

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO  
TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS – UFPB/UFRN/UFC/UFRPE

WILMA RIBEIRO COUTINHO DE ALMEIDA GUEDES PIRES

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE NÃO-CLÍNICA DO SUCO,  
DA GELEIA E DO IOGURTE DE *PILOSOCEREUS GOUNELLEI*  
(F.A.C.WEBER)**

JOÃO PESSOA - PB

2021

WILMA RIBEIRO COUTINHO DE ALMEIDA GUEDES PIRES

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE NÃO-CLÍNICA DO SUCO,  
DA GELEIA E DO IOGURTE DE *PILOSOCEREUS GOUNELLEI*  
(F.A.C.WEBER)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como um dos requisitos para obtenção do título de DOUTORA EM DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS. Linha de pesquisa: TOXICOLOGIA NÃO CLÍNICA E CLÍNICA.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz

JOÃO PESSOA - PB

2021



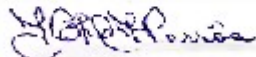
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM  
MEDICAMENTOS (UFRN/UFPB/UFRPE/UFC)



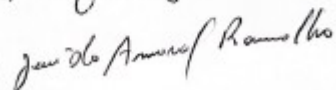
Ata da décima oitava defesa de tese de doutorado no Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos do WILMA RIBEIRO COUTINHO DE ALMEIDA GUEDES PIRES, candidata ao Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos/UFPB.

Às quatorze horas e trinta minutos (14:30) do dia vinte e um de setembro do ano de dois mil e vinte um (21/09/2021), na sala virtual, reuniram-se em caráter de Solenidade pública os membros da Comissão designada para examinar a aluna **Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida Guedes Pires**, candidata ao Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos. Foram componentes da Banca Examinadora os Professores Doutores: Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz (orientadora), Hílzeth de Luna Freire Pessoa (examinadora interna), Reinaldo Nóbrega de Almeida (examinador interno), Josué do Amaral Ramalho (examinador externo-ICTQ) e Tarciana Vieira da Costa (examinador externo-FCM). Dando início aos trabalhos a presidente da banca Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata, **Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida Guedes Pires**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Avaliação da toxicidade não clínica do suco, da geléia e do iogurte da geléia do *Pilosocereus gounellei*". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de cinquenta minutos, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma Regimental. Em seguida passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito APROVADO. Em face da aprovação declarou a presidente achar-se a examinada, **Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida Guedes Pires**, legalmente habilitada a receber o Título de "Doutor" em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, área Farmácia, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que o mesmo faz jus. Os trabalhos foram encerrados determinando a leitura para fins de aprovação e a lavratura da presente ata devidamente assinada por todos os membros da Banca Examinadora.

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz (presidente) 

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Hílzeth de Luna Freire Pessoa (Examinadora Interna) 

Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida (Examinador Interno) 

Prof. Dr. Josué do Amaral Ramalho (Examinador Externo) 

Prof. Dr.<sup>a</sup> Tarciana Vieira da Costa (Examinadora Externa) 

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

P667a Pires, Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida Guedes.  
Avaliação da toxicidade não clínica do suco, da  
geléia e do iogurte de *Pilosocereus gounellei*  
(F.A.C.WEBER) / Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida  
Guedes Pires. - João Pessoa, 2021.  
118 f. : il.

Orientação: Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz.  
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Toxicidade. 2. *Pilosocereus gounellei*. 3.  
Xique-xique. 4. Iogurte. I. Diniz, Margareth de Fátima  
Formiga Melo. II. Título.

UFPB/BC

CDU 615.9(043)

WILMA RIBEIRO COUTINHO DE ALMEIDA GUEDES PIRES

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE NÃO-CLÍNICA DO SUCO,  
DA GELEIA E DO IOGURTE DE *PILOSOCEREUS GOUNELLEI***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de DOUTORA EM DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS.

Tese aprovada em: 21/09/2021.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz  
(Universidade Federal da Paraíba)  
Orientadora

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Hilzeth de Luna Freire Pessoa

---

Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tarciana Vieira da Costa

---

Prof. Dr. Josué do Amaral Ramalho

Aos meus amados pais Gilson e Edla, que sempre estiveram ao meu lado, mostrando desde pequena que o conhecimento é a melhor herança que um pai pode deixar para um filho, obrigada por sempre sonharem junto comigo. Ao meu amado marido André, por todo amor, cumplicidade, dedicação e por sempre estar junto comigo nessa caminhada.

Aos meus filhos, João e Maria Luísa, que mesmo nos dias mais difíceis estavam presentes iluminando minha vida e que tanto me incentivaram enchendo minha vida de amor e carinho.

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, quero agradecer a Deus, por ter abençoado todos os dias da minha vida, por iluminar meu caminho e me dar forças para seguir sempre em frente.

Ao meu querido marido e companheiro de vida, **André Araújo Pires**, por sempre estar ao meu lado, com paciência, amor e dedicação.

Aos meus amados filhos **João e Maria Luísa**, que me fortaleciam nos momentos de maior dificuldade.

Aos meus amados pais, **Gilson Espínola Guedes Filho e Edla Julinda Ribeiro Coutinho Espínola Guedes**, por serem meus maiores exemplos e incentivadores e por terem acreditado em mim.

Aos meus irmãos: **Andreia Julinda Guedes Becker, Rafaela Julinda Guedes Belmont e Gilson Espínola Guedes Neto**, pelas palavras: de apoio, pela união e compreensão.

Aos meus avós **Gilson Espínola Guedes (*in memoriam*), Wilma de Almeida Ferreira Guedes** que sempre me apoiaram em todos os meus caminhos, me encheram de amor e carinho.

A minha saudosa avó **Maria Julinda Ribeiro Coutinho (*in memoriam*)**, por todos os ensinamentos ao longo da minha vida.

À minha orientadora, **Prof<sup>a</sup>. Dra. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz**, por ter aceitado a jornada de me orientar e me conduzir neste árduo caminho de estudos. Agradeço por seus ensinamentos e por ser para mim, um modelo de profissional exemplar e ser humano a seguir.

À **Prof<sup>a</sup>. Dra. Caliandra Maria Bezerra Luna Lima**, pela paciência e confiança neste trabalho.

À querida **Prof<sup>a</sup>. Dra Maria de Fátima Vanderley Souza**, que esteve sempre pronta a ajudar e por seus valiosos ensinamentos e a sempre disponibilidade. E também, por ter cedido a planta para o trabalho.

À professora **Rita de Cássia Queiroga Ramos do Egypto (*in memoriam*)**, por ter gentilmente cedido os produtos do xique-xique, que nortearam o desenrolar deste trabalho. E ainda mais por suas palavras de incentivo, seus ensinamentos e toda contribuição literária tão importante para o desenvolvimento desta tese. Pelo exemplo de profissional dedicada que trabalha com amor e com muita sapiência em tudo que faz.

À querida amiga, companheira de doutorado **Kardilândia Mendes de Oliveira**, pela ajuda na realização dos exames laboratoriais e pelo incentivo na fase final do projeto.

Aos queridos **Josué e Luciana Ramalho**, pela paciência e ajuda em todas as fases deste projeto.

À **Alexandre Rolim Paz**, pelo grande auxílio nos exames histopatológicos.

À **Micheline Donato**, que abriu as portas do LABETOX e tanto ajudou nos ensaios de toxicidade.

À **Igor e Thyfanne**, pelo auxílio no cuidado e manutenção dos animais e por desenvolverem a parte experimental junto comigo.

À professora **Danielle Idalino**, pela ajuda na realização dos exames laboratoriais.

Aos funcionários do Biotério/UFPB, **José Crispim Duarte e Roberta Nunes Parentoni**, pelo importante papel na execução deste trabalho.

Aos queridos professores da pós-graduação, pelos bons momentos de aprendizado.

Aos companheiros e amigos de pós-graduação, pelos bons momentos compartilhados.

Às demais pessoas que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho, ou participaram da minha vida, e que, por ventura, eu tenha me esquecido de agradecer.



*Aquele que habita no abrigo do Altíssimo e descansa à sombra do Todo-poderoso pode dizer ao Senhor: “Tu és o meu refúgio e a minha fortaleza, o meu Deus, em quem confio”.*

Salmos 91:1-2

PIRES, W.R.C.A.G. AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE NÃO-CLÍNICA DO SUCO DA GELEIA E DO IOGURTE DE *PILOSOCEREUS GOUNELLEI*. 2021. 116f. Tese. Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos - UFPB/UFRN/UFC/UFRPE.

## RESUMO

A espécie *Pilosocereus gounellei* pertencente à família Cactaceae, tem sido usada popularmente por seus efeitos anti-inflamatório, antiulceroso e anti-hiperglicêmico. A sua ampla utilização na medicina popular justifica a realização dos estudos de toxicidade que garantam a segurança de seu uso. Neste sentido o objetivo deste trabalho é realizar uma avaliação toxicológica não clínica de três produtos derivados do *P. gounellei*, com base no Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica e nas OECDs 407 e 423. No ensaio toxicológico agudo, foram testados o suco, o iogurte e a geleia do *P. gounellei*. Para tanto, foram utilizados 36 ratos Wistar fêmeas que receberam 2000mg/kg, via oral, dose única, de cada substância e foram mantidas em observação por 14 dias. No ensaio de toxicidade subcrônico foi utilizado apenas o suco do *P. gounellei*, administrado por via oral (gavagem), diariamente, durante o período de 28 dias, em concentrações pré-definidas (5mL/kg; 7,5mL/kg; 10mL/kg). Durante os períodos de observação os animais foram avaliados com relação ao consumo de água, ração e evolução ponderal. Posteriormente, foi realizado a eutanásia e autopsia dos ratos. Foram avaliados parâmetros hematológicos, bioquímicos, e realizado exame anatomopatológico e histopatológico. No ensaio de toxicidade aguda todos os animais apresentaram diminuição de peso, sem, contudo, ocorrer alteração no consumo de ração. Nos grupos do suco e geleia houve diminuição no consumo de água. No grupo do suco verificou-se diminuição de ureia, lipase e aumento de cloro e magnésio. No grupo da geleia evidenciou-se aumento de alanina aminotransferase e volume corpuscular médio. Naqueles que receberam o iogurte ocorreu diminuição de fósforo e magnésio, hematócrito e linfócitos. No ensaio de toxicidade subcrônica. Houve diminuição da hemoglobina e hematócrito em os grupos de ratas estudados. Conclui-se, assim, com relação ao estudo de toxicidade aguda, que o suco e o iogurte da geleia do *P. gounellei* possuem baixa toxicidade. Em relação à geleia do *P. gounellei*, pode-se inferir que mais estudos são necessários para descartar hepatotoxicidade, já que a mesma ocasionou elevação discreta de ALT e AST. Com relação ao estudo de toxicidade subcrônica pode-se inferir que o consumo pelas fêmeas do suco do *P. gounellei* nas três diferentes doses, causou alterações significativas do ponto de vista hematológico.

**Palavras-chave:** Toxicidade. *P. gounellei*. Xique-xique. Iogurte caprino. Plantas medicinais.

PIRES, W.R.C.A.G. EVALUATION OF NON-CLINICAL TOXICITY OF *PILOSOCEREUS GOUNELLEI* JELLY JUICE AND YOGURT. 2021. 116f. Thesis. Graduate Program in Development and Technological Innovation in Medicines - UFPB/UFRN/UFC/UFRPE.

## ABSTRACT

A *Pilosocereus gounellei* species belonging to the Cactaceae family, it has been popularly used for its anti-inflammatory, anti-ulcer and anti-hyperglycemic effects. Its wide use in folk medicine justifies carrying out toxicity studies that guarantee the safety of its use. In this sense, the objective of this work is to carry out a non-clinical toxicological evaluation of three products derived from *P. gounellei*, based on the Guide for the conduct of non-clinical studies of toxicology and pharmacological safety and on OECD 407 and 423. No acute toxicological test, *P. gounellei* juice, yogurt and jelly were tested. For this purpose, 36 approved Wistar rats were used, which received 2000mg / kg, orally, in a single dose, of each substance and were kept under observation for 14 days. In the subchronic toxicity test was used, only the juice of *P. gounellei*, administered orally (gavage), daily, during a period of 28 days, in a predefined period (5mL/kg; 7,5mL/ kg; 10 mL/kg). During the observation periods, the animals were taken in relation to the consumption of water, feed and weight gain. Subsequently, the rats were euthanized and autopsied. Hematological and biochemical parameters were evaluated, and anatomopathological examination was performed. In the acute toxicity, testing all animals dissipated in weight, with no change in feed intake. In the juice and jelly groups, there was a decrease in water consumption. In the juice group, there was a decrease in urea, lipase and an increase in chlorine and magnesium. In the jelly group, there was an increase in alanine aminotransferase and mean corpuscular volume. In those who received the yogurt, there was a decrease in phosphorus and magnesium, hematocrit and lymphocytes. In the chronic toxicity assay, there was a decrease in hemoglobin and hematocrit in all groups of rats studied. Therefore, in relation to the acute toxicity study, it can be concluded that the juice and yoghurt of the *P. gounellei* jelly have low toxicity. Regarding *P. gounellei* jelly, it can be inferred that more studies are leveled to rule out hepatotoxicity, since it caused a slight increase in ALT and AST. Regarding the study of subchronic toxicity, it can be inferred that consumption due to *P. gounellei* juice in three different doses caused relevant alterations from a hematological point of view.

**Keywords:** Toxicity. *P. gounellei*. Xique-xique. Goat yogurt. Medicinal plants.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> - Fotomicrografias representativas do coração dos grupos experimentais.....  | 55 |
| <b>Figura 2</b> - Fotomicrografias representativas do estômago dos grupos experimentais..... | 56 |
| <b>Figura 3</b> - Fotomicrografias representativas de fígado dos grupos experimentais.....   | 57 |
| <b>Figura 4</b> - Fotomicrografias representativas de pulmões dos grupos experimentais.....  | 58 |
| <b>Figura 5</b> - Fotomicrografias representativas de rins dos grupos experimentais.....     | 59 |

## LISTA DE GRÁFICOS

|                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gráfico 1</b> - Consumo de Água de Ratos Wistar fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, do suco, geleia e iogurte com geleia do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....      | 43 |
| <b>Gráfico 2</b> - Consumo de ração de Ratos Wistar fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, do suco, geleia e iogurte com geleia do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....     | 44 |
| <b>Gráfico 3</b> - Delta de ganho de peso de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, de iogurte com geleia do <i>P. gounellei</i> , durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda..... | 45 |
| <b>Gráfico 4</b> - Delta de ganho de peso de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, com a geleia do <i>P. gounellei</i> , durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda.....          | 45 |
| <b>Gráfico 5</b> - Delta de ganho de peso de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, com o suco do <i>P. gounellei</i> , durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda.....            | 46 |
| <b>Gráfico 6</b> - Ureia dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o suco do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                                                       | 48 |
| <b>Gráfico 7</b> - Lipase dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o suco do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                                                      | 48 |
| <b>Gráfico 8</b> - Cloro dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o suco do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                                                       | 49 |
| <b>Gráfico 9</b> - Magnésio dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o suco do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                                                    | 49 |
| <b>Gráfico 10</b> - LT Dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com a geleia da polpa do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                                              | 50 |
| <b>Gráfico 11</b> - LDH dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                                 | 50 |
| <b>Gráfico 12</b> - Fósforo dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                             | 51 |
| <b>Gráfico 13</b> - Magnésio dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                            | 51 |
| <b>Gráfico 14</b> - VCM dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com a geleia da polpa do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                                             | 53 |

|                                                                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gráfico 15</b> - RDW dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com a geleia da polpa do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                                   | 53 |
| <b>Gráfico 16</b> - Hematócrito dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia da polpa do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....      | 53 |
| <b>Gráfico 17</b> - Linfócitos dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia da polpa do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....       | 54 |
| <b>Gráfico 18</b> - RDW dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda.....                       | 54 |
| <b>Gráfico 19</b> - Consumo de ração dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a primeira semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....        | 60 |
| <b>Gráfico 20</b> - Consumo de ração dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a segunda semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....         | 61 |
| <b>Gráfico 21</b> - Consumo de ração dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a terceira semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....        | 61 |
| <b>Gráfico 22</b> - Consumo de ração das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a segunda semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....         | 62 |
| <b>Gráfico 23</b> - Consumo de ração semana das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a terceira semana do ensaio de toxicidade subcrônica..... | 62 |
| <b>Gráfico 24</b> - Consumo de ração das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....          | 62 |
| <b>Gráfico 25</b> - Consumo de água dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....           | 64 |
| <b>Gráfico 26</b> - Consumo de água dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a segunda semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....          | 64 |
| <b>Gráfico 27</b> - Consumo de água dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....           | 64 |
| <b>Gráfico 28</b> - Consumo de água das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a segunda semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....          | 65 |

