



UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO



A AÇÃO DO ÁCIDO GRAXO ÔMEGA 3 PROVENIENTE DE PESCADO DE BAIXO VALOR ECONÔMICO NA MACROSCOPIA DE ÓRGÃOS DE CAMUNDONGOS HIPOXEMIADOS

Tainá Henrique Gomes da Silva¹, Alice Araújo de Castro¹, Bruno Carvalho da Silva², Caroline Passos Vieira da Costa Rezende¹, Giulia Corrêa Marques de Barros¹, Stella Alves Benjamin¹, Vinícius Justiniano de Oliveira¹, Kátia Calvi Lenzi de Almeida³, Juliana Tomaz Pacheco Latini⁴

^{1,2}Discentes

^{1,3}Instituto de Ciências Médicas

²Instituto de Enfermagem

^{3,4}Docentes

⁴Instituto de Ciências Farmacêuticas

Centro Multidisciplinar da Universidade Federal do Rio de Janeiro – Macaé (CM-UFRJ/Macaé)

RESUMO

A ação dos ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), especialmente o DHA (ácido docosa-exahenoico) e AA (ácido araquidônico) em relação ao Sistema Nervoso Central, incluindo participação sobre seu crescimento, função e integridade, especialmente no período de desenvolvimento neuronal natal e infantil já é bem documentada na literatura, principalmente os ácidos graxos essenciais oriundos de fontes marinhas. Contudo, além do custo ser relativamente elevado para grande parte da população brasileira, alguns peixes são susceptíveis a sofrerem contaminação por metais na água e no solo. Metais pesados, como mercúrio, chumbo e cádmio são capazes de bioacumular-se nos tecidos das espécies aquáticas, provocando riscos à saúde humana. Desta forma, este trabalho objetivou analisar a influência do consumo do ácido graxo ômega 3 proveniente de pescado de baixa importância econômica no peso relativo e macroscopia de órgãos de camundongos hipoxemiados. Nossos resultados prévios não demonstraram nenhuma influência do ácido graxo em questão, porém são necessários mais estudos que corroborem tais achados, haja visto o curto tempo deste protocolo experimental.

INTRODUÇÃO

É importante destacar a ação dos ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), especialmente o DHA (ácido docosa-exahenoico) e AA (ácido araquidônico) em relação ao Sistema Nervoso Central, incluindo participação sobre seu crescimento, função e integridade, especialmente no período de desenvolvimento neuronal natal e infantil (BAZAN et al., 2011; CARBONE et al., 2020).

Nesse contexto, os ácidos graxos (AGE) Linoléico (AL, 18:2n-6) e a-Linolênico (ALA, 18:3n-3), considerados essenciais (AGE), também apresentam importantes funções. O consumo de n-3 pode reduzir o risco para doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer e Parkinson (ESCHEVERRIA et al., 2017). Além disso, o consumo de AGEs é associado também à redução do risco de doenças cardiovasculares,



manutenção dos níveis adequados de triglicerídeos e auxilia no processo de cicatrização de feridas (Grandini et al., 2020).

Dentre as principais fontes de AGE estão os pescados marítimos (Escheverria et al., 2017), como peixes atum, arenque, sardinha, bacalhau, cavala e salmão. Contudo, além do custo ser relativamente elevado para grande parte da população brasileira, alguns peixes são susceptíveis a sofrerem fraudes alimentares (LATINI et al., 2020; DUDUS et al., 2020) e contaminação por metais na água e no solo. Metais pesados, como mercúrio, chumbo e cádmio são capazes de bioacumular-se nos tecidos das espécies aquáticas, provocando riscos à saúde humana (REIS JUNIOR, 2014; LIMA, 2013).

Da mesma forma que pouco se sabe sobre se a ação funcional do ômega-3 pode ser influenciada pela ação tóxica de metais pesados e contaminantes presentes em pescado marítimo, há também uma escassez de estudos testando o potencial terapêutico deste ácido graxo, especialmente frente a paralisia cerebral infantil a partir de lesões provocadas pela hipóxia em filhotes, assim como a capacidade funcional do ácido graxo ômega 3 em atenuar esses danos teciduais, o que justifica a realização deste estudo piloto.

OBJETIVOS

Geral:

Analisar a influência do consumo do ácido graxo ômega 3 proveniente de pescado de baixa importância econômica no peso relativo e macroscopia de órgãos de camundongos hipoxemiados.

Específicos:

- Analisar o perfil alimentar e consumo de ácido graxo ômega 3 dos camundongos;
- Avaliar dados de peso relativo de órgãos e dados macroscópicos de camundongos alimentados com pescado de baixa importância econômica ricos em ômega 3;
- Correlacionar os dados obtidos nos grupos experimentais com dados literários para elucidar as dúvidas levantadas neste trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

Caracterização das amostras

Inicialmente, através de visitas ao Mercado Municipal de Peixes de Macaé/RJ e entrevistas com os comerciantes locais, foram identificadas as espécies de pescado mais comumente comercializadas no local. Foram, então, realizadas a seleção e coleta da espécie mais comercializadas para estudo, sendo esta o Dourado (*Coryphaena hippurus*)..

