco-Colio, LM; Marín, C; Pérez-Martinez, P; Ruano, J; et al. Olive oil and walnut breakfasts reduces postprandial inflammatory response in mononuclear cells compared with a butter breakfast in healthy men. **Atherosclerosis**. v.204, p.70-76, 2009.

Kumar, R; Clermont, G; Vodovotz, Y; Chow, CC. The dynamics of acute inflammation. **Journal of Theoretical Biology**, v.230, p.145-55, 2004.

López, IP; Milagro, FI; Marti, A; Moreno-Aliaga, MJ; Martínez,JÁ; Miguel, C. Gene expression changes in rat White adipose tissue after a high-fat diet determined by differential display. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v.318, p.234-239, 2004.

Lorenzi, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v.1. 1ª Ed. Plantarum, Nova Odessa, SP. 1995.

Matsuzawa, Y. Adiponectin: Identification, physiology and clinical relevance in metabolic and vascular disease. **Atherosclerosis Supplements**. v.6, p.7-14, 2005.

Orem, A; Yucesan, FB; Orem, C; Akcam, B; Kural, BV; Alasalvar, C; et al. Hazelnut-enriched diet improves cardiovascular risk biomarkers beyond a lipid-lowering effect in hypercholesterolemic subjects. **Journal of Clinical Lipidology**. v.7, p.123-131, 2013.

Palomer, X; Pérez, A; Blanco-Vaca, F. Adiponectina: um nuevo nexo entre obesidad, resistencia a La insulina y enfermedad cardiovascular. **Medicina Clinica (Barcelona)**. v.124, n.10, p.388-395, 2005.

Pantano, A.P. **Sapucaia – *Lecythis ollaria* ou *L. pisonis***. Disponível em: <http://www.jardimdeflores.com.br/floresefolhas/A47sapucaia.htm>. Acesso em: 01/06/2010.

Poppit, SD; Keogh, GF; Lithander, FE; Wang, Y; Mulvey, TB; Chan, YK; et al. Postprandial response of adiponectin, interleukin-6, tumor necrosis factor α , and C-reactive protein to a high-fat dietary load. **Nutrition**. v.24, p.322-329, 2008.

Reeves PGPG, Nielsen FH, Fahey GN. AIN-93. Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition *ad hoc* Writing Committee on the formulation of the AIN-76. Rodent diet. **Nutrition**. v.123, n.11, p.467-72, 1993.

Ros, E; Mataix, J. Fatty acid composition of nuts – implications for cardiovascular health. **British Journal of Nutrition**. v.96, n.2, p.29–35, 2006.

Ros, E. Nuts and novel biomarkers of cardiovascular disease. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.89, n.5, p.1649-56, 2009.

Unicamp. **Tabela brasileira de composição de alimentos** / NEPA-UNICAMP.- T113 Versão II. -- 2. ed. -- Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 113p. 2006.

Santos, CRB.; Portella, ES; Avila, SS; Soares, EA. Fatores dietéticos na prevenção e tratamento de comorbidades associados à síndrome metabólica. **Revista de Nutrição**, v.19, n.3, p.389-401, 2006.

Sari, I; Baltaci, Y; Bagci, C; Davutoglu, V; Erel, O; Celik, H; et al. Effect of pistachio diet on lipid parameters, endothelial function, inflammation, and oxidative status: A prospective study. **Nutrition**. v.26, p.399–404 2010.

Sofer, S; Eliraz, A; Kaplan, S; Voet, H; Fink, G; Kima, T; Madar, Z. Changes in daily leptin, ghrelin and adiponectin profiles following a diet with carbohydrates eaten at dinner in obese subjects. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**. <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2012.04.008>, 2012.

Souza, VAB; Carvalho, MG; Santos, KS; Ferreira, CS. Características físicas de frutos e amêndoas e características químico-nutricionais de amêndoas de acessos de sapucaia. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 30, p.946-952, 2008.

Vallilo, M.I.; Tavares, M.; Aued-Pimentel, S.; Campos, N.C.; Moita Neto, J.M. *Lecythis pisonis* Camb. nuts: oil characterization, fatty acids and minerals. **Food Chemistry**. v.66, p.197-200, 1999.

Volp, ACP; Bressan, J; Hermsdorff, HHM; Zulet, MA; Martinez, JA. Efeitos antioxidantes do selênio e seu elo com a inflamação e síndrome metabólica. **Revista de Nutrição**. v.23, p.581-590, 2010.

Upi-Sarda, M; Casas, R; Chiva-Blanch, G; Romero-Mamani, ES; Valderas-Martinez, P; Arranz, S; et al. Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. **Pharmacological Research**. v65, p.577– 583, 2012.

Volp, ACP; Alfenas; RCG; Costa; NMB; Minim; VPR; Stringueta, PC; Bressan, J. Capacidade dos biomarcadores inflamatórios em predizer a síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.52, n.3, p.537-549, 2008.

Yang, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **Food Science and Technology**. v.42, p.1573–1580, 2009.

Yang, X; Zhang, Y; Lin, J; Pen, A; Ying, C; Cao, W; Mao, L. A lower proportion of dietary saturated/monounsaturated/polyunsaturated fatty acids reduces the expression of adiponectin in rats fed a high-fat diet. **Nutrition Research**. v.32, p.285-291, 2012.

Shah, A; Mehta, N; Reilly, MP. Adipose inflammation, insulin resistance, and cardiovascular disease. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**. v.32, n.6, p. 638-644, 2008.

Considerações Finais

- A castanha de sapucaia analisada no presente trabalho constitui uma ótima fonte de macronutrientes (lipídios e proteínas) e micronutrientes (vitaminas e minerais).
- Além dos macro e micronutrientes, a castanha de sapucaia mostrou ser uma excelente fonte de ácidos graxos essenciais e aminoácidos essenciais.
- Estudos de toxicidade devem ser realizados com a castanha de sapucaia, uma vez que o teor de chumbo encontrado neste alimento foi próximo aos limites estabelecidos para o consumo humano.
- A adição de castanha de sapucaia à dieta de cafeteria de ratos, na dose administrada, foi benéfica em relação aos parâmetros bioquímicos e inflamatórios avaliados.
- A expressão dos genes avaliados variou nitidamente em função do tempo de tratamento. Tal fato deve ser considerado em futuros ensaios que utilizem modelos semelhantes a este para avaliar a expressão de adiponectina e de TNF- α .

ANEXO I – Certificado do Comitê de Ética



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PRO-REITORIA DE PESQUISA
Comissão de Ética na Experimentação Animal

CERTIFICADO

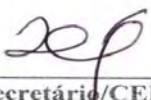
Certificamos que o Protocolo nº. 036/2011 – CEEA sobre “ESTUDO QUÍMICO E DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DA CASTANHA DE SAPUCAIA (LECYTHIS PISONI CAMBESS).” projeto de pesquisa sob a responsabilidade de JOSÉ HUMBERTO DE QUEIROZ, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e foi aprovado pela COMISSÃO de ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA) da PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF, em reunião realizada em 07/06/2011. Para o desenvolvimento da pesquisa foram liberados 96 animais, conforme solicitado.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 036/2011 - CEEA about “CHEMICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF SAPUCAIA NUT (LECYTHIS PISONIS CAMBESS), - is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian College of Animal Experimentation (COBEA) and was approved by the PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF – ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL RESEARCH (CEEA) in 07/06/2011. For the development of this research 96 animals were released, as requested

Juiz de Fora, 01 de fevereiro de 2012



Presidente/CEEA

Secretário/CEEA