|                                                                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gráfico 29</b> - Consumo de água das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a terceira semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....     | 65 |
| <b>Gráfico 30</b> - Consumo de água das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante a quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica.....       | 66 |
| <b>Gráfico 31</b> - Evolução ponderal dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> , durante a primeira semana do ensaio de toxicidade subcrônica..... | 67 |
| <b>Gráfico 32</b> - Amilase das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....                    | 69 |
| <b>Gráfico 33</b> - Globulina das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....                  | 70 |
| <b>Gráfico 34</b> - Sódio dos machos tratados com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica..                         | 70 |
| <b>Gráfico 35</b> - Triglicerídeos dos machos tratados com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....             | 71 |
| <b>Gráfico 36</b> - Hemácias das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....                   | 73 |
| <b>Gráfico 37</b> - Hemoglobina das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....                | 73 |
| <b>Gráfico 38</b> - Hematócrito das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....                | 73 |
| <b>Gráfico 39</b> - VCM das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica..                           | 74 |
| <b>Gráfico 40</b> - Neutrófilos das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....                | 74 |
| <b>Gráfico 41</b> - Linfócitos das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....                 | 74 |
| <b>Gráfico 42</b> - Plaquetas das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....                  | 75 |
| <b>Gráfico 43</b> - VPM das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do <i>P. gounellei</i> durante o ensaio de toxicidade subcrônica.....                        | 75 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> - Consumo de água e ração de Ratos Wistar fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, do suco, geleia e iogurte com geleia do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda..... | 42 |
| <b>Tabela 2 A</b> - Parâmetros Bioquímicos de Ratos Wistar tratados com a dose de 2000 mg/kg do suco, da geleia e do iogurte com a geleia do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda..... | 47 |
| <b>Tabela 2 B</b> - Parâmetros Bioquímicos de Ratos Wistar tratados com a dose de 2000 mg/kg do suco, da geleia e do iogurte com a geleia do <i>P. gounellei</i> , durante o ensaio de toxicidade aguda..... | 47 |
| <b>Tabela 3</b> - Parâmetros hematológicos de Ratos Wistar tratados com suco, geleia e iogurte com a geleia do <i>P. gounellei</i> na dose de 2000 mg/kg durante o ensaio de toxicidade aguda.....           | 52 |
| <b>Tabela 4</b> - Consumo semanal de ração por ratos Wistar.....                                                                                                                                             | 60 |
| <b>Tabela 5</b> - Consumo semanal de água por ratos Wistar.....                                                                                                                                              | 63 |
| <b>Tabela 6</b> - Ganho de peso dos ratos Wistar.....                                                                                                                                                        | 66 |
| <b>Tabela 7</b> - Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos Wistar.....                                                                                                                              | 68 |
| <b>Tabela 8</b> - Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos Wistar.....                                                                                                                              | 68 |
| <b>Tabela 9</b> - Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos Wistar.....                                                                                                                              | 69 |
| <b>Tabela 10</b> - Parâmetros hematológicos obtidos do sangue de ratos Wistar 1.                                                                                                                             | 72 |
| <b>Tabela 11</b> - Parâmetros hematológicos obtidos do sangue de ratos Wistar...                                                                                                                             | 72 |



## LISTA DE ABREVIATURAS

|                       |                                                                |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------|
| <b>ADH</b>            | Hormônio Antidiurético                                         |
| <b>ALT</b>            | Alanina Aminotransferase                                       |
| <b>ANVISA</b>         | Agência Nacional de Vigilância Sanitária                       |
| <b>AST</b>            | Aspartato Aminotransferase                                     |
| <b>Bb</b>             | Bilirrubina                                                    |
| <b>BMD</b>            | Benchmark Dose (dose de referência)                            |
| <b>CAM</b>            | Metabolismo Ácido das Crassuláceas                             |
| <b>CCA/UFPB</b>       | Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba |
| <b>CEUA</b>           | Comitê de Ética em Uso de Animais                              |
| <b>CONCEA</b>         | Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal         |
| <b>CO<sub>2</sub></b> | Dióxido de Carbono                                             |
| <b>CHCM</b>           | Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média                  |
| <b>CPK</b>            | Creatinofosfoquinase                                           |
| <b>CT-I</b>           | Controle do logurte                                            |
| <b>CT-G</b>           | Controle da Geleia                                             |
| <b>CT-S</b>           | Controle do Suco                                               |
| <b>DL50</b>           | Dose Letal 50%                                                 |
| <b>DNA</b>            | Ácido Desoxirribonucleico                                      |
| <b>EDTA</b>           | Ácido Etilenodiamino Tetracético                               |
| <b>EECPG</b>          | Extrato Etanólico do Caule do P. Gounellei                     |
| <b>EERPG</b>          | Extrato Etanólico da Raiz do P. Gounellei                      |
| <b>FA</b>             | Fosfatase Alcalina                                             |
| <b>GGT</b>            | Gama Glutamil Transferase                                      |
| <b>GSH</b>            | Globally Harmonized Classification System                      |
| <b>Hb</b>             | Hemoglobina                                                    |
| <b>Ht</b>             | Hematócrito                                                    |
| <b>HDL</b>            | High Density Lipoprotein                                       |
| <b>HE</b>             | Hematoxilina e Eosina                                          |
| <b>HCM</b>            | Hemoglobina Corpuscular Média                                  |
| <b>IL-10</b>          | Interleucina 10                                                |
| <b>IL-12</b>          | Interleucina 12                                                |
| <b>IL-17</b>          | Interleucina 17                                                |
| <b>IP</b>             | Intraperitoneal                                                |
| <b>IPeFarM</b>        | Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos               |
| <b>LABETOX</b>        | Laboratório de Ensaio Toxicológicos                            |
| <b>LDH</b>            | Desidrogenase Láctica                                          |
| <b>LDL</b>            | Low Density Lipoprotein                                        |
| <b>NOAEL</b>          | Nível de Efeito Adverso não Observado                          |
| <b>OECD</b>           | Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento        |

**P. Gounellei** Pilosoceresu Gounellei

**PPGDITM** Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos

**ppm** partes por milhão

**RDW** Red Cell Distribution (amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos).

**SISBIO** Sistema de Informação e Biodiversidade do Brasil

**SISGEN** Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

**SUS** Sistema Único de Saúde

**TGO** Transaminase Oxalacética

**TGP** Transaminase Pirúvica

**UFPB** Universidade Federal da Paraíba

**UPA** Unidade De Produção Animal

**VCM** Volume Corpuscular Médio

**VPM** Volume Plaquetário Médio

## SUMÁRIO

|          |                                                      |           |
|----------|------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO.....</b>                               | <b>19</b> |
| <b>2</b> | <b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>                      | <b>22</b> |
| 2.1      | IOGURTE CAPRINO.....                                 | 25        |
| 2.2      | ENSAIOS TOXICOLÓGICOS.....                           | 26        |
| 2.2.1    | Ensaio Toxicológico Agudos.....                      | 27        |
| 2.2.2    | Ensaio Toxicológico Subcrônicos.....                 | 28        |
| 2.2.3    | Ensaio Toxicológico Crônicos.....                    | 28        |
| <b>4</b> | <b>OBJETIVOS.....</b>                                | <b>30</b> |
| 4.1      | OBJETIVO GERAL.....                                  | 30        |
| 4.2      | OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....                           | 30        |
| <b>5</b> | <b>PARTE EXPERIMENTAL.....</b>                       | <b>31</b> |
| 5.1      | LOCAL DE PESQUISA.....                               | 31        |
| 5.2      | MATERIAIS.....                                       | 31        |
| 5.2.1    | Material Vegetal.....                                | 31        |
| 5.2.2    | Preparação e Composição do Suco de Xique-xique.....  | 31        |
| 5.2.3    | Processo de Elaboração da Geleia de Xique-xique..... | 32        |
| 5.2.4    | Processo de Elaboração do Iogurte.....               | 32        |
| 5.2.5    | Animais.....                                         | 33        |
| 5.2.6    | Aparelhagem.....                                     | 33        |
| <b>6</b> | <b>METODOLOGIA.....</b>                              | <b>35</b> |
| 6.1      | ENSAIO TOXICOLÓGICO AGUDO.....                       | 35        |
| 6.1.1    | Consumo de Água e Ração e Avaliação Ponderal.....    | 36        |
| 6.1.2    | Análise Laboratorial do Sangue.....                  | 36        |
| 6.1.2.1  | Parâmetros hematológicos.....                        | 36        |
| 6.1.2.2  | Parâmetros bioquímicos.....                          | 37        |
| 6.1.3    | Exame Anatomopatológico e Histopatológico.....       | 37        |
| 6.2      | ENSAIOS TOXICOLÓGICOS SUBCRÔNICOS.....               | 37        |
| 6.2.1    | Consumo de Água e Alimento.....                      | 38        |
| 6.2.2    | Peso Corporal.....                                   | 38        |
| 6.2.3    | Avaliação Laboratorial do Sangue.....                | 39        |

|              |                                                       |           |
|--------------|-------------------------------------------------------|-----------|
| 6.2.3.1      | Parâmetros hematológicos.....                         | 39        |
| 6.2.3.2      | Parâmetros bioquímicos.....                           | 39        |
| <b>6.2.4</b> | <b>Exame anatomopatológico e histopatológica.....</b> | <b>39</b> |
| <b>7</b>     | <b>ANÁLISE ESTATÍSTICA.....</b>                       | <b>41</b> |
| <b>8</b>     | <b>RESULTADO.....</b>                                 | <b>42</b> |
| 8.1          | ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA.....                       | 42        |
| 8.1.1        | Consumo de Água.....                                  | 42        |
| 8.1.2        | Consumo de Ração.....                                 | 43        |
| 8.1.3        | Evolução Ponderal.....                                | 44        |
| 8.1.4        | Análise Laboratorial do Sangue.....                   | 46        |
| 8.1.4.1      | Parâmetros bioquímicos.....                           | 46        |
| 8.1.4.2      | Parâmetros hematológicos.....                         | 51        |
| 8.1.4.3      | Avaliação anatomopatológica e histopatológica.....    | 54        |
| 8.2          | ENSAIO DE TOXICIDADE SUBCRÔNICA.....                  | 59        |
| 8.2.1        | Consumo de Ração.....                                 | 59        |
| 8.2.2        | Consumo de Água.....                                  | 63        |
| 8.2.3        | Evolução Ponderal.....                                | 66        |
| 8.2.4        | Análise Laboratorial do Sangue.....                   | 67        |
| 8.2.4.1      | Parâmetros bioquímicos.....                           | 67        |
| 8.2.4.2      | Parâmetros hematológicos.....                         | 71        |
| <b>9</b>     | <b>DISCUSSÃO.....</b>                                 | <b>76</b> |
| 9.1          | ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA.....                       | 76        |
| 9.2          | ENSAIO DE TOXICIDADE SUBCRÔNICA.....                  | 84        |
| <b>10</b>    | <b>CONCLUSÃO.....</b>                                 | <b>91</b> |
|              | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                               | <b>92</b> |
|              | <b>ANEXOS.....</b>                                    | <b>99</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Todo processo de evolução humana está estruturado na relação indissociável entre o homem e o meio ambiente, relação em que o homem extrai da natureza os recursos necessários para saciar suas necessidades alimentares, medicinais, para ornamentação, construção de objetos e de abrigos e para expressar a sua cultura. A grande diversidade de plantas no mundo tem impulsionado estudos que buscam categorizá-las com base em suas propriedades funcionais (BAJPAI *et al.*, 2014; BHATT *et al.*, 2017). As plantas estão entre os recursos naturais mais explorados para essas finalidades (BRASIL, 2016).

O Brasil se destaca mundialmente pela sua grande biodiversidade, com 55.000 espécies vegetais, das quais apenas 5.000 encontram-se catalogadas, fato que muito contribui para as pesquisas envolvendo produtos naturais que tiveram início em meados do século passado e tem sido foco de constantes revisões (BRASIL, 2016).

Os vegetais, em virtude do seu efeito terapêutico, são comumente utilizados pela população (BADKE, M., *et al.*, 2016). No entanto, como diversas espécies utilizadas na medicina empírica não possuem seu efeito farmacológico elucidado, o conhecimento popular destes produtos naturais tornou-se a base e o direcionamento para muitos estudos (PEREIRA *et al.*, 2013; BRASIL, 2016).

As plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas e tóxicas, podendo assim acarretar um sério problema de saúde pública. É importante ressaltar que os efeitos adversos, adulteração do produto, toxicidade e interações medicamentosas são possíveis de serem verificados tanto com medicamentos alopáticos convencionais quanto com os fitoterápicos. Do ponto de vista científico, pesquisas mostraram que muitas delas possuem substâncias potencialmente agressivas e, por esta razão, devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos (BADKE, M., *et al.*, 2016; BRASIL, 2016).

Nas últimas décadas, o Brasil tem investido para oficializar o uso de plantas medicinais, inclusive no Sistema Único de Saúde – SUS, através de vários decretos, resoluções e Instruções Normativas de Órgãos competentes, assim as plantas medicinais estão sendo uma alternativa terapêutica bastante difundida, sendo influenciada por fatores sociais, econômicos e culturais. Embora esta utilização já

esteja consagrada por uma parcela substancial da população, ainda são escassos os dados científicos confirmatórios da ausência de toxicidade ou da ação terapêutica da rica flora nacional (BRASIL, 2016).

As Cactáceas, popularmente chamadas de “cactos” são encontradas dispersas pela região do semiárido, sendo uma importante fonte de matriz alimentar para esta região. São utilizadas como fonte de reserva alimentar em tempo de fome, calamidades naturais e na substituição da colheita, devido alterações climáticas. Desempenhando um papel importante no sistema de segurança alimentar, como suplemento, às principais plantas alimentares (SILVA, V. A., 2015). Comunidades rurais do Nordeste do Brasil mantêm conhecimentos e práticas de uso de cactáceas para suprir suas necessidades básicas ao longo dos anos. Estudos recentes no Brasil sobre aspectos alimentares e nutricionais demonstraram grande potencial dessa família, sugerindo estudos aprofundados e pesquisas que orientem elaboração de produtos de modo sustentável (BEZERRIL *et al.*, 2017).

A espécie *Pilosocereus gounellei* (F.A.C.Weber), pertencente à família *Cactaceae*, tem característica de forte adaptação às condições extremas de temperatura e umidade, multiplicando-se regularmente e cobrindo áreas extensas da caatinga (CARVALHO, POAA, *et al.*, 2021). Estudos têm mostrado o potencial desta espécie, como fonte alimentar para comunidades do nordeste brasileiro (LUCENA, C.M., *et al.*, 2012; SILVA, V.A., 2015; FERNANDES, C., 2019). Na alimentação humana, o miolo dos cladódios é consumido cozido ou assado, sendo empregado também na produção de farinhas, biscoitos, bolos e doces. Na medicina popular, ele é consumido como suco, para tratamento de gastrite, colite e icterícia.

Levando-se em conta que dentre as relações humanos/vegetais, no Nordeste semiárido, o conhecimento da relação etnomédica de cactáceas encontra-se disperso na cultura popular e na literatura e que, até agora, não foi feito um esforço para sua sistematização, depreende-se da grande importância de estudos sobre o tema. Considere-se, ainda, a possibilidade de serem formulados produtos a partir dessas plantas, gerando riquezas para populações habitando os locais mais pobres da região, desde que os órgãos de fomento financiem atividades de pesquisa, inclusive abrangendo sistemas de cultivo e de produção (FERNANDES, C., 2019). Cactos são uma realidade no Nordeste seco, adaptados aos mais variados ecossistemas, um sinal de esperança para populações carentes (AGRA *et al.*, 2008).

Diante disso, a importância dessa pesquisa advém da necessidade de se encontrar novos agentes nutritivos e farmacologicamente ativos e seguros. Em revisão de literatura não foram encontrados estudos referentes à toxicidade do suco, da geleia e do iogurte da polpa de *P. gounellei*, justificando prosseguir com as análises toxicológicas não-clínicas dos mesmos, sendo essa uma etapa fundamental na cadeia de produção de medicamento e relevante para prosseguir com os estudos clínicos de fase I, II, III e IV.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Entre os biomas brasileiros, a Caatinga, presente na região do semiárido do país, apresenta grande riqueza, em especial ao comparar o número de espécies de plantas com outros ecossistemas. Entre as espécies endêmicas encontradas nesta região, destaca-se a família Cactaceae (LUCENA *et al.*, 2012). Embora seja um recurso pouco explorado no Brasil, comunidades rurais da região Nordeste, mantêm ao longo dos anos, conhecimentos e práticas de uso de cactáceas para suprir suas necessidades básicas, como socorro alimentar em períodos de escassez de alimentos (SILVA, 2015).