Após identificação das espécies, foi feita a caracterização nutricional foi feito perfil de ácidos graxos nas amostras da mesma, realizada através de cromatografia em fase gasosa, segundo a metodologia descrita por Lenzi et al. (2011). Tais análises se fazem necessárias para identificação das amostras de peixe com maior teor de AGEs, especificamente, de ácido graxo n-3. Após serem analisadas, foram escolhidas as amostras com maior teor deste e as mesmas serão utilizadas para o preparo das rações experimentais que serão dadas aos animais, como descrito posteriormente.



Ensaio Biológico

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas estabelecidas no guia convencional para experimentação animal (Publicação NIH N°85-23, revisado em 1996) e as recomendações nacionais impostas pela Lei Arouca (11.794/2008). O projeto foi submetido aprovado sob o número 036/22 pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da UFRJ para certificações éticas.

No ensaio biológico piloto, foram utilizados 10 camundongos suíços filhotes (*Mus Musculus*), que formaram o grupo a seguir.

•GPescado(n=10): recebendo ração à base de caseína adicionada da farinha liofilizada do pescado selecionado, hipoxemiados;

Ao primeiro dia de nascimento (P0), os filhotes passaram pelo processo de hipóxia. Para realização deste procedimento, no período de até duas horas após o nascimento, os filhotes destinados ao insulto hipóxico, foram separados de suas mães e colocados em câmara própria, hermeticamente fechada, recebendo 99,9% de Nitrogênio durante 20 minutos. Após esse tempo, foram recolocados junto às mães.

Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas (n=3/gaiola), com temperatura constante ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) e iluminação controlada, ciclo claro-escuro 12/12h, recebendo água e ração *ad libitum* durante todo o ensaio. Ao fim de 30 dias de vida, cada filhote passou por testes de desenvolvimento cognitivo no Labirinto em Cruz Elevada para avaliação de parâmetros relacionados a transtorno de ansiedade e estresse (JUNIOR et al., 2005), ao findar dos mesmos, os filhotes foram eutanasiados para coleta de material biológico para posteriores análises macroscópicas.

Perfil Alimentar e Ganho Ponderal

Durante todo o experimento, para determinação do Perfil Alimentar, foi realizada a pesagem dos animais duas vezes na semana para avaliação de ganho ponderal dos mesmos. As rações ofertadas foram pesadas em dias alternados para verificar a quantidade ingerida de cada animal e consequente consumo de ração dos mesmos.

Nos dados, aplicou-se Anova ou Kruskal-Wallis, utilizando-se o Software Splus versão 8.0. Os dados estão apresentados na forma de média em tabelas. Os dados obtidos pelo grupo experimental descrito aqui foram comparados com dados descritos na literatura para fins de discussão.

RESULTADO E DISCUSSÃO

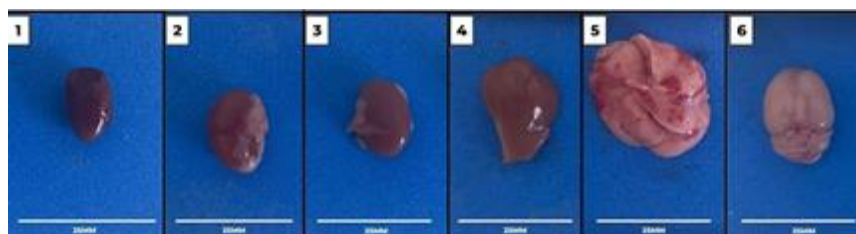
Quadro 1 – Médias entre os pesos relativos dos órgãos/peso corporal Grupo Pescado x Dados da literatura



Médias entre os pesos relativos dos órgãos/peso corporal PESCADO e CONTROLE				
	MACHO PESCADO	FÊMEA PESCADO	MACHO CONTROLE	FÊMEA CONTROLE
Peso corporal	40,03g	44,93g	40g	30g
peso cérebro	0,448g	0,403g	0,442g	
peso coração	0,188g	0,198g	0,139g	
peso pulmão	0,288g	0,340g	0,214g	
peso rim D	0,295g	0,243g	0,246g	
peso rim E	0,282g	0,255g	0,196g	

Ao analisar o Quadro 1, podemos observar que os dados obtidos neste experimento são muito semelhantes aos descritos na literatura para animais com idades semelhantes aos camundongos utilizados neste trabalho, com diferença apenas para o gênero dos mesmos, o que corrobora com o descrito por Silva-Santana et al. (2021).

