

ANÁLISE DE METAIS EM TECIDOS DE RATAS SUBMETIDAS À DIETA HIPERLIPÍDICA SUPLEMENTADAS COM ERVA MATE (*Ilex paraguariensis*)

JANAINA PEREIRA SCHNEIDER¹; FERNANDA MOURA RIBEIRO TRINDADE²;
JULIA NEITZEL UECKER³; JENIFER HELLER CERQUEIRA⁴; SIMONE PIENIZ⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – janapschneider@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – fezinhhamrt@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – julia_uecker@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – jenyheller@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – nutrisimone@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O “chimarrão”, uma bebida típica do Rio grande do Sul, é feito por infusão de erva Mate (*Ilex paraguariensis*) na água quente, assim como bebidas tónicas e estimulantes. Porém, ela pode ser muito mais que uma bebida agradável e estimulante (Carvalho, 1994). A utilização do mate, ou chimarrão, para o consumo humano, pode ser associado para fins alimentício, terapêutico e cosmético. Dentre as vantagens podemos citar o combate aos radicais livres, auxilio na digestão, efeitos anti-reumático, diurético, estimulante e laxante. Também é usada para o tratamento de artrite, digestão lenta, doença hepáticas, dor de cabeça, reumatismo e obesidade, entre outros (Filip, 2000).

Os metais encontrados na erva mate, Cobre (Cu), Manganês (Mn), Zinco (Zn), Cálcio (Ca), Potássio (K), Magnésio (Mg), Ferro (Fe) e Sódio (Na), são de suma importância nutricional para uma grande variedade de organismos vivos, atuando beneficamente na saúde do homem. Por este motivo tornasse importante a determinação dos teores dos mesmos na erva mate (Sanz, 1991).

A utilização do chimarrão, com a finalidade terapêutica e/ou nutricional, leva a uma grande inquietação em relação aos efeitos que possam ter sobre a saúde do ser humano, principalmente aos efeitos associados à presença de metais (Ernst, 2002). Frequentemente, os metais como alumínio, mercúrio, cádmio e chumbo, entre outros são os principais causadores destas intoxicações (Pascalicchio, 2002).

Estudos apontam que os metais podem ser agentes neurotóxicos e que condições neuropatológicas podem estar associadas com elevadas concentrações destes no cérebro (Cheng, 2012). Sendo assim, este estudo teve por objetivo avaliar *in vivo* os efeitos da *Ilex paraguariensis* com relação ao acúmulo de metais em tecidos de ratas da linhagem *Wistar* submetidas à dieta hiperlipídica.

2. METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado com tecidos de 32 ratas adultas (60 dias) *Rattus Novergicus* da linhagem *Wistar*. Os animais foram obtidos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas e, após cinco dias de adaptação, o ensaio biológico foi conduzido por 34 dias. Os animais foram mantidos em gabinetes ventilados, em caixas de polipropileno agrupados em quatro ratas por caixa, sendo a temperatura e umidade relativa do ar controladas na faixa de 22-24°C e 65-75%, respectivamente, e ciclo claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais (n=8): dieta padrão (4% de lipídios) + água *ad libitum* (PA); dieta padrão (4% de lipídios) + extrato de *Ilex paraguariensis* *ad libitum* (PIP); dieta hiperlipídica (25% de teor

lipídico) + água *ad libitum* (HA); dieta hiperlipídica (25% de teor lipídico) + extrato de *Ilex paraguariensis ad libitum* (HIP). As dietas foram elaboradas em laboratório, segundo as recomendações do *American Institute of Nutrition - AIN93-M* para roedores (Reeves, 1993). O extrato de *Ilex paraguariensis* foi preparado na respectiva concentração e temperatura 10% a 70°C, por se assemelhar a ingestão humana.

Os 32 animais foram eutanasiados no 34º dia, mantidos anteriormente em jejum de 12 horas e, em seguida, submetidos a decapitação conforme a Resolução do Conselho Federal de Medicina Veterinária nº 714 de junho de 2002, seguindo os Princípios Éticos na Experimentação Animal¹⁵. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPEL (Protocolo nº 1641).

A concentração de metais nos tecidos fígado e córtex foi determinada por meio da digestão em ácido nítrico-perclórico e a leitura realizada por Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) de acordo com a metodologia de Zhang et al. (2009).

Os dados foram analisados estatisticamente por meio de análise de variância de duas vias (Two-Way ANOVA) e teste de Tukey, com nível de significância de 1% e 5% para comparação das médias, através do programa GraphpadPrism 5.0 (Motulsky, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise de Chumbo no fígado (Tabela 1) revelaram que no grupo dieta HA, foi observado um valor significativamente menor (0,19 mg g⁻¹) ($p<0,05$) quando comparado aos grupos PA (0,32 mg g⁻¹) e dieta PIP (0,35 mg g⁻¹). Ao analisar os níveis deste metal entre os grupos dieta padrão e grupos dieta hiperlipídica foi observada diferença significativa ($p>0,05$), sendo que na dieta hiperlipídica observou-se um aumento na concentração deste metal. Sabe-se que o Chumbo é um metal tóxico e que se acumula no organismo, mas ainda não se tem muitas evidências e estudos que relacionem o Chumbo com efeitos no fígado (WHO, 1995).