No Brasil, a família Cactaceae é composta por 39 gêneros, sendo 14 endêmicos, e cerca de 260 espécies, destas 144 são endêmicas. As plantas desta família estão distribuídas por todo o território brasileiro (TAYLOR *et al.*, 2015). Na região da caatinga brasileira foram registradas a presença de 58 espécies, das quais 42 são endêmicas dessa região (QUEIROZ *et al.*, 2006). Dentre as espécies que ocorrem no semiárido brasileiro, destacam-se as comumente denominadas de mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.), facheiro (*Pilosocereus pachycladus*), xique-xique (*Pilosocereus gounellei*) e coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis*), existindo variações morfológicas e de porte, dependendo da região (TAYLOR; ZAPPI, 2015).

São plantas pouco usuais, adaptadas a ambientes extremamente quentes ou áridos, apresentando ampla variação anatômica e capacidade fisiológica de conservar água. Uma característica extremamente interessante dessa família de plantas é a capacidade de resistir a ambientes secos, como o da Caatinga (FERNANDES, C., 2019). Dentre as principais adaptações, podemos citar como exemplo as folhas reduzidas e os caules repletos de água e fotossintéticos. Além disso, algumas espécies apresentam caule com cutícula espessa e folhas modificadas em espinhos, que diminuem a perda excessiva de água. Outro ponto bastante importante para a sobrevivência de cactáceas em ambiente seco diz respeito ao chamado metabolismo CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas). Nesse processo, os estômatos somente se abrem à noite para permitir a entrada de CO<sub>2</sub>. Essa característica permite que as plantas não percam muita água, uma vez que os estômatos fechados durante o dia evitam a transpiração.

No Nordeste brasileiro, são utilizadas como bioindicadores de chuvas, na ornamentação de residências, praças e jardins, componentes de telhados verdes, na



produção artesanal de canos para cachimbos, na fabricação de portas, janelas, caibros e ripas, como enchimento para almofadas e cangalhas (BRAVO FILHO *et al.*, 2014; LUCENA *et al.*, 2012). Também são utilizados para a fabricação de cosméticos e tintas, na produção de alimentos como bolos, farinhas e doces. A utilização como forragem é muito comum e responsável pela redução na mortandade dos ruminantes no período de estiagem no Nordeste do Brasil (SANTOS *et al.*, 2016).

Dentre as cactáceas encontra-se a espécie *Pilosocereus gounellei* (*P. gounellei*), também conhecida como xique-xique e que tem sido usada popularmente em decorrência de seu potencial medicinal no tratamento de inflamação da próstata e da uretra, icterícia, hiperglicemia e algumas lesões cutâneas. O *P. gounellei* possui característica de forte adaptação às condições do semiárido nordestino, desta forma, torna-se uma excelente fonte de estudos que estimulem a sua utilização, como fonte de alimento e renda, orientando sua produção e aproveitamento em escala (BEZERRIL *et al.*, 2017).

O *P. gounellei* apresenta um expressivo valor em compostos químicos, que podem atuar como antioxidantes, gastroprotetor, cardioprotetor, antitumoral, anti-inflamatório, anti-hiperglicêmico. Tais achados vêm impulsionando estudos que buscam melhor categorizá-la (MACIEL *et al.*, 2016; SOUSA *et al.*, 2018).

Dezenove compostos fenólicos foram identificados no suco do *P. gounellei*. Dentre eles, os principais são os flavonoides, com destaque para o epigallocatequina-galato, que mostrou possuir atividade neuroprotetora, antioxidante e anti-inflamatória, e a catequina (KHALATBARY; KHADEMI, 2018). Ácidos fenólicos são o segundo grupo mais prevalente, com destaque para os níveis de ácido gálico, que possui atividade antioxidante, anti-hiperglicêmica e anti-lipídica (PUNITHAVATHI *et al.*, 2011).

Isolamento fitoquímico por HPLC, realizado com os cladódios do *P. gounellei*, evidenciaram a presença de canferol e quercetina (MACIEL *et al.*, 2016; SOUSA *et al.*, 2018). Estes compostos mostraram atividade antioxidante (MACIEL *et al.*, 2016).

Estudo prévio com o suco do cladódio do *P. gounellei* identificaram nutrientes importantes, como: fibras solúveis e insolúveis, além de alguns minerais, como: magnésio, cálcio, zinco, selênio e manganês, constituindo-o, uma alternativa alimentar de importante valor nutricional (BEZERRIL *et al.*, 2017). As fibras solúveis fermentáveis foram consideradas prebióticas por terem apresentado efeito no

crescimento e metabolismo de diferentes cepas do *Lactobacillus* (RIBEIRO *et al.*, 2020).

Glicose e frutose são os açúcares presentes em maior quantidade no suco, o que pode estar relacionado ao modo de crescimento desta planta, que depende de uma reserva destas substâncias, para o crescimento e manutenção da homeostase da célula osmótica (CARVALHO *et al.*, 2021).

É possível encontrar na literatura trabalhos que demonstram a ação gastroprotetora de plantas medicinais e de substâncias isoladas a partir destas. Os compostos obtidos a partir de plantas medicinais com atividade antiulcerogênica apresentam estruturas químicas diversas e distintos mecanismos de ação. Nesse contexto, as plantas medicinais e as substâncias isoladas como os terpenos, xantonas, flavonoides, alcaloides, glicosídeos, saponinas e polissacarídeos, apresentam importância como agentes terapêuticos, visto sua ampla utilização na medicina popular, no tratamento de desordens gástricas, tais como úlceras e gastrites (SOUSA *et al.*, 2018; DIAS, G. E. N., 2015).

Os resultados obtidos por Sousa *et al.* (2018), mostraram pela primeira vez, que o Extrato Etanólico do Caule do *P. Gounellei* (EECPG) e o Extrato Etanólico da Raiz do *P. Gounellei* (EERPG) apresentam atividade gastroprotetora em diferentes modelos de úlcera gástrica em camundongos e ratos. Tanto o EECPG quanto o EERPG foram capazes de proteger significativamente a mucosa gástrica dos camundongos, através da redução das lesões no modelo de úlcera gástrica induzida por etanol absoluto.

Outro estudo com o suco do *P. gounellei* demonstrou um efeito anti-inflamatório intestinal, com melhora do dano tecidual macroscópico, diminuição de marcadores inflamatórios e estresse oxidativo, além de preservação da mucosa colônica. Esses efeitos protetivos podem ser atribuídos aos compostos fenólicos, bem como as fibras presentes na polpa do *P. gounellei* (ASSIS *et al.*, 2019).

Diante de todos esses benefícios encontrados com o uso do *P. gounellei*, decidiu-se por estudar os possíveis efeitos tóxicos de 3 produtos derivados dele: suco, geleia e o iogurte acrescido da geleia. Estes produtos foram formulados com base nas atividades gastroprotetora e anti-inflamatória intestinal já bem documentadas, e visando seu uso na prevenção e tratamento dessas desordens do trato gastrointestinal.

## 2.1 IOGURTE CAPRINO

O iogurte, conhecido por suas propriedades terapêutica, nutricional e sensorial (GONZALEZ; ADHIKARI; SANCHO-MADRIZ, 2011), oferece ao consumidor mais do que ingredientes convencionais (POSECION *et al.*, 2005; SANTIS *et al.*, 2019), é considerado um produto lácteo fermentado que transporta bactérias benéficas para a saúde intestinal, auxiliando no processo de digestão e manutenção da microbiota intestinal, com efeitos de promoção da saúde (MORELLI, 2014). De acordo com LeBlanc e Perdígón (2010), o iogurte modula a resposta imune pela estimulação da produção de citocinas a fim de evitar uma exacerbação da resposta imunoinflamatória. Estudo realizado por LeBlanc, Chaves e Perdígón (2009) mostrou que a administração de iogurte convencional, exerceu efeito anti-inflamatório, reduzindo o dano colônico, aumentando os níveis de interleucina 10 (IL-10) no tecido intestinal, enquanto que houve diminuição nos níveis de interleucina 17 (IL-17) e interleucina 12 (IL-12). De acordo com os mesmos autores, o efeito protetor do iogurte pode ser mediado através de mudanças na microbiota intestinal, aumentando as populações de lactobacilos e bifidobactérias.

O leite de cabra pode ser adequado para a produção de iogurte, principalmente devido a seu maior valor nutricional em relação ao leite de vaca, bem como, aos benefícios para a saúde associados ao seu consumo (SANTIS *et al.*, 2019). O iogurte de leite de cabra, no entanto, é menos aceitável do que o iogurte feito com leite de vaca, pois o leite de cabra tem um sabor diferente devido à presença dos ácidos cáprico, caprílico e capróico em sua composição (COSTA *et al.*, 2017).

Têm sido tentadas melhorias na qualidade e nas características sensoriais do leite de cabra, como a adição de culturas com características de realce de sabor (SANTIS *et al.*, 2019), adição de frutas ou polpas de frutas (CUŞMENCO; BULGARU, 2020; FENG *et al.*, 2019), e o uso de gomas (PARK *et al.*, 2019). A adição de frutas e vegetais pode contribuir para aumentar o valor nutricional e mascarar o sabor original ou característico desse produto, promovendo o consumo de laticínios caprinos (FENG *et al.*, 2019).

Um dos aditivos potenciais é o *P. gounellei*, uma cactácea amplamente difundida e adaptada ao clima seco da região Nordeste do Brasil (FURTADO *et al.*, 2019). Estudos *in vivo* demonstraram os efeitos protetores e anti-inflamatórios do *P. gounellei* sobre o edema da pata (DIAS *et al.*, 2015) e em ratos com colite induzida

(ASSIS *et al.*, 2019), bem como seus efeitos gastroprotetores (SOUSA *et al.*, 2018). Portanto, a exploração dos constituintes do *P. gounellei* e seu potencial para uso no desenvolvimento de novos produtos precisa ser explorada (DIAS *et al.*, 2015).

García *et al.* (2014) afirmam que o iogurte de cabra é uma matriz adequada para inclusão de ingredientes como frutas cristalizadas, geleias, mel, nozes, que são muito bem aceitos pelos consumidores.

Estudos do grupo da professor Rita Queiroga, do Departamento de Nutrição da UFPB, demonstraram que a adição da geleia do *P. gounellei* resultou em um iogurte com maior valor nutricional (teor de lipídios, proteínas e minerais) e propriedades tecnológicas (maior teor de umidade durante o armazenamento, menor acidez e viscosidade reduzida) do que o iogurte convencional, sem impacto na aceitação sensorial (aparência, cor, consistência, aroma, sabor e aceitação geral) ou características sensoriais (aroma, consistência, textura, doçura, sabor e acidez) (BEZZERIL, F., 2021). Com isso pode-se concluir que a geleia *P. gounellei* pode melhorar o valor nutricional e as propriedades tecnológicas do iogurte de leite de cabra.

## 2.2 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS

A toxicologia, observada sobre o âmbito da ciência moderna, é uma ciência multidisciplinar que, além de estudar os efeitos adversos ocasionados por agentes químicos no homem e no meio ambiente, estuda também as propriedades físico-químicas de cada substância avaliando a segurança de seu uso. A avaliação da toxicidade de uma droga é realizada com a finalidade de determinar o potencial de novas substâncias e produtos causar danos à saúde humana (ADEBAL; DÉLIO; DIAS, 2001).

Os estudos de avaliação toxicológica fomentaram uma crescente estruturação metodológica da Toxicologia Experimental e se concentram em duas grandes fases: a fase não clínica, realizada em espécies experimentais e a fase clínica, onde os produtos que não demonstraram toxicidade significativa, nos estudos não clínicos, são testados em humanos voluntários, sob rigorosos preceitos técnicos e éticos (EATON, 2008).

Os relatos dos estudos experimentais devem especificar o método utilizado, os modelos celulares, teciduais ou animais utilizados, os testes laboratoriais, os dados

de farmacocinética e toxicologia. Os resultados não clínicos devem permitir demonstrar a relevância dos achados, as possíveis aplicações terapêuticas e antever alguns dos riscos com o seu uso (EATON; GILBERT, 2008).

No Brasil a toxicologia experimental não clínica é orientada pelo Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica necessárias ao desenvolvimento de medicamentos e pelas OECDs 407, 408 e 423. O Guia busca racionalizar estudos não clínicos, evitando duplicidades e utilização desnecessária de animais, de forma harmonizada e cientificamente válida (BRASIL, 2013). Além disso, espera-se que eles possam fornecer dados confiáveis para dar subsídios às futuras Pesquisas Clínicas.

Os ensaios toxicológicos não clínicos de uma nova droga podem ser divididos em três fases: toxicidade aguda, subcrônica ou de doses repetidas por 28 dias e crônica ou doses repetidas por 90 dias.

### **2.2.1 Ensaios Toxicológicos Agudos**

Nos ensaios de toxicidade aguda utiliza-se como guia a OECD 423.

A toxicidade aguda da substância pesquisada é avaliada através da administração no animal, de uma dose única ou uma dose fracionada em um período inferior a 24 horas.

Consiste em uma avaliação preliminar, visto que antecedente os estudos farmacológicos, e tem o objetivo de obter dados preliminares sobre as características tóxicas de uma substância e seus efeitos adversos num organismo, permitindo obter informações acerca dos riscos para a saúde resultantes de uma exposição de curta duração pela via escolhida, servindo como base para a pesquisa crônica.

Os ensaios de toxicidade aguda são obrigatórios para todo tipo de substância em teste, independente do tempo de uso proposto para a espécie humana, pois evidenciam o risco de intoxicações inadvertidas ou não, e a forma de preveni-las. Além da letalidade, outras informações podem ainda ser obtidas numa avaliação de toxicidade aguda como: indicativos sobre o mecanismo de ação tóxica; diagnóstico e tratamento das reações adversas; estabelecimento das doses para estudos adicionais de toxicidade e informações para a comparação de toxicidade entre substâncias de mesma classe (BARROS; DAVINO, 2003; OECD, 2001).

Estudos para a determinação de DL50 (dose letal 50% - dose que mata 50% dos animais) segundo o Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica são necessários ao desenvolvimento de medicamentos, porém podem ser utilizados métodos alternativos para a estimativa da dose letal envolvendo um menor número de animais, tais como os preconizados nos guias da OECD.

### **2.2.2 Ensaios Toxicológicos Subcrônicos**

Nestes ensaios, a substância é administrada em uma única dose, por via oral (gavagem), diariamente, durante o período de 28 dias, em concentrações pré-definidas (uma dose que produza o efeito terapêutico, uma dose que produza um efeito adverso, mas não a morte ou sofrimento severo, e a outra dose seria a média entre às duas primeiras), não devendo exceder 1mL/100g de peso corporal do animal, exceto nos casos de solução aquosa em que 2mL/100g de peso corporal pode ser usado. São feitas avaliações da administração prolongada do composto sobre o consumo de água e alimentos, evolução ponderal, parâmetros hematológicos e bioquímicos, comparando-os com os padrões para roedores descritos por Castello Branco (2011), são realizados exames histopatológicos de órgãos dos ratos em estudo. Os resultados serão comparados com os dados obtidos nos animais do grupo controle e com dados da literatura. Para orientação durante realização deste estudo, é utilizado a OECD 407.

### **2.2.3 Ensaios Toxicológicos Crônicos**

O estudo crônico de 90 dias fornece informações sobre os possíveis perigos para a saúde que podem surgir com a exposição repetida, por um período de tempo mais prolongado que os estudos anteriores e que cubra a maturação e o crescimento até a idade adulta dos animais em teste. O estudo fornece informações sobre os principais efeitos tóxicos, indicando os possíveis órgãos-alvo, permitindo a caracterização da relação dose-resposta, identificação de um nível de efeito adverso não observado (NOAEL) ou ponto de partida para estabelecimento de uma dose de referência (BMD).

O produto em estudo é administrado por via oral (gavagem) diariamente em doses graduadas para vários grupos de animais experimentais, por um período de pelo menos 90 dias. Durante o período de administração, os animais são observados de perto quanto a sinais de toxicidade, conforme recomendado pela OCDE 408. Animais que morrem durante o teste são necropsiados assim como todos os sobreviventes, na conclusão do teste, serão autopsiados.

A espécie preferida é o rato, embora outras espécies de roedores (por exemplo, o camundongo) possa ser usado. Pelo menos 20 animais (dez fêmeas e dez machos) devem ser usados para cada dose. Deve haver pelo menos três doses diferentes e um controle. A escolha das doses pode ser baseada nos resultados de estudos anteriores e deve levar em consideração quaisquer dados toxicológicos e toxicocinéticos existente disponível para o composto de teste. São feitas avaliações da administração prolongada do composto sobre o consumo de água e alimentos, evolução ponderal, parâmetros hematológicos e bioquímicos, são realizados exames histopatológicos dos órgãos dos animais em estudo. Os resultados são comparados com os dados obtidos nos animais do grupo controle e com dados da literatura.