Figuras – Dados macroscópicos dos animais alimentados com pescado por 30 dias de experimentação animal



A avaliação macroscópica dos órgãos dos animais que consumiram ração à base de Dourado (*Coryphaena hippurus*) e que foram submetidos a hipóxia neonatal, foi notado o seguinte: O coração apresentou forma e volume preservados, porém uma coloração vinho. Notou-se que o ápice apresentava um coágulo (Figura 1). Os rins E estavam sem alterações, demonstrando superfície lisa e coloração avermelhada (Figura 3). Já o rim D apresentou volume discretamente maior e com áreas hipocromáticas (Figura 2). No que se refere aos fígados, foi notado que os bordos estavam discretamente arredondados e com uma coloração pálida, levemente amarelada em algumas regiões (Figura 4). A análise dos pulmões mostrou estrutura e forma com aspectos normais, porém crepitação reduzida e coloração alterada, com regiões ou mesmo lobos inteiros bastante esbranquiçados ou rosa opacos (Figura 5). Já os cérebros apresentaram volume discretamente aumentado, além de vascularização pouco evidente na superfície. (Figura 6). Os globos oculares não apresentaram alterações macroscópicas significativas.



CONCLUSÃO

Os dados obtidos neste ensaio piloto não demonstraram influência do ácido graxo ômega 3 sobre os parâmetros estudados. A análise macroscópica não identificou a presença de nenhuma ação danosa relacionada à metais contaminantes do pescado utilizado, e, por conseguinte, não nos permitiu a constatar nenhuma ação protetora deste ácido graxo nos órgãos dos animais submetidos ao processo hipóxico. Devido ao curto tempo de ensaio deste estudo piloto são necessários mais estudos que corroborem com os dados descritos aqui.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAZAN, N.G.; MOLINA, M.F.; GORDON, W.C. Docosahexaenoic acid Signal lipidomics in nutrition: Significance in aging, neuroinflammation, macular degeneration, Alzheimer's, and other neurodegenerative diseases. **Annu. Rev. Nutr.** 2011, 31, 321–351.
2. CARBONE, B.E.; ABOULEISH, M., WATTERS, K.E; VOGEL, S.; RIBIC, A.;SCHROEDER, OH-U, BADER, B.M., BIEDERER, T. Synaptic Connectivity and Cortical Maturation Are Promoted by the ω -3 Fatty Acid Docosahexaenoic Acid. **Cerebral Cortex**, Volume 30, Issue 1, January 2020.
3. ECHEVERRÍA, F.; VALENZUELA, R.; HERNANDEZ-RODASA, M. C.; VALENZUELA, A. Docosahexaenoic Acid (DHA), a Fundamental Fatty Acid for the Brain: New Dietary Sources. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 124, p. 1–10, set. 2017.
4. GRANDINI, N.A.; FRANÇA, T.C.J; SANTOS, S.H.A; MATTOS-JÚNIOR, A.;NOGUEIRA, T.A.; LENZI-ALMEIDA, K.C; LATINI, J.T.P. A ação de suplementos de óleo de peixe no reparo tecidual de camundongos lesionados. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n.5, p.26130-26143 maio. 2020.
5. LATINI, J.T.P.; DUDUS, M.M.; SOUTO, M.M.; VILELA, I.G.O.; OLIVEIRA, I.J.P.HERDY, R.F. S.H., WU, X. LENZI-ALMEIDA, K.C. Ação toxicológica da cantaxantina sobre a morfologia de rins e fígados da prole de camundongos que consumiram truta salmonada. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v. 6, n. 4, p.20850-20866, apr. 2020.
6. DUDUS, M.M; LATINI, J.T.P.; SOUTO, M.M.; VILELA, I.G.O.; CALIXTO, F.A.A.; LENZI-ALMEIDA, K.C. The Consumption of Salmon Trout as a Risk Factor for Hepatic Steatosis in Murines. **J Nutri Bio**, 6(1): 405-411 (2020).
7. REIS JUNIOR, J. J. C.; SILVA, C. A.. Determinação de Mercúrio, Chumbo, Cádmiio e Arsênio em Peixes Marinhos Comercializados em Aracaju: Implicações e Risco à Saúde Humana. Aracaju: **Embrapa Tabuleiros Costeiros**, 2014.
8. SANTANA, S. G. ; SILVA, L. E. ; SILVA, J. F. R. ; G. ALEXIA ; MATTOS-GUARALDI, A. L. ; LENZI-ALMEIDA, K. C. Descriptive Comparative Anatomohistological Study of the Main Dissected Organs of *Mus musculus* and *Rattus norvegicus* for Experimental Model Research. **Analytical and Quantitative Cytopathology and Histopathology**, v. 43, p. 90-106, 2021.