Tabela 1. Concentração de metais pesados no fígado de ratas *Wistar*, determinada por ICP-OES entre os diferentes grupos analisados. Os resultados foram apresentados em Média (M) ± Erro Padrão (EP).

	PA	PIP	HA	HIP	CV**
	---- mg g ⁻¹ ----				%
Alumínio	14,45 ± 0,18 ^a	16,46 ± 0,11 ^a	14,66 ± 0,18 ^a	18,11 ± 0,17 ^a	06,24 ^{**}
Chumbo	0,32 ± 0,01 ^a	0,35 ± 0,01 ^a	0,19 ± 0,00 ^b	0,24 ± 0,01 ^{ab}	15,51
Níquel	0,03 ± 0,00 ^b	0,06 ± 0,00 ^b	0,08 ± 0,00 ^b	0,17 ± 0,00 ^a	12,85
Cromo	1,01 ± 0,01 ^a	1,15 ± 0,02 ^a	0,72 ± 0,01 ^a	0,94 ± 0,02 ^a	09,39
Cádmio	0,03 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00 ^a	14,05
Cobre	5,79 ± 0,03 ^a	5,83 ± 0,03 ^a	5,72 ± 0,03 ^a	6,12 ± 0,04 ^a	14,29
Selênio	1,40 ± 0,02 ^a	1,38 ± 0,03 ^a	1,32 ± 0,01 ^a	1,63 ± 0,01 ^a	12,24
Arsênio	1,02 ± 0,01 ^a	0,90 ± 0,01 ^a	0,90 ± 0,01 ^a	0,90 ± 0,01 ^a	11,83

*Valores com letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística significativa entre si. **CV: coeficiente de variação.

Já os resultados dos níveis do metal Níquel no fígado (Tabela 1) demonstraram um valor significativamente maior no grupo dieta HIP ($p<0,01$), quando comparados aos demais grupos. Ao analisar os níveis entre os grupos

dieta padrão não foi observada diferença significativa ($p>0,05$), porém ao analisar entre os grupos dieta hiperlipídica houve diferença significativa ($p<0,01$), sendo encontrados valores de $0,08 \text{ mg g}^{-1}$ no grupo HA e, $0,17 \text{ mg g}^{-1}$ no grupo dieta HIP (Tabela 2). Segundo Lee (2001) os componentes de Níquel são carcinogênicos para os seres humanos, visto que a maioria dos experimentos em animais *in vivo* e os dados de genética toxicológica *in vitro* demonstraram que as partículas de Níquel insolúveis eram as mais carcinogênicas.

Tabela 2. Concentração de metais pesados no córtex de ratas *Wistar*, determinada por ICP-OES entre os diferentes grupos analisados. Os resultados foram apresentados em Média (M) \pm Erro Padrão (EP).

	PA	PIP	HA	HIP	CV**
	----- mg g ⁻¹ -----				%
Alumínio	$30,94 \pm 0,04^{\text{ab}}$	$39,67 \pm 0,09^{\text{c}}$	$28,25 \pm 0,04^{\text{b}}$	$31,28 \pm 0,03^{\text{ab}}$	10,92
Chumbo	$0,55 \pm 0,00^{\text{a}}$	$0,50 \pm 0,00^{\text{a}}$	$0,33 \pm 0,00^{\text{a}}$	$0,77 \pm 0,01^{\text{a}}$	10,54
Níquel	$0,12 \pm 0,00^{\text{a}}$	$0,07 \pm 0,00^{\text{a}}$	$0,13 \pm 0,00^{\text{a}}$	$0,09 \pm 0,00^{\text{a}}$	14,62
Cromo	$2,06 \pm 0,00^{\text{a}}$	$2,08 \pm 0,001^{\text{a}}$	$2,14 \pm 0,00^{\text{a}}$	$2,04 \pm 0,00^{\text{a}}$	6,06
Cádmio	$0,09 \pm 0,00^{\text{a}}$	$0,08 \pm 0,00^{\text{a}}$	$0,08 \pm 0,00^{\text{a}}$	$0,09 \pm 0,00^{\text{a}}$	14,90
Cobre	0	0	0	0	0
Selênio	0	0	0	0	0
Arsênio	$5,23 \pm 0,01^{\text{a}}$	$5,38 \pm 0,01^{\text{a}}$	$5,61 \pm 0,01^{\text{a}}$	$5,66 \pm 0,02^{\text{a}}$	15,38

*Valores com letras iguais na mesma linha não apresentam diferença estatística significativa entre si. **CV: coeficiente de variação.