Diante dos obstáculos encontrados com os estudos in vivo, levando em consideração as dificuldades para obtenção e manutenção dos animais para experimentação, e a grande quantidade de animais necessários para realização dos estudos de toxicidade não clínica acima mencionados, este trabalho teve como objetivo a realização apenas dos ensaios de toxicidade não clínico agudo do suco, da geleia e o do iogurte do *P. gounellei*, e subcrônico apenas do suco do *P. gounellei*, visto que dele derivam os outros dois produtos.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

- Realizar ensaios toxicológicos não-clínico agudo do suco, da geleia e do iogurte da geleia de *Pilosocereus gounellei*, bem como ensaios toxicológicos subcrônico do suco do *P. gounellei*.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar efeitos tóxicos e/ou ocorrência de mortes;
- Avaliar o consumo de ração e de água;
- Avaliar a evolução ponderal;
- Analisar parâmetros hematológicos e bioquímicos;
- Investigar alterações anatomopatológicas e histopatológicas.



## 5 PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 LOCAL DE PESQUISA

As atividades de pesquisa foram desenvolvidas no Laboratório de Ensaios Toxicológicas (LABETOX) coordenado pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz e pela Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Caliandra Maria Bezerra Luna Lima, e no biotério Prof. Thomas George do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos - IPeFarM da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

### 5.2 MATERIAIS

#### 5.2.1 Material Vegetal

A coleta dos cladódios de *P. gounellei* foi realizada, em uma área de cultivo particular, localizada no município de Boa Vista, no estado da Paraíba, Brasil, com coordenadas de Latitude: -7.16762352 / Longitude: -36.1432815. A planta foi identificada pelo Prof. Dr. Leonardo Person Felix do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba - (CCA/UFPB) e a espécie certificada (17.562) foi depositada no Herbário Prof. Jaime Coelho Moraes (CCA/UFPB). A coleta de material vegetal foi realizada com autorização do número do Sistema de Informação e Biodiversidade do Brasil (SISBIO), número (62681) e do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do conhecimento tradicional associado (SISGEN), número (AA17429).

#### 5.2.2 Preparação e Composição do Suco de *P. gounellei*

Os cladódios foram selecionados considerando sua integridade física. Foram removidos os espinhos no momento da coleta, sendo os mesmos transportados em caixas de poliestireno, sob refrigeração à temperatura de 5 °C ±1.

Após adequada higienização e desinfecção por imersão em água clorada (100 ppm) por 15 minutos, seguido de enxague, os cladódios tiveram as cascas removidas com o auxílio de uma faca e foram cortados em pedaços de 5 cm x 5 cm, em seguida

foram processados em uma despulpadeira horizontal (MecVal®) até obtenção do suco, armazenado em garrafas de vidro à temperatura de -20 °C, para posterior utilização e elaboração da geleia.

Todo o processo de produção do suco foi realizado no laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da saúde, da UFPB, e este nos foi cedido gentilmente pela professora Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga.

### **5.2.3 Processo de Elaboração da Geleia de *P. gounellei***

O cilindro vascular foi processado em uma despulpadeira horizontal (MecVal®) até obtenção do suco, visando retirar a maior proporção de fibras, para utilização na elaboração da geleia.

Na elaboração da geleia, utilizou-se a proporção de 70:30 suco: açúcar (p/p). A seguir foram submetidos a cocção por 45 minutos sob agitação manual até consistência de gel. A verificação do ponto de geleia teve como base o teor de sólidos solúveis (°Brix), utilizando refratômetro digital (marca Hanna®, modelo HI 96801). A geleia artesanal do *P. gounellei*, se encontra protegida pela patente de número BR 10 2018 073370 2.

Todo o processo de produção da geleia foi realizado no laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da saúde, da UFPB, e esta nos foi cedida gentilmente pela professora Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga.

### **5.2.4 Processo de Elaboração do Iogurte**

O iogurte foi processado em triplicata a partir de uma adaptação da metodologia descrita por Queiroga *et al.* (2011). O leite caprino pasteurizado foi submetido a tratamento térmico (90 °C/ 10 min). Em seguida, o leite foi resfriado a 45 °C. Adicionou-se primeiramente 5% de sacarose e em seguida as culturas *starter* composta por *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* e *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* foram inoculadas em uma concentração de 0,4 g/L. A fermentação foi realizada em estufa (BOD) a uma temperatura de 45 °C por 4 horas. O ponto final da

fermentação foi verificado a partir da firmeza do coágulo e determinação do pH, o qual deveria estar no ponto máximo 4,5. Posteriormente foi resfriado a  $\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Em seguida o coágulo foi quebrado mediante agitação manual utilizando um bastão de vidro, de maneira padronizada, e prosseguiu-se com a adição da geleia na concentração de 10%. Por fim, foi realizado o envase nas garrafas de polietileno de alta densidade e o produto armazenado sob refrigeração ( $\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), até a realização das análises em triplicata.

Todo o processo de produção do iogurte foi realizado no laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição do Centro de Ciências da saúde, da UFPB, e este nos foi cedido gentilmente pela professora Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga.

#### **5.2.5 Animais**

Para os testes de toxicidade foram utilizados ratos Wistar (*Ratus norvegicus*), albinos, adultos, machos e fêmeas (nulíparas e não grávidas), pesando entre 180 e 220 gramas, que foram fornecidas pela Unidade de Produção Animal (UPA) do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM), UFPB, Brasil. Todos os animais foram agrupados em gaiolas de polietileno medindo 49X34X16cm. Foram mantidos sob condições controladas de temperatura de  $22 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ , em ciclos de claro e escuro de 12 horas (6h00 as 18h00 claro e de 18h00 as 6h00 escuro) com livre acesso à água e a uma dieta controlada, a base de ração do tipo pellets durante todo o período de experimentação, e sem uso de qualquer medicamento. Os procedimentos experimentais foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da UFPB, protocolo N° 1275210718. A eutanásia dos animais foi realizada por sobredose de solução anestésica contendo 300 mg/Kg de Cetamina e 30 mg/Kg de Xilazina, sendo administrado por via Intraperitoneal (IP).

#### **5.2.6 Aparelhagem**

Analizador bioquímico automatizado Chemwell-T para determinações bioquímicas no soro dos animais em experimentação;

Analizador de íons seletivos, AVL 9180 - *Electrolyte Analyzer* AVLAB®, para determinações dos íons sódio, potássio, cálcio, magnésio e cloreto no soro dos animais testados nos experimentos toxicológicos;

Analizador hematológico celular automático de uso veterinário – SCIL Vet abx - Homba ABX®, para obtenção de hemograma e contagem de plaquetas. Os esfregaços sanguíneos serão corados pelo Giemsa;

Balança analítica marca AID® – HR – 120g – Japão, para pesagem das substâncias testadas e órgãos;

Balança eletrônica BG – 8000 GEHAKA®, para pesagem dos animais e determinação do consumo de água e ração;

Cânula de Gavagem, para administração dos produtos;

Centrífuga BIO ENG® BE 4000, para separação do soro em dez minutos, a 3500 rpm;

Glicosímetro ACCU - CHEK PERFORMA NANO - monitor de glicemia com fitas reativas, para determinação quinzenal da glicemia dos animais no experimento de toxicidade subcrônica;

HEMATEL 200® e microscópio Nikon®, para confirmação e controle da contagem das células sanguíneas;

Microscópio RML5® Askmania-Germany, utilizado nas análises histopatológicas;

Termômetro digital, modelo MC – 3BC®, OMRON/China, para determinação.

## 6 METODOLOGIA

### 6.1 ENSAIO TOXICOLÓGICO AGUDO

O teste de toxicidade oral aguda foi realizado segundo as orientações da OECD 423 (2001).

Foram utilizadas 36 ratas Wistar (*Ratus norvegicus*), albinas, adultas, fêmeas (nulíparas e não grávidas), pesando entre 180 e 220 gramas, fornecidas pela Unidade de Produção Animal (UPA) do IPeFarM - UFPB.

Estas, foram divididas em doze gaiolas de polietileno, contendo 3 animais em cada, e foram mantidas sob condições controladas de temperatura ( $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ ), em ciclos de claro e escuro de 12 horas, com livre acesso à água e ração do tipo pellets, e sem uso de medicamentos.

Para o estudo de toxicidade aguda, foram realizados testes com três produtos diferentes: 1 - Suco do *P. gounellei*, cujo controle foi água; 2 - Iogurte acrescido da geleia da polpa do *P. gounellei*, o controle foi iogurte puro, sem a geleia; 3 - Geleia do *P. gounellei*, sendo o controle a geleia sem o suco do *P. gounellei*. O estudo foi feito com a dose de 2000mg/kg de cada substância, que foi administrada em dose única, via oral, por gavagem. A escolha da dose foi feita segundo as orientações da OECD 423 para realização do teste limite.

O princípio deste teste, segundo a OECD 423, é baseado em um “passo a passo”, com o uso do menor número possível de animais. Após a administração da substância na dose definida, que neste estudo foi de 2000 mg/kg, foram observados os efeitos gerais apresentados pelos animais experimentais nos intervalos: 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos no primeiro dia e uma vez ao dia, sempre no mesmo horário, nos 13 dias seguintes. Diariamente, foram observados o consumo de água e a ingestão de alimentos, já a evolução ponderal foi realizada semanalmente.

Ao fim do período de observação de 14 dias, todos os animais sobreviventes foram eutanasiados por injeção de quetamina (300mg/Kg) e xilazina (30mg/Kg), segundo recomendação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e em seguida autopsiados. Foram feitas análises de parâmetros hematológicos e bioquímicos, e a coleta de sangue foi realizada através da sangria do plexo braquial. Os seguintes órgãos foram encaminhados para estudo

histopatológico: estômago, baço, fígado, pulmão, coração, rim.

### **6.1.1 Consumo de Água e Ração e Avaliação Ponderal**

Foi avaliado o consumo de água e de ração na forma de pellets pelos animais, durante todo experimento. Foram colocadas as mamadeiras graduadas com água e, no dia seguinte, registrou-se o volume de água ingerido pelos animais. Quanto ao consumo de alimentos, a ração foi colocada diariamente, nas gaiolas, no dia posterior, foi contabilizado o peso consumido da mesma. Já a pesagem dos animais foi realizada semanalmente.

### **6.1.2 Análise Laboratorial do Sangue**

Após jejum de 12 horas, as amostras de sangue foram recolhidas a partir do plexo braquial, sendo coletadas em tubos, contendo Ácido Etilenodiamino Tetracético (EDTA) para determinação dos parâmetros hematológicos, e foram utilizados tubos com gel separador – Tubos para Coleta de Sangue VACUETTE® – posteriormente centrifugados por 10 minutos a 3500 rpm, para obtenção do soro para a determinação dos parâmetros bioquímicos.

#### **6.1.2.1 Parâmetros hematológicos**

Os parâmetros hematológicos englobam a análise da série vermelha (eritrograma), branca (leucograma) e contagem de plaquetas. No eritrograma foi realizada a contagem de hemácias, determinação do hematócrito, da hemoglobina, do Volume Corpuscular Médio (VCM), da Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), e da Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM). No leucograma foi feita a contagem global dos leucócitos e contagem da diferenciação celular. Para a realização do hemograma foi utilizado o Analisador Hematológico URIT 3000 VET PLUS.

### 6.1.2.2 Parâmetros bioquímicos

As análises bioquímicas foram realizadas em amostras de soro. As dosagens da glicose, ureia, colesterol total, triglicerídeos, ácido úrico (pelo método enzimático), creatinina, transaminases: Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT), Gama Glutamil Transferase (GGT), Fosfatase Alcalina (FAL), amilase, (LDH), e proteínas totais foram realizadas no analisador bioquímico automatizado CHEMWELL-T. O sódio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo e cloreto foram determinadas pelo analisador bioquímico Architect c8000- Abbott.

### 6.1.3 Exame Anatomopatológico e Histopatológico

Os animais de cada grupo tratado e dos grupos controle, foram eutanasiados por injeção de quetamina (300mg/Kg) e a xilazina (30mg/Kg), segundo recomendação do CONCEA, e em seguida autopsiados, submetidos a exames macroscópicos. Foi efetuada a consecutiva ressecção e pesagem dos pulmões, coração, estômago, baço, fígado e rins. Os pulmões foram submetidos à perfusão, via traqueia, com solução de formol a 10%, tamponada; enquanto os demais órgãos foram fixados em formalina tamponada em um volume superior, no mínimo a 10x o volume da peça, garantindo a integridade do tecido, evitando a sua degradação por enzimas presentes no interior das células ou por bactérias, além de preservar a estrutura e a composição celular. Após 72 horas, os órgãos foram resseccionados para processamento histopatológico.

## 6.2 ENSAIOS TOXICOLÓGICOS SUBCRÔNICOS

Animais pré-selecionados (ratos Wistar) foram distribuídos em quatro grupos de dez, sendo 5 machos e 5 fêmeas, segundo recomendação do Guia para a condução de Estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológicos, necessários ao desenvolvimento de medicamentos (ANVISA, 2013) e segundo a OECD 407. Três grupos foram tratados diariamente, no turno da manhã, por via oral (gavagem), com três diferentes doses do suco: 200mg/kg (5mL/kg), 300mg (7,5mL/kg) e 400mg/kg (10mL/kg), por um período de 28 dias. Ao grupo controle foi administrado água. Para a escolha da dose seguiu-se a recomendação da OECD que

orienta a utilização de e diferentes doses do roduto avaliado, sendo uma que produza o efeito terapêutico, uma dose que produza um efeito adverso que não seja a morte e a terceira pode ser a média aritmética das doses escolhidas. Portanto, a escolha da dose baseou-se em estudos prévios do suco do *P. gounellei*, que avaliaram o potencial nutricional e a presença de compostos bioativos justificando sua utilização na avaliação do efeito anti-inflamatório na mucosa intestinal, nas doses de 5mL/kg e 10mL/kg. Este efeito foi evidenciado através da melhora do dano tecidual macroscópico e diminuição dos marcadores inflamatórios e foi associado a presença dos flavonoides, compostos fenólicos e fibras solúveis (ASSIS *et al.*, 2019; CARVALHO *et al.*, 2021).

Foram feitas avaliações da administração repetida do suco sobre o consumo de água e alimentos, evolução ponderal, parâmetros hematológicos, bioquímicos, comparando-se com os padrões para roedores descritos por Castello Branco (2011), foram realizados exames histopatológicos dos seguintes órgãos dos ratos em estudo: coração, pulmão, rim, estômago e baço. Os resultados foram comparados com os dados obtidos nos animais do grupo controle e com dados da literatura.

### **6.2.1 Consumo de Água e Alimento**

Neste experimento foi avaliado o consumo de água e de ração na forma de pellets pelos animais, em ambos os sexos, nos 28 dias de tratamento.

Foram colocadas mamadeiras graduadas cheias e, no dia seguinte, registrou-se o volume de água ingerido pelos animais.

Quanto ao consumo de alimentos, a ração foi colocada diariamente, em caixas contendo cinco animais e, no dia posterior, foi contabilizado o peso consumido de ração.

### **6.2.2 Peso Corporal**

A pesagem dos animais foi realizada semanalmente para cálculo da dose administrada.

Para os cálculos da evolução da curva ponderal foram computados os pesos no fim de cada semana.



### **6.2.3 Avaliação Laboratorial do Sangue**

Após os 28 dias de tratamento, no término do experimento para avaliação da toxicidade subcrônica, foram coletadas amostras de sangue, através de sangria do plexo braquial, de todos os animais, machos e fêmeas, dos grupos tratados com o suco e do grupo controle para a análise laboratorial do sangue, seguindo a metodologia descrita no ensaio agudo.

#### **6.2.3.1 Parâmetros hematológicos**

As análises hematológicas englobam a análise da série vermelha (eritrograma), branca (leucograma) e contagem de plaquetas. No eritrograma foi realizada a contagem de hemácias, determinação do hematócrito, da hemoglobina, do Volume Corpuscular Médio (VCM), da Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), e da Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM). No leucograma foi feita a contagem global dos leucócitos e contagem da diferenciação celular. Para a realização do hemograma foi utilizado o Analisador Hematológico URIT 3000 VET PLUS.

#### **6.2.3.2 Parâmetros bioquímicos**

As análises bioquímicas foram realizadas em amostras de soro. As dosagens da glicose, ureia, colesterol total, triglicerídeos, ácido úrico (pelo método enzimático), creatinina, transaminases: Aspartato Amino Transferase (AST) e Alanina Amino Transferase (ALT), Gama Glutamil Transferase (GGT), Fosfatase Alcalina (pelo método cinético), Amilase, DHL e proteínas totais (pelo método do biureto) foram realizadas no analisador bioquímico automatizado CHEMWELL-T. O sódio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo e cloreto foram determinadas pelo analisador bioquímico Architect c8000 - Abbott.

### **6.2.4 Exame anatomopatológico e histopatológica**

Os animais de cada grupo tratado e dos grupos controle foram eutanasiados por injeção de quetamina (300mg/Kg) e a xilazina (30mg/Kg), segundo recomendação

do CONCEA, e em seguida autopsiados, submetidos a exames macroscópicos. Foi efetuada a consecutiva ressecção e pesagem dos pulmões, coração, estômago, baço, fígado e rins. Os pulmões foram submetidos à perfusão, via traqueia, com solução de formol a 10%, tamponada; enquanto os demais órgãos foram fixados em formalina tamponada em um volume superior, no mínimo a 10x o volume da peça, garantindo a integridade do tecido, evitando a sua degradação por enzimas presentes no interior das células ou por bactérias, além de preservar a estrutura e a composição celular. Após 72 horas, os órgãos foram resseccionados para processamento histopatológico.

## 7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos resultados, foram utilizados o Teste “t” de *Student* não pareado e ANOVA, utilizando o *Software Graph Pad Prism* 6.0 sendo os resultados considerados significativos quando apresentarem valores de  $p < 0,05$ .

## 8 RESULTADO

### 8.1 ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA

Não ocorreu nenhuma morte durante os 14 dias de avaliação destes animais e todos foram avaliados com relação aos seguintes parâmetros.

#### 8.1.1 Consumo de Água

Em relação aos hábitos fisiológicos, pode-se observar que, quanto ao consumo de água, houve uma diminuição estatisticamente significativa entre os grupos que receberam a geleia da polpa e o suco do *Pilosocereus gounellei* na dose de 2000mg/kg comparado a seus respectivos controles, durante os 14 dias. Já o grupo que recebeu o iogurte acrescido da geleia da polpa do *P. gounellei* na dose de 2000mg/kg, durante este mesmo período, os resultados mostrados na **Tabela 1**, indicam que não houve diferença significativa entre o grupo tratado o controle.

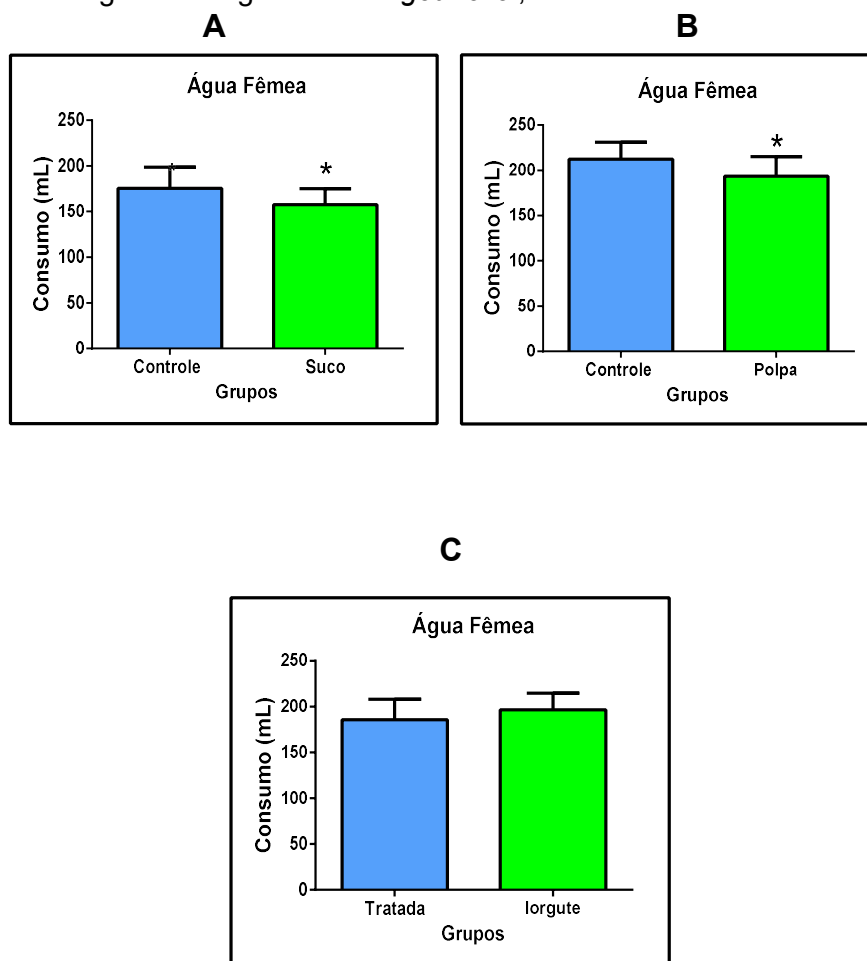
**Tabela 1** - Consumo de água e ração de Ratos Wistar fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, do suco, geleia e iogurte com geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda

|                             | GRUPO     |           |           |             |           |            |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|-------------|-----------|------------|
|                             | CT-I      | Iogurte   | CT-G      | Geleia      | CT-S      | Suco       |
| <b>CONSUMO DE ÁGUA (mL)</b> | 185,9±6,1 | 196,6±5,0 | 212,3±5,2 | 193,4±6,07* | 175,5±6,3 | 157,5±4,9* |
| <b>CONSUMO DE RAÇÃO (g)</b> | 111,8±5,0 | 105,4±3,8 | 112,2±3,3 | 105,9±2,4   | 102,8±3,1 | 113,8±3,8  |

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6). Teste "t" de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05. CT-I: Controle do iogurte. CT-G: Controle da Geleia. CT-S: Controle do Suco.

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 1** - Consumo de Água de Ratos Wistar fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, do suco, geleia e iogurte com geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda



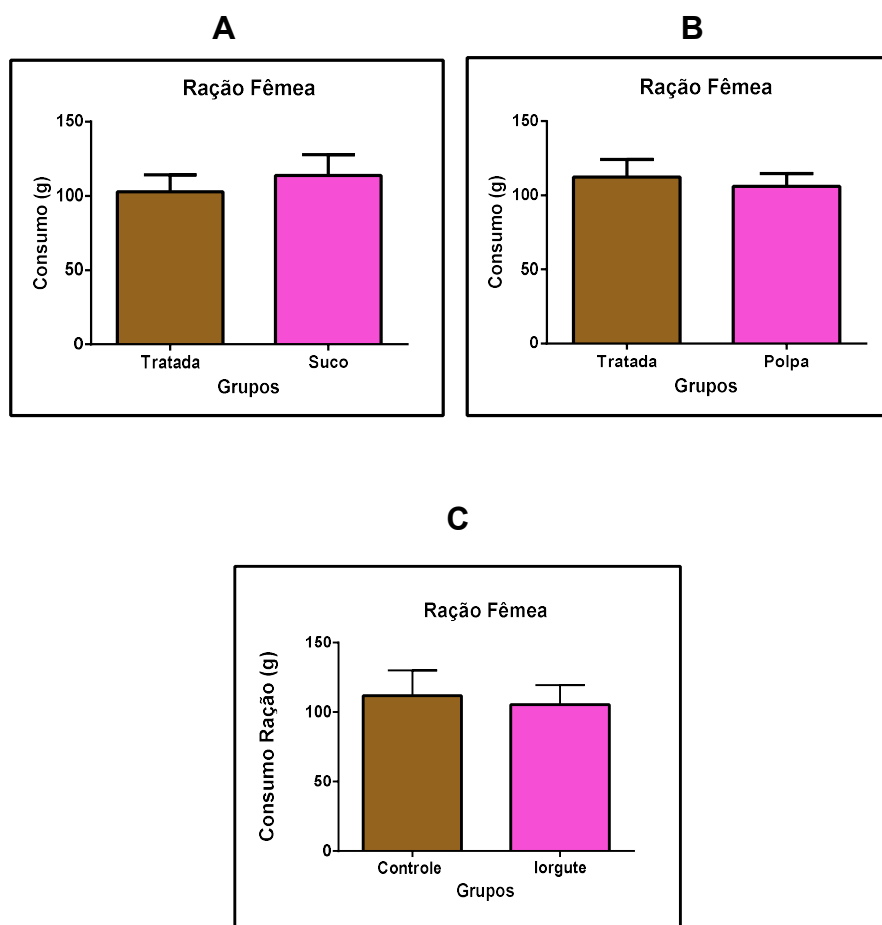
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Os **Gráficos 1A, B, C**, indicam o consumo de água de ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com o suco, a geleia e o iogurte do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05.

### 8.1.2 Consumo de Ração

Em relação ao consumo de ração, não foi encontrado diferença estatística significativa em relação aos grupos tratados com o suco, a geleia e o iogurte do *P. gounellei* e seus respectivos controles.

**Gráfico 2** - Consumo de ração de Ratos Wistar fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, do suco, geleia e iogurte com geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

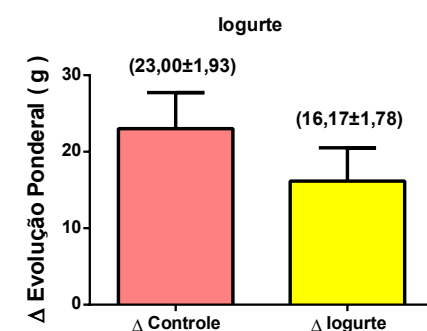
Os **Gráficos 2A, B, C**, indicam o consumo de ração de ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com o suco do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05.

### 8.1.3 Evolução Ponderal

Com relação a evolução ponderal pode-se observar que durante os 14 dias de avaliação, os animais que receberam o iogurte da geleia apresentaram um ganho de peso menor comparado ao grupo controle, como pode ser visto no **Gráfico 3**. Este grupo apresentou um delta de ganho de peso de  $16,1g \pm 1,7g$ , enquanto que o seu

controle teve um ganho de  $23,0\text{g} \pm 1,9\text{g}$ . Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado.  $*p<0,05$ .

**Gráfico 3** - Delta de ganho de peso de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, de iogurte com geleia do *P. gounellei*, durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda

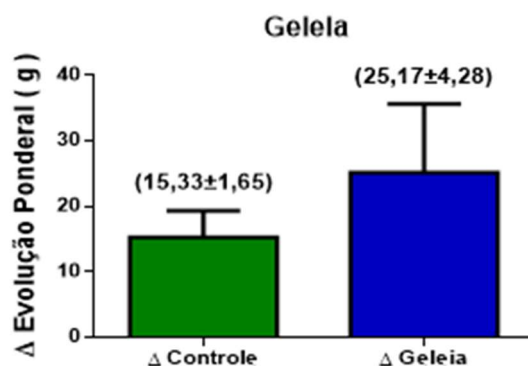


A

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Já o grupo da geleia apresentou uma variação de peso maior ( $25,1\text{g} \pm 4,2\text{g}$ ), durante os 14 dias de experimento, comparado ao seu controle ( $15,3\text{g} \pm 1,6\text{g}$ ), como pode ser visto no **Gráfico 4**. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado.  $*p<0,05$ .

**Gráfico 4** - Delta de ganho de peso de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, com a geleia do *P. gounellei*, durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda

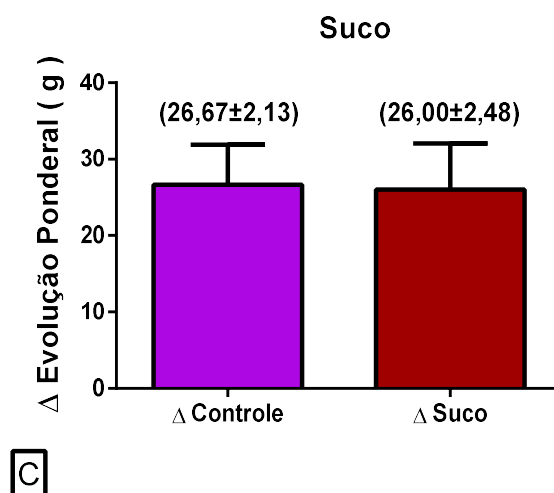


B

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Ao avaliar o grupo do suco e seu controle, pode-se perceber que a variação de peso entre os dois foi semelhante, como mostra o **Gráfico 5**. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05.

**Gráfico 5** - Delta de ganho de peso de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, com o suco do *P. gounellei*, durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

#### 8.1.4 Análise Laboratorial do Sangue

##### 8.1.4.1 Parâmetros bioquímicos

Poucas alterações foram evidenciadas na avaliação dos parâmetros bioquímicos, porém, algumas foram estatisticamente significativas. Houve diminuição nos níveis de ureia (**Gráfico 6**) e lipase (**Gráfico 7**) nos animais que receberam o suco do *P. gounellei*, além de um aumento significativo do cloro e do magnésio, como pode ser visto respectivamente nos **Gráficos 8 e 9**. No grupo que recebeu a geleia do *P. gounellei* foi observado um aumento da ALT (**Gráfico 10**) em comparação ao grupo controle. No grupo que recebeu o iogurte com a geleia do *P. gounellei*, foi identificada uma diminuição significativa nos níveis de LDH (**Gráfico 11**), fósforo (**Gráfico 12**) e magnésio (**Gráfico 13**), em relação ao controle (**Tabela 2A e B**).



**Tabela 2A** - Parâmetros Bioquímicos de Ratos Wistar tratados com a dose de 2000 mg/kg do suco, da geleia e do iogurte com a geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda

| Grupos                          | CT- I      | logurte    | CT-G        | Geleia     | CT-S       | Suco        |
|---------------------------------|------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|
| <b>Glicose (mg/dL)</b>          | 124,7±2,2  | 128,8±7,7  | 149,3±1,1   | 154,8±11,4 | 104,0±6,7  | 129,0±6,8   |
| <b>Ureia (mg/dL)</b>            | 28,3±1,2   | 32,5±2,5   | 24,3±0,2    | 25,8±0,7   | 36,7±1,1   | 31,5±1,5*   |
| <b>Creatinina (mg/dL)</b>       | 0,4±0,0    | 0,4±0,0    | 0,4±0,01    | 0,4±0,0    | 0,4±0,02   | 0,4±0,0     |
| <b>Colesterol (mg/dL)</b>       | 58,3±3,2   | 53,7±3,7   | 54,0±1,0    | 55,8±6,2   | 64,7±4,4   | 59,8±4,0    |
| <b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>   | 33,3±3,2   | 35,7±2,9   | 32,3±2,4    | 35,3±4,8   | 26,0±1,0   | 29,3±2,0    |
| <b>Ácido úrico (mg/dL)</b>      | 1,1±0,2    | 0,8±0,1    | 1,5±0,5     | 1,9±0,9    | 0,7±0,1    | 1,1±0,2     |
| <b>AST (U/l)</b>                | 193,3±46,0 | 129,5±19,5 | 79,3±2,6    | 31,0±1,6   | 119,3±2,1  | 207,7±67,4  |
| <b>ALT (U/l)</b>                | 37,7±2,8   | 39,2±2,9   | 239,3±101,1 | 66,0±18,2* | 47,0±4,2   | 39,5±4,0    |
| <b>Fosfatase Alcalina (U/l)</b> | 123,0±7,7  | 112,5±15,0 | 100,7±10,4  | 90,5±9,2   | 143±19,8   | 115,5±14,16 |
| <b>Bilirrubina (mg/dL)</b>      | 0,1±0,0    | 0,1±0,0    | 0,2±0,0     | 0,1±0,0    | 0,2±0,0    | 0,1±0,0     |
| <b>Amilase (U/dL)</b>           | 330,7±17,4 | 312,8±15,6 | 361,7±3,7   | 339,3±13,6 | 263,3±15,8 | 297,0±16,66 |
| <b>Lipase (g/dL)</b>            | 5,0±0,6    | 5,5±1,3    | 5,7±1,1     | 5,6±1,1    | 6,3±0,8    | 3,8±0,7*    |

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6). Teste “t” de Student / Não-pareado. \*p<0,05. CT-I: Controle do logurte. CT-G: Controle da Geleia. CT-S: Controle do Suco. AST: Aspartato Aminotransferase. ALT: Alanina Aminotransferase.

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Tabela 2B** - Parâmetros Bioquímicos de Ratos Wistar tratados com a dose de 2000 mg/kg do suco, da geleia e do iogurte com a geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda

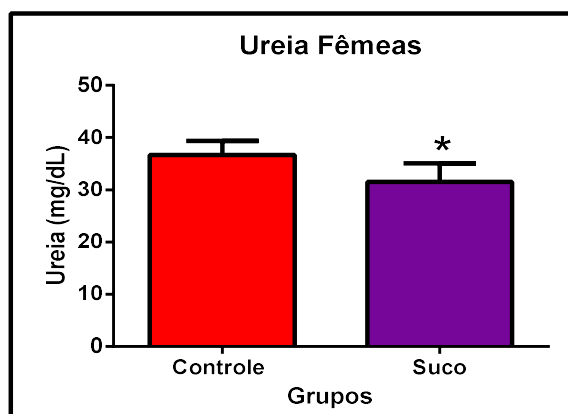
| Grupos                         | CT- I            | logurte           | CT-G       | Geleia           | CT-S        | Suco             |
|--------------------------------|------------------|-------------------|------------|------------------|-------------|------------------|
| <b>Proteínas totais (g/dL)</b> | 6,2±0,1          | 5,9±0,1           | 6,0±0,1    | 6,1±0,1          | 6,1±0,1     | 5,9±0,1          |
| <b>Albumina (g/dL)</b>         | 3,1±0,0          | 3,2±0,1           | 3,1±0,1    | 3,2±0,1          | 3,2±0,1     | 3,2±0,0          |
| <b>Globulina (g/dL)</b>        | 3,0±0,1          | 2,7±0,7           | 2,8±0,7    | 2,7±0,1          | 2,9±0,1     | 2,7±0,0          |
| <b>LDH (U/l)</b>               | 1656,0±36,3      | 1301,0±88,2<br>8* | 814,0±86,7 | 1429,0±373,<br>5 | 1336,0±72,1 | 1153,0±196,<br>1 |
| <b>Cálcio (mg/dL)</b>          | 10,0±0,1         | 9,9±0,0           | 10,0±0,1   | 10,0±0,1         | 10,1±0,0    | 10,1±0,1         |
| <b>Cloro (U/l)</b>             | 101,7±0,2        | 102,3±0,6         | 101,7±0,2  | 102,3±0,8        | 100,7±0,2   | 102,7±0,7*       |
| <b>CPK (U/l)</b>               | 1727,0±538,<br>0 | 845,2±161,4       | 440,0±18,6 | 687,3±201,9      | 672,2±28,9  | 1001,0±230,<br>8 |
| <b>Fósforo (U/dL)</b>          | 6,4±0,2          | 5,7±0,1*          | 6,2±0,3    | 6,2±0,6          | 6,5±0,0     | 6,6±0,4          |

|                        |           |           |           |           |           |           |
|------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Magnésio (g/dL)</b> | 2,2±0,0   | 2,0±0,0*  | 2,2±0,0   | 2,2±0,2   | 2,0±0,0   | 2,1±0,0*  |
| <b>Potássio (g/dL)</b> | 4,4±0,1   | 4,2±0,1   | 4,5±0,5   | 4,5±0,4   | 4,3±0,0   | 4,5±0,3   |
| <b>Sódio (g/dL)</b>    | 142,0±0,4 | 142,3±0,3 | 142,7±0,2 | 141,7±0,5 | 142,0±0,0 | 142,3±0,3 |

Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste "t" de Student / Não-pareado. \*p<0,05. CT-I: Controle do logurte. CT-G: Controle da Geleia. CT-S: Controle do Suco. LDH: Desidrogenase Lática. CPK: Creatinofosfoquinase.

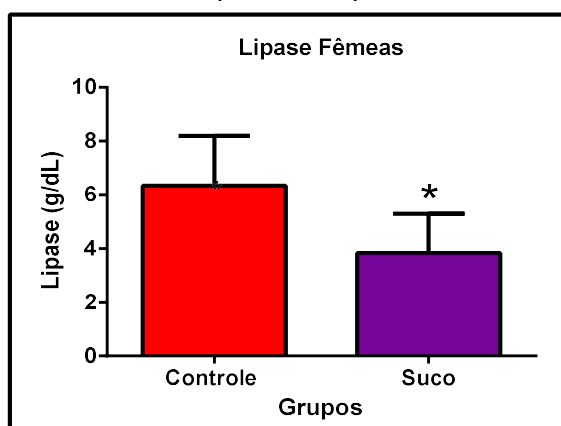
**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 6** - Ureia dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o suco do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste "t" de Student / Não-pareado. \*p<0,05



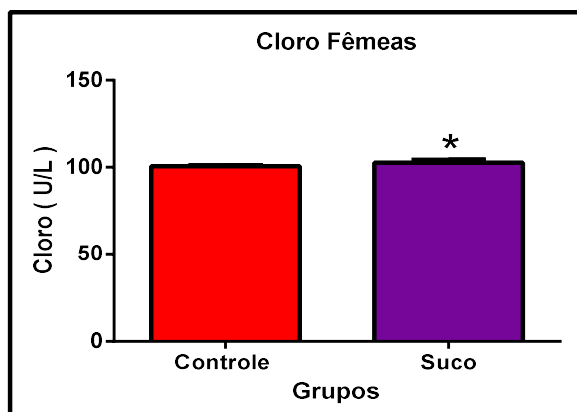
**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 7** - Lipase dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o suco do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste "t" de Student / Não-pareado. \*p<0,05



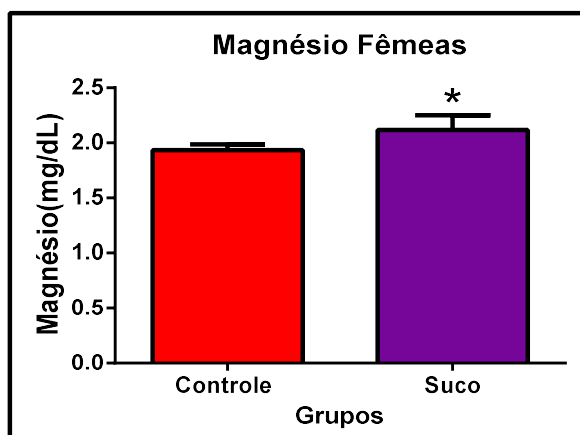
**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 8** - Cloro dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o suco do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



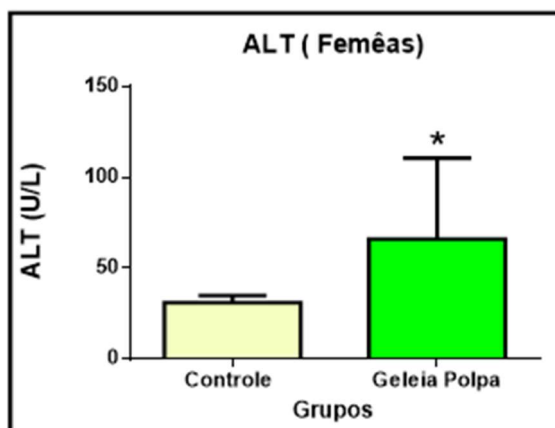
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 9** - Magnésio dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o suco do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



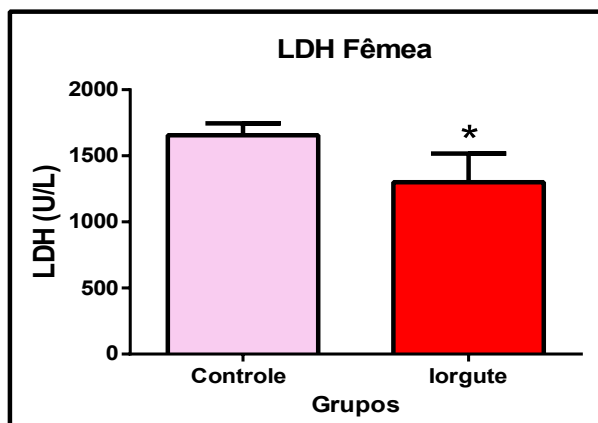
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 10** - ALT dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com a geleia da polpa do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste "t" de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



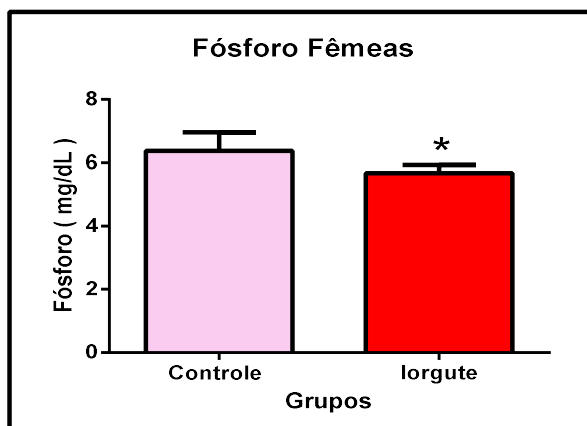
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 11** - LDH dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste "t" de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



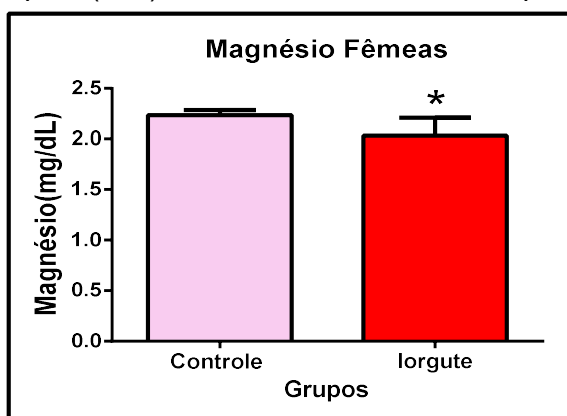
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 12** - Fósforo dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 13** - Magnésio dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

#### 8.1.4.2 Parâmetros hematológicos

Não foi observado diferença significativa entre os parâmetros hematológicos dos animais que receberam o suco do *P. gounellei* na dose de 2000mg/kg e seu controle.

No grupo tratado com a geleia da polpa do *P. gounellei* na dose de 2000mg/kg durante 14 dias, ocorreu um aumento estatisticamente significativo no VCM e no RDW em relação ao controle, como pode ser visto nos **Gráficos 14 e 15**.

Nas fêmeas que receberam o iogurte acrescido da geleia do *P. gounellei* na dose de 2000mg/kg houve uma diminuição do hematócrito (**Gráfico 16**), dos linfócitos (**Gráfico 17**) e um aumento no RDW (**Gráfico 18**) estatisticamente significativo em relação ao grupo controle.

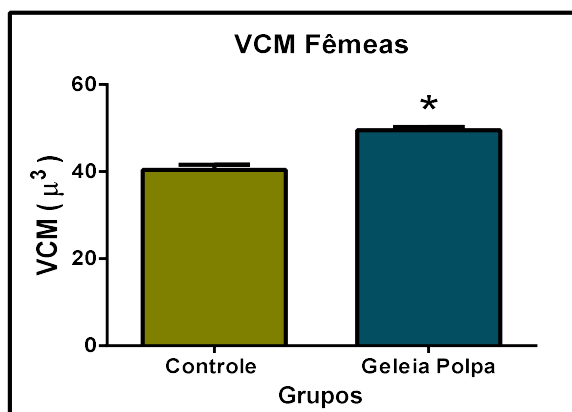
**Tabela 3** - Parâmetros hematológicos de Ratos Wistar tratados com suco, geleia e iogurte com a geleia do *P. gounellei* na dose de 2000 mg/kg durante o ensaio de toxicidade aguda

| Grupos                                      | CT- I        | iogurte      | CT- G         | Geleia        | CT-S         | Suco         |
|---------------------------------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| Hemácias (10 <sup>6</sup> mm <sup>3</sup> ) | 8,1±0,0      | 8,0±0,2      | 8,0±0,2       | 8,0±0,2       | 8,0±0,1      | 7,6±0,1      |
| Hemoglobina (g/dl)                          | 14,2±0,1     | 13,4±0,3     | 13,9±0,2      | 13,6±0,4      | 13,9±0,1     | 13,4±0,2     |
| Hematócrito (%)                             | 41,1±0,3     | 38,6±0,8*    | 40,4±0,5      | 40,0±0,9      | 39,8±0,4     | 13,4±0,2     |
| VCM (μ <sup>3</sup> )                       | 50,8±0,3     | 48,1±1,7     | 39,9±0,9      | 49,5±0,3*     | 49,9±0,4     | 50,9±0,6     |
| HCM (μg)                                    | 17,5±0,0     | 39,9±0,9     | 16,8±0,2      | 16,8±0,2      | 17,5±0,2     | 17,5±0,2     |
| CHCM (%)                                    | 34,5±0,1     | 39,7±0,3     | 34,3±0,2      | 34,3±0,2      | 35,0±0,7     | 34,4±0,2     |
| Leucócitos (10/mm)                          | 4160,0±712,5 | 4100,0±148,3 | 3780,0±563,4  | 4300,0±876,4  | 5240,0±815,2 | 3360,0±510,5 |
| Neutrófilo (%)                              | 15,2±1,7     | 20,8±1,0     | 16,6±1,0      | 26,2±5,5      | 20,0±3,4     | 15,6±0,4     |
| Eosinófilo (%)                              | 0,0±0,0      | 0,2±0,2      | 0,2±0,2       | 0,2±0,2       | 0,2±0,2      | 0,2±0,2      |
| Linfócito (%)                               | 73,2±2,1     | 65,6±1,5*    | 71,6±2,4      | 64,8±4,4      | 70,6±3,5     | 72,8±1,2     |
| Monócito (%)                                | 11,8±0,7     | 11,8±0,7     | 10,2±1,2      | 8,6±1,4       | 9,2±0,8      | 11,4±1,5     |
| Plaquetas (10/mm)                           | 997400±61675 | 997400±61675 | 487600±198511 | 810400±115939 | 974200±42925 | 879200±86102 |
| RDW (%)                                     | 12,7±0,2     | 12,7±0,2     | 13,9±0,3      | 14,6±0,1*     | 10,7±2,4     | 12,8±0,5     |
| VPM (mm <sup>3</sup> )                      | 5,6±0,1      | 5,6±0,1      | 5,8±0,2       | 5,8±0,1       | 5,7±0,0      | 5,6±0,0      |

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6). Teste "t" de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05. CT-I: Controle do iogurte. CT-G: Controle da Geleia. CT-S: Controle do Suco. VCM: Volume Corpuscular Médio. HCM: Hemoglobina Corpuscular Média. CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média. RDW: *Red Cell Distribution* (amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos). VPM: Volume Plaquetário Médio.

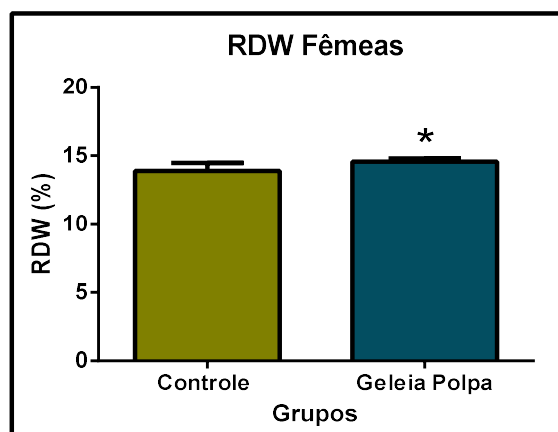
**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 14** - VCM dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com a geleia da polpa do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



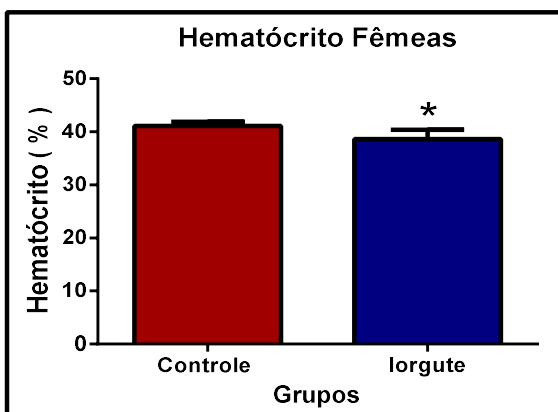
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 15** - RDW dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com a geleia da polpa do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



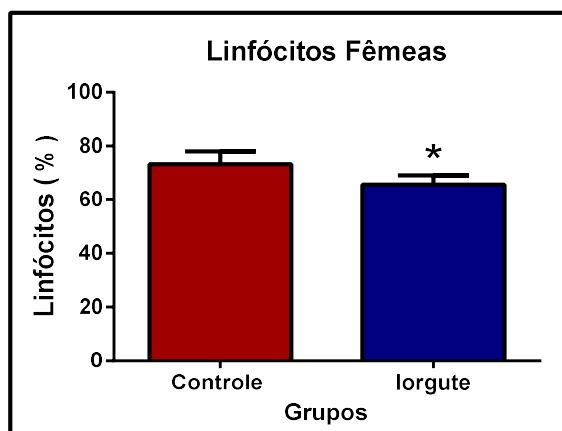
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 16** - Hematócrito dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia da polpa do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



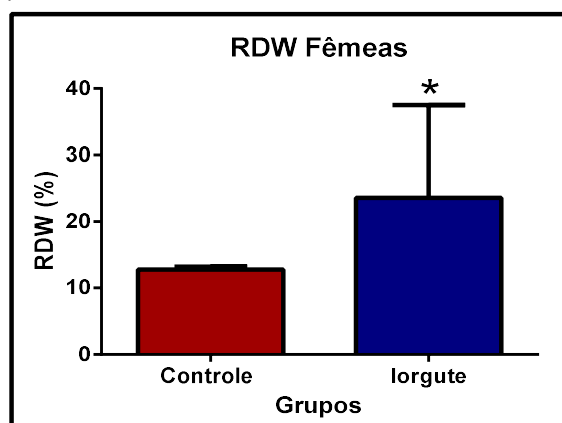
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 17** - Linfócitos dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia da polpa do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 18** - RDW dos animais tratados com a dose de 2000 mg/kg com o iogurte acrescido da geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

#### 8.1.4.3 Avaliação anatomopatológica e histopatológica

Foram avaliados macroscopicamente o coração, estômago, fígado, baço, pulmões e rins de todos os animais submetidos a este estudo. Os órgãos não apresentaram alterações macroscópicas e nem microscópicas, como mudanças estruturais, inflamação aguda e crônica, fibrose e necrose. Além destes parâmetros, o fígado, foi avaliado quanto a presença de esteatose, que não foi evidenciada em nenhum dos grupos avaliados.

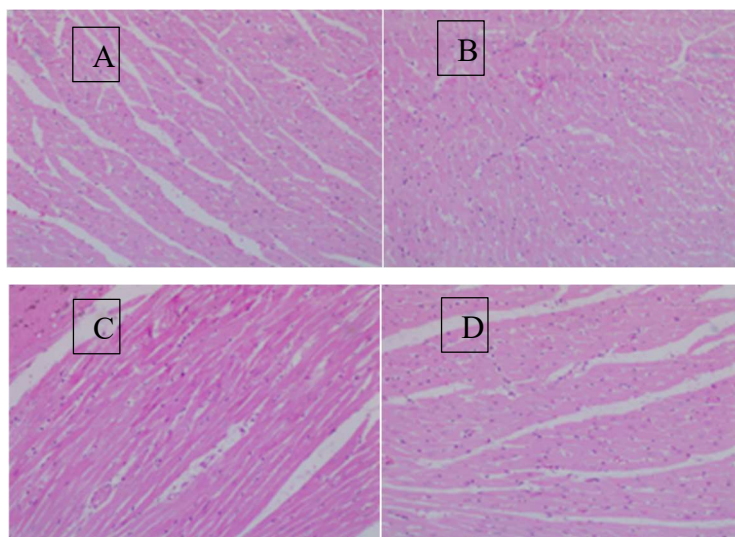


Os cortes histológicos de coração, estômago, fígado, pulmão e rins, foram analisados pela coloração hematoxilina e eosina em microscópio óptico com aumentos de x40, x100 e x400.

### **Coração**

Os grupos controle e tratado apresentaram achados histológicos idênticos ao normal com preservação das três camadas do coração: endocárdio, miocárdio e epicárdio (camada visceral do pericárdio seroso) como pode ser visto na **figura 1**. O endocárdio apresentando endotélio íntegro, presença de tecido conjuntivo frouxo e células de purkinje na camada subendocárdica. As células musculares cardíacas apresentaram um ou dois núcleos centrais. O miocárdio na parede ventricular mais espesso do que nos átrios, característica de normalidade, células musculares cardíacas preservadas em tamanho, forma e número com discos intercalares típicos. Valvas cardíacas e septos interventriculares preservados. Epicárdio íntegro e aderido ao miocárdio, com vasos sanguíneos e nervos bem preservados.

**Figura 1** - Fotomicrografias representativas do coração dos grupos experimentais



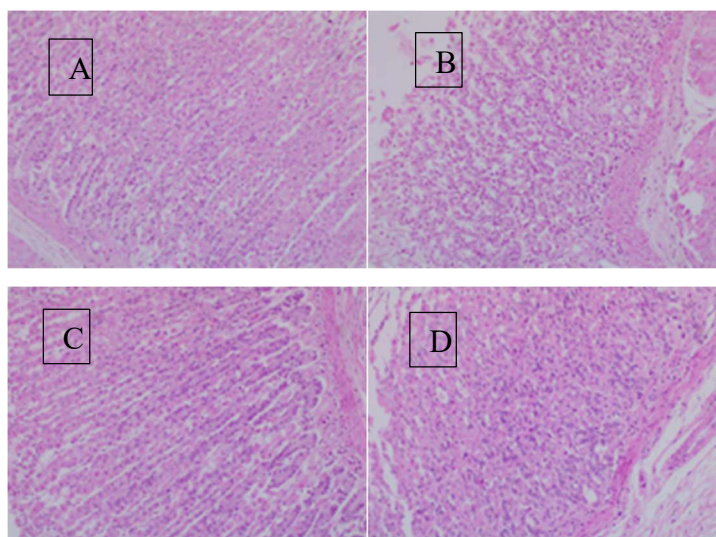
**Legenda:** **A-** Grupo controle do suco (HE 100X); **B-** Grupo do suco do *P. gounellei* (HE 100X); **C-** Grupo da geleia do *P. gounellei* (HE 100X); **D-** Grupo do iogurte com a geleia do *P. gounellei* (HE 100X).

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

## Estômago

Os grupos controle e tratado apresentaram, na camada mucosa, presença de glândulas gástricas, lâmina própria e muscular da mucosa. As glândulas gástricas apresentaram no colo (região superficial das glândulas gástricas voltada para o lúmen) destruição de algumas células gástricas. A camada submucosa bem característica com presença de vasos sanguíneos; a muscular externa com presença das camadas circular interna e longitudinal externa e a camada serosa integra. Esse perfil é característico de normalidade. O grupo tratado apresentou constituição e espessura das camadas mucosa, submucosa e muscular externa, semelhantes ao controle, como pode ser observado na **figura 2**.

**Figura 2** - Fotomicrografias representativas do estômago dos grupos experimentais



**Legenda:** **A-** Grupo controle do suco (HE 100X); **B-** Grupo do suco do *P. gounellei* (HE 100X); **C-** Grupo da geleia do *P. gounellei* (HE 100X); **D-** Grupo do iogurte com a geleia do *P. gounellei* (HE 100X).

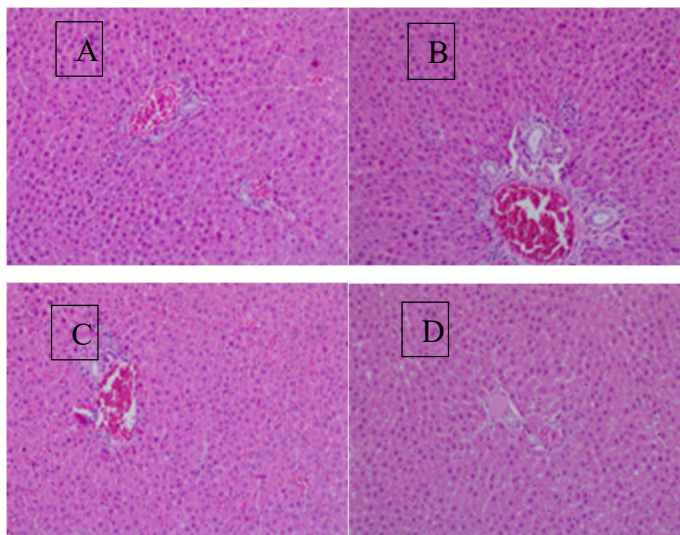
**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

## Fígado

Os fígados dos animais de todos os grupos apresentaram ao exame microscópico arquitetura do tipo lobular preservada, veias de paredes finas equidistantes, espaços portais regularmente distribuídos, comportando tríades hepáticas (ducto biliar, ramo da veia porta e ramo da artéria hepática). Os hepatócitos apresentaram organização em placas direcionadas para as veias centrolobulares de

paredes finas, diferença no tamanho dos núcleos, alteração na afinidade ao corante, promovendo alteração na coloração do citoplasma e do núcleo, caracterizando proliferação celular. As características encontradas são compatíveis com normalidade e são melhor avaliadas na **figura 3**.

**Figura 3** - Fotomicrografias representativas de fígado dos grupos experimentais



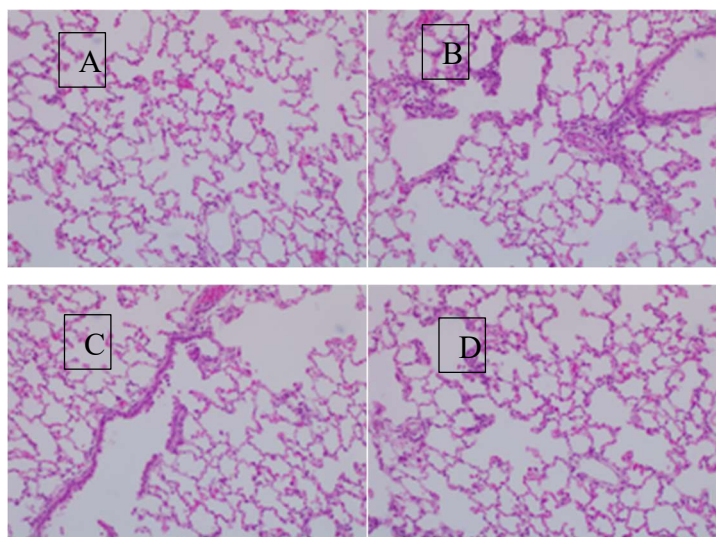
**Legenda:** A- Grupo controle da geleia (HE 100X); B- Grupo do suco do *P. gounellei* (HE 100X); C- Grupo da geleia do *P. gounellei* (HE 100X); D- Grupo do iogurte com a geleia do *P. gounellei* (HE 100X).

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

## Pulmões

Ao exame microscópico, o pulmão dos animais de ambos os grupos, apresentaram bronquíolos conservados, revestidos internamente por epitélio variando do pseudoestratificado colunar ciliado com células caliciformes ao simples colunar ciliado, camada relativamente espessa de músculo liso e camada adventícia externa, características de normalidade. Ver **figura 4**.

**Figura 4** - Fotomicrografias representativas de pulmões dos grupos experimentais



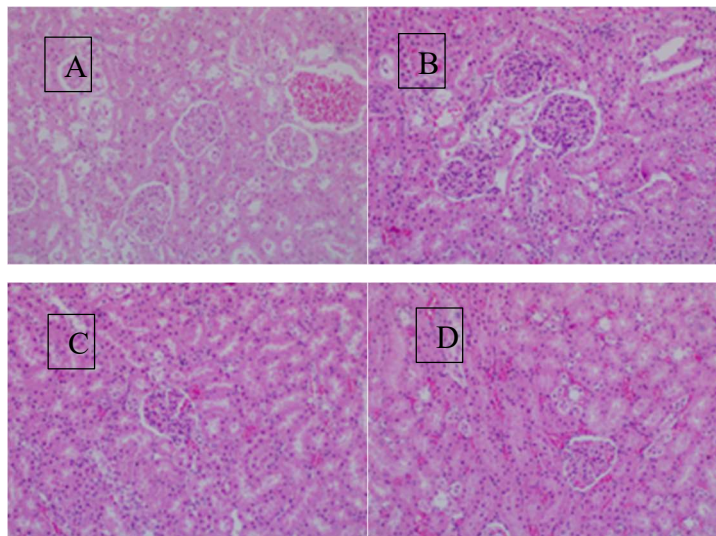
**Legenda:** A- Grupo controle do suco (HE 100X); B- Grupo do suco do *P. gownellei* (HE 100X); C- Grupo da geleia do *P. gownellei* (HE 100X); D- Grupo do iogurte com a geleia do *P. gownellei* (HE 100X).

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

## Rins

Os grupos apresentaram, na análise histológica, características de normalidade. Na região cortical, os lóbulos estavam conservados com corpúsculos renais (corpúsculo de Malpighi) preservados, envolvidos por fina cápsula de Bowmann (folheto visceral e folheto parietal) e glomérulos. Os túbulos contorcidos proximais e distais, alça de Henle, ductos e túbulos coletores estavam revestidos por epitélio com altura variável, de colunar a pavimentoso, típico do tecido renal. Os corpúsculos renais estavam sustentados por delicado mesângio. As artérias e veias intralobulares apresentavam-se regularmente distribuídas. Na região medular, a estrutura das alças de Henle, túbulos coletores, ductos, e vasos retos estavam conservados. As artérias e veias interlobares apresentavam-se regularmente distribuídas, como pode ser visto na **figura 5**.

**Figura 5** - Fotomicrografias representativas de rins dos grupos experimentais



**Legenda:** A- Grupo controle do suco (HE 100X); B- Grupo do suco do *P. gounellei* (HE 100X); C- Grupo da geleia do *P. gounellei* (HE 100X); D- Grupo do iogurte com a geleia do *P. gounellei* (HE 100X).

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

## 8.2 ENSAIO DE TOXICIDADE SUBCRÔNICA

### 8.2.1 Consumo de Ração

Em relação aos hábitos fisiológicos, pode-se observar que houve uma diminuição estatisticamente significativa, no consumo de ração, nos machos do grupo de dose de 7,5mL/kg, na primeira, segunda e terceira semana do experimento. Os machos que receberam a dose de 10mL/kg também apresentaram uma diminuição estatisticamente significativa, no consumo de ração, na terceira semana do estudo. Entre as fêmeas foi observado uma diminuição do consumo de ração nos grupos de 5mL/kg na terceira e quarta semana do estudo, e no grupo de 7,5 mL/kg na segunda, terceira e quarta semana do experimento.



**Tabela 4** - Consumo semanal de ração por ratos Wistar

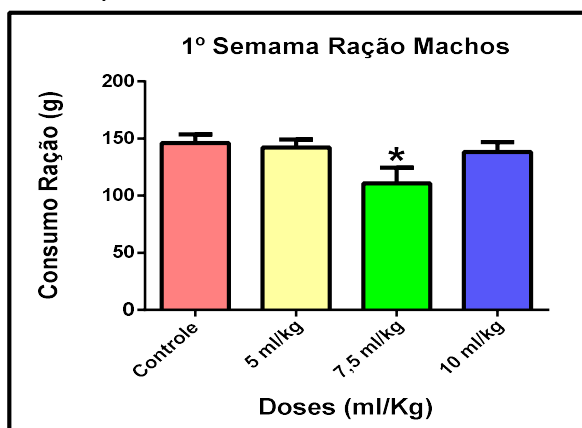
|                  | Semanas        |                |                |                |
|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                  | Machos         |                |                |                |
|                  | 1 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> | 3 <sup>a</sup> | 4 <sup>a</sup> |
| <b>Controle</b>  | 146,0±2,9g     | 134,3±2,6g     | 128,0±2,1g     | 117,4±2,6g     |
| <b>5 mL/kg</b>   | 142,0±2,6g     | 134,3±2,4g     | 132,0±2,0g     | 118,3±7,6g     |
| <b>7,5 mL/kg</b> | 110,9±5,2*g    | 103,4±2,9*g    | 113,1±1,7*g    | 108,3±1,0g     |
| <b>10 mL/kg</b>  | 138,3±3,3g     | 119,1±2,5g     | 110,0±2,0*g    | 112,3±2,0g     |
|                  | Fêmeas         |                |                |                |
| <b>Controle</b>  | 95,1±2,5g      | 79,7±2,3g      | 76,0±1,9g      | 75,7±2,1g      |
| <b>5 mL/kg</b>   | 87,1±2,1g      | 66,8±4,7g      | 68,3±1,5*g     | 64,0±2,6*g     |
| <b>7,5 mL/kg</b> | 94,6±2,2g      | 63,7±5,8*g     | 64,0±2,7*g     | 64,0±1,6*g     |
| <b>10 mL/kg</b>  | 87,7±4,5g      | 68,6±1,7g      | 71,7±1,3g      | 71,7±2,0g      |

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). *One-way ANOVA / Tukey*. \*p<0,05.

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

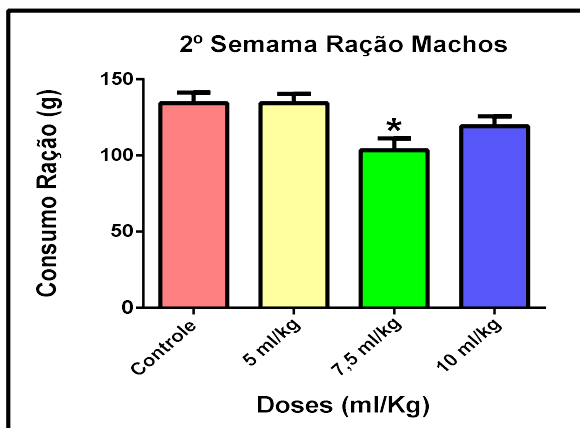
Os **Gráficos 19, 20 e 21** apresentam o consumo de ração dos machos tratados com o suco *P. gounellei*, durante a primeira, segunda e terceira semana do ensaio de toxicidade subcrônica. Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0.

**Gráfico 19** - Consumo de ração dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a primeira semana do ensaio de toxicidade subcrônica



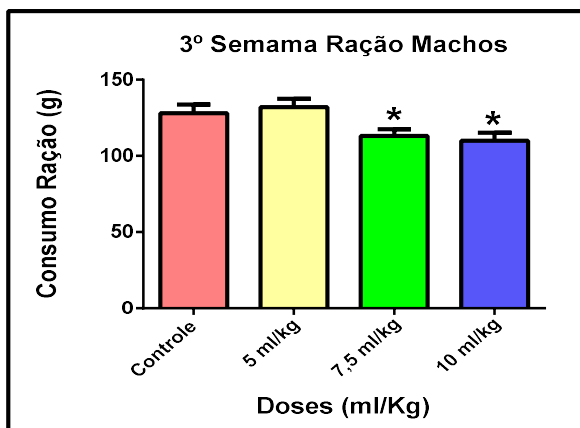
**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 20** - Consumo de ração dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a segunda semana do ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa.

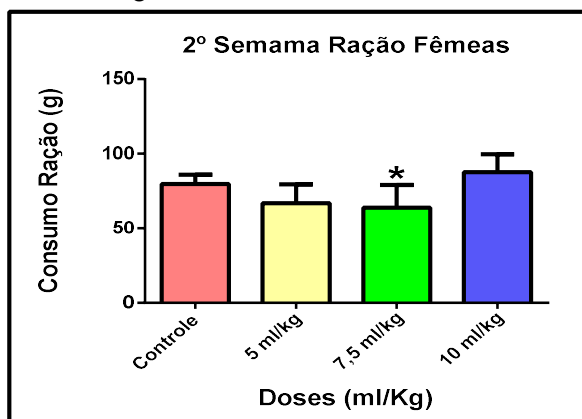
**Gráfico 21** - Consumo de ração dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a terceira semana do ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa.

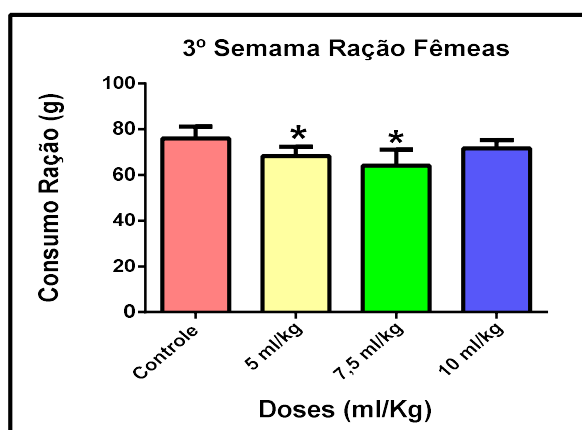
Os **Gráficos 22, 23 e 24** apresentam o consumo de ração das fêmeas tratadas com o suco *P. gounellei*, durante a segunda, terceira e quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05.

**Gráfico 22** - Consumo de ração das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a segunda semana do ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa.

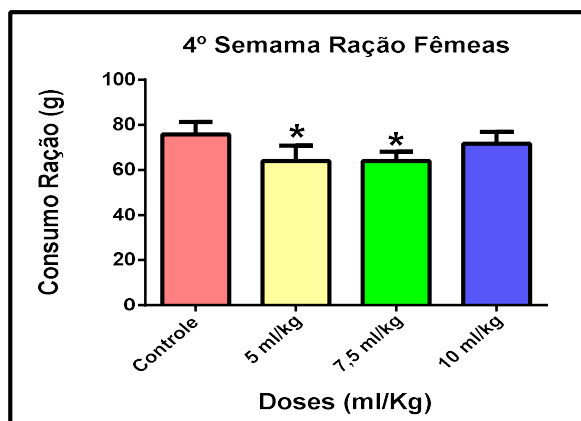
**Gráfico 23** - Consumo de ração semana das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a terceira semana do ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa.

**Gráfico 24** - Consumo de ração das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica





Fonte: Dados da pesquisa.

### 8.2.2 Consumo de Água

Com relação ao consumo de água, pode-se verificar que entre os machos houve um aumento estatisticamente significativo na primeira e segunda semana no grupo que recebeu 10mL/kg do suco. Todos os grupos que receberam o suco apresentaram uma diminuição, estatisticamente significativa, do consumo de água na quarta semana do estudo.

Entre as fêmeas foi possível observar uma diminuição no consumo de água na segunda e terceira semana nos grupos que receberam 7,5mL/kg e 10mL/kg. O que também foi observado na quarta semana nas fêmeas que receberam 7,5mL/kg.

**Tabela 5** - Consumo semanal de água por ratos Wistar

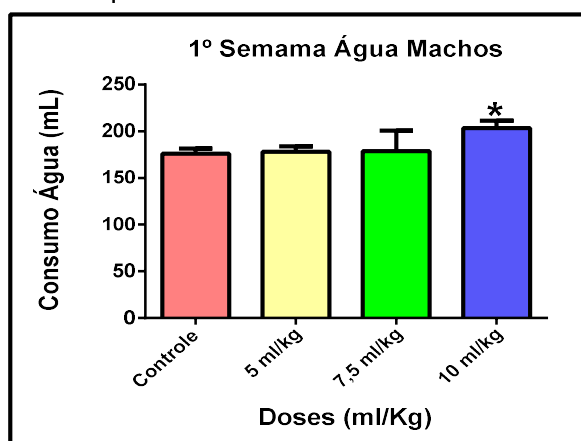
| Consumo semanal de água por ratos Wistar |                |                |                |                |
|------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                                          | Semanas        |                |                |                |
| Machos                                   |                |                |                |                |
|                                          | 1 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> | 3 <sup>a</sup> | 4 <sup>a</sup> |
| Controle                                 | 176,1±2,0 mL   | 176,6±2,3 mL   | 191,4±4,9 mL   | 210,9±2,1mL    |
| 5 mL/kg                                  | 178,0±2,2mL    | 170,9±1,4 mL   | 186,3±2,9 mL   | 172,0±4,9*mL   |
| 7,5 mL/kg                                | 178,6±8,4mL    | 176,3±5,9 mL   | 181,7±6,5 mL   | 169,7±4,5*mL   |
| 10 mL/kg                                 | 203,4±2,9*mL   | 198,9±1,2* mL  | 198,0±3,6 mL   | 164,9±7,6*mL   |
| Fêmeas                                   |                |                |                |                |
| Controle                                 | 150,3±6,1 mL   | 151,4±3,0 mL   | 145,4±4,9 mL   | 138,0±4,5mL    |
| 5 mL/kg                                  | 149,1±6,3 mL   | 134,9±11,7 mL  | 125,7±6,1 mL   | 124,0±5,6mL    |
| 7,5 mL/kg                                | 149,7±5,8 mL   | 105,4±8,0* mL  | 109,4±6,1* mL  | 112,3±4,2* mL  |
| 10 mL/kg                                 | 129,1±6,9 mL   | 115,4±2,0* mL  | 117,1±5,5* mL  | 127,0±8,2 mL   |

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). One-way ANOVA/ Tukey. \*p<0,05.

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

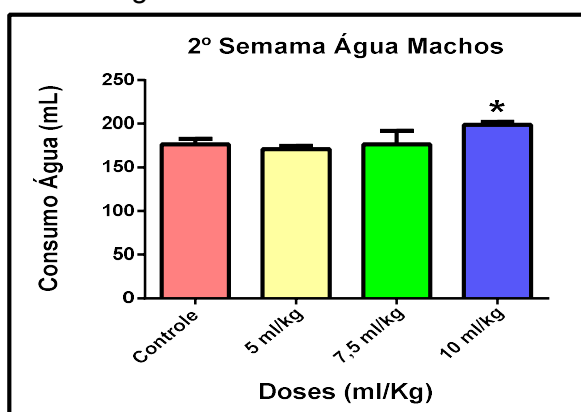
Os **Gráficos 25, 26 e 27** tratam sobre o consumo de água dos machos tratados com o suco *P. gounellei*, durante a primeira, segunda e quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \* $p < 0,05$ .

**Gráfico 25** - Consumo de água dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica



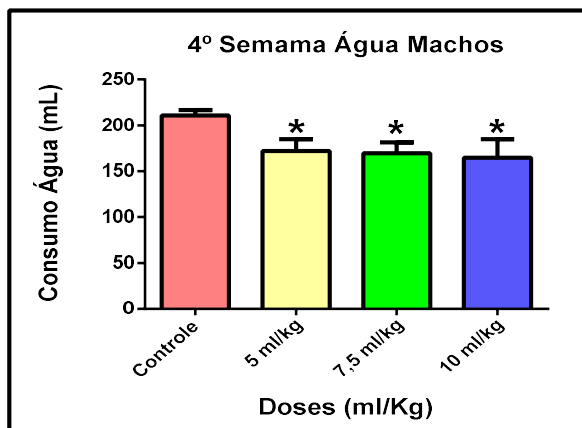
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 26** - Consumo de água dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a segunda semana do ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

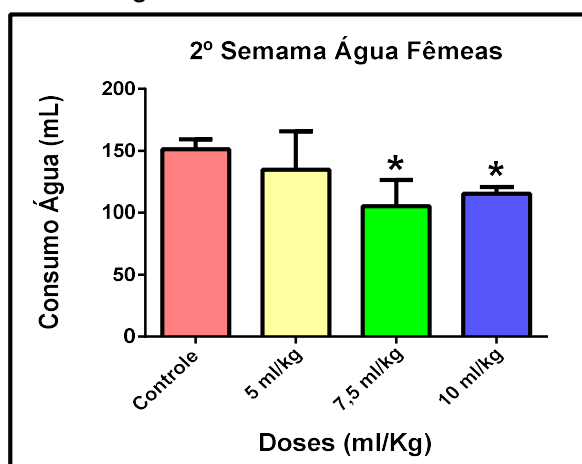
**Gráfico 27** - Consumo de água dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

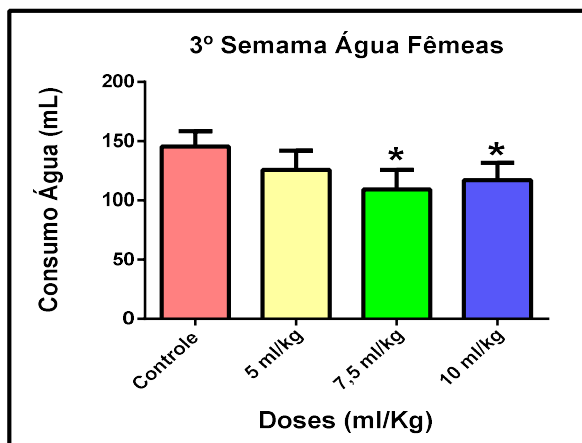
Os **Gráficos 28, 29 e 30** estão relacionados ao consumo de água das fêmeas tratadas com o suco *P. gounellei*, durante a segunda, terceira e quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica. Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05.

**Gráfico 28** - Consumo de água das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a segunda semana do ensaio de toxicidade subcrônica



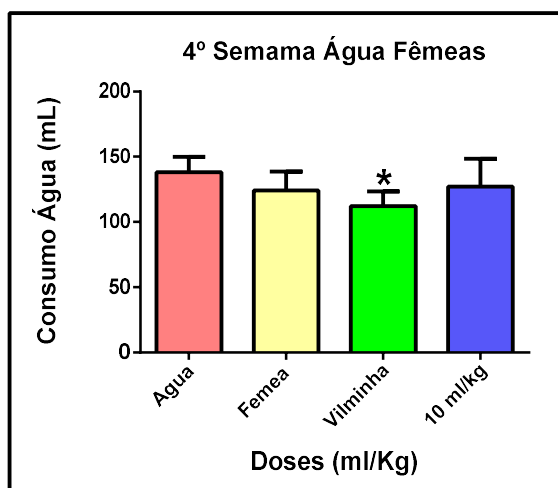
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 29** - Consumo de água das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a terceira semana do ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 30** - Consumo de água das fêmeas tratadas com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei* durante a quarta semana do ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

### 8.2.3 Evolução Ponderal

Com relação a evolução ponderal, foi evidenciado um menor ganho de peso nos machos que receberam a dose de 7,5 mL/kg na primeira semana do experimento, comparado ao grupo controle e demais grupos. Também foi notado uma perda de peso comum a todos os grupos de machos (controle e tratados), na segunda semana do experimento. O mesmo foi observado nos grupos de fêmeas na terceira semana do estudo, porém estes dados não tiveram relevância estatística.

A Tabela 6 apresenta a evolução ponderal dos ratos Wistar tratados com suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônico com diferentes doses.

**Tabela 6** - Ganho de peso dos ratos Wistar

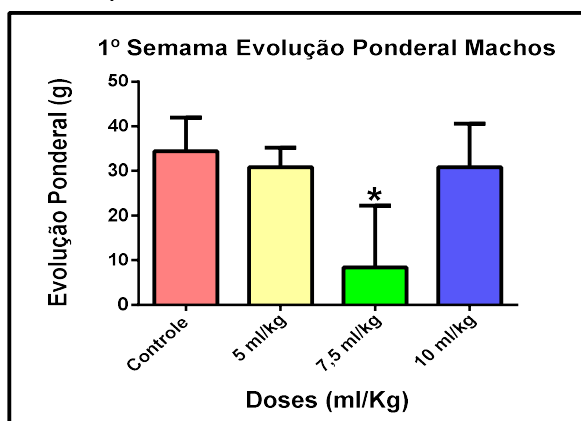
|           | Semanas        |                |                |                |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|           | Machos         |                |                |                |
|           | 1 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup> | 3 <sup>a</sup> | 4 <sup>a</sup> |
| Controle  | 34,4±3,4g      | -61,2±13,6g    | 111,0±14,9g    | 10,0±1,4g      |
| 5 mL/kg   | 30,8±2,0g      | -79,6±6,9g     | 346,4±195,3g   | 14,8±3,1g      |
| 7,5 mL/kg | 8,4±6,2*g      | -47,6±17,7g    | 108,4±11,2g    | 4,0±12,4g      |
| 10 mL/kg  | 30,8±4,3g      | -61,2±8,0g     | 85,2±8,7g      | 10,0±3,4g      |
|           | Fêmeas         |                |                |                |
| Controle  | 0,0±4,0g       | 97,2±15,0g     | -88,8±17,1g    | 2,8±3,2g       |
| 5 mL/kg   | 6,0±4,6g       | 128,0±15,0g    | -110,0±8,4g    | 0,8±0,8g       |
| 7,5 mL/kg | 8,0±6,4g       | 48,4±22,3g     | -82,4±9,3g     | -4,8±2,8g      |
| 10 mL/kg  | -4,8±2,8g      | 83,2±5,8g      | -80,8±5,9g     | 0,0±2,7g       |

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). *One-way ANOVA/ Tukey*. \*p<0,05.

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

O **Gráfico 31** aborda a evolução ponderal dos machos tratados com o suco *P. gounellei*, durante a primeira semana do ensaio de toxicidade subcrônica.

**Gráfico 31** - Evolução ponderal dos machos tratados com 5mL/kg; 7,5 mL/kg e 10mL/kg do suco do *P. gounellei*, durante a primeira semana do ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

## 8.2.4 Análise Laboratorial do Sangue

### 8.2.4.1 Parâmetros bioquímicos

Com pode ser observado nos **Gráficos 7, 8 e 9** a avaliação dos parâmetros bioquímicos evidenciou, que nas fêmeas que receberam 5mL/kg do suco do *P. gounellei* houve um aumento estatisticamente significativo da amilase, bem como no

grupo dos machos que receberam esta mesma dose houve uma diminuição dos níveis de sódio.

As fêmeas que receberam a dose de 7,5mL/kg do suco apresentaram uma diminuição estatisticamente significativa dos níveis de globulina plasmática, sem alterar os valores de proteínas totais e albumina em relação aos outros grupos avaliados.

Os machos que receberam a dose de 10mL/kg do suco, apresentaram uma diminuição dos níveis de triglicerídeos comparado ao controle e aos demais grupos.

**Tabela 7** - Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos Wistar

| Grupos          | Glicose<br>(mg/dL) | Ureia<br>(mg/dL) | Creatinina<br>(mg/dL) | Ácido<br>Úrico<br>(mg/dL) | AST<br>(U/l) | ALT<br>(U/l) | Fosfatase<br>Alcalina<