A análise de metais no córtex revelou que o Alumínio foi o único metal que apresentou diferença significativa ($p<0,01$) entre os grupo PIP e os demais grupos analisados, sendo observado um aumento significativo nos níveis deste metal no grupo tratado com *Ilex paraguariensis* (PIP). Quando analisado entre os grupos dieta padrão observou-se que o grupo contendo *Ilex paraguariensis* (PIP) apresentou maior concentração deste metal ($p<0,01$), já ao analisar os grupos dieta hiperlipídica (HA + HIP) foi observada uma tendência à diferença significativa pelo teste de Tukey (Tabela 2).

Nos seres humanos o Alumínio pode acumular-se nos ossos, fígado, rins, coração, sangue e principalmente no encéfalo (Kaizer, 2008). A acumulação do Alumínio principalmente no encéfalo pode ocasionar diversas manifestações neurológicas, dentre elas, podemos citar a encefalopatia, déficits de memória, tremores, espasmos, enfraquecimento da coordenação motora, movimentos lentos, perda de entusiasmo e convulsão generalizada com sintomas de epilepsia (Wu, 2012). Baseado na toxicidade do Alumínio e seus efeitos no crescimento, reprodução, tecido ósseo e fisiologia cerebral, os níveis encontrados não foram considerados elevados, porém é importante ressaltar que o Alumínio pode se acumular no organismo, podendo causar a longo prazo danos à saúde.

4. CONCLUSÕES

Por meio dos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que houve diferença significativa nos níveis de Chumbo no fígado, sendo encontrado níveis maiores nos grupos PA e PIP. Ao analisar o metal Níquel no tecido hepático observou-se níveis significativamente maiores no grupo HIP. Da mesma forma, a análise de metais no córtex revelou que o Alumínio apresentou um aumento significativo nos níveis deste metal no grupo PIP, tratado com *Ilex paraguariensis*. Assim, este estudo demonstra que o consumo diário de *Ilex*

paraguariensis, pode levar futuramente a um possível acúmulo de metais no organismo, acarretando danos à saúde.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CARVALHO P.E.R. *Ilex paraguariensis* Saint-Hilaire; erva-mate. In: Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira. **Brasília: EMBRAPA-CNPF/EMBRAPA-SPI**, p.280-287, 1994.
2. CHENG D.; ZHU C.; CAO J.; JIANG W. The protective effects of polyphenols from jujube peel (*Ziziphus Jujube* Mill) on isoproterenol-induced myocardial ischemia and aluminum-induced oxidative damage in rats. **Food Chemical Toxicology**, v.50, n.5, p.1302-1308, 2012
3. COBEA. Princípios éticos na experimentação animal. Acessado em 8mai. 2014. Online. Disponível em: <http://www.cobea.org.br>.
4. ERNST E. Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines. **Trends Pharmacological Sciences**, v.23, n.3, p.136-139, 2002.
5. FILIP R.; LOTITO S.B.; Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n.10, p.1437-1446, 2000.
6. KAIZER R.R. **Sistemas purinérgico e colinérgico e perfil oxidativo no encéfalo de roedores: influência do Alumínio e de diferentes dietas**. 2008. Centro de Ciências Naturais e Exatas (Pós-graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica). Universidade Federal de Santa Maria.
7. LEE B.K.; LEE G.S.; STEWART W.F.; AHN K.D.; SIMON D.; KELSEY K.T.; TODD A.C.; SCHWARTZ B.S. Associations of blood pressure and hypertension with lead dose measures and polymorphisms in the vitamin D receptor and delta-aminolevulinic acid dehydratase. **Environmental Health Perspectives**, v.109, n.4, p.383-389, 2001.
8. MOTULSKY H. In: GraphPad Prism 5: Statistics Guide, GraphPad Software Inc. Press, San Diego CA: 2007.
9. WU Z.; DU Y.; XUE H.; WU Y.; ZHOU B. Aluminium induces neurodegeneration and its toxicity arises from increased iron accumulation and reactive oxygen species (ROS) production. **Neurobiology of Aging**, v.33, n.1, p.1-12, 2012.
10. REEVES P.G.; NIELSEN F.H.; FAHEY, G.C.Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. **Journal of Nutrition**, v.123, n.11, p.1939-1951. 1993.
11. SANZ T.; ISASAT. Mineral elements in mate (*Ilex-paraguariensis* sthil). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.41, n.3, p.441-454, 1991.
12. PASCALICCHIO A.A.E. Contaminação por metais pesados. **Annablume**, São Paulo, p. 134, 2002.
13. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Environmental health criteria 165: inorganic lead. IPCS (International Programme on Chemical Safety). Geneva: WHO; 1995.
14. ZHANG B.; ZHOU K.; ZHANG J.; Chen Q.; LIU G.; SHANG N.; QIN W.; LI P.; LIN F. Accumulation and species distribution of selenium in Se-enriched bacterial cells of the *Bifidobacterium animalis* 01. **Food Chemistry**, v.115, n.2, p.72, 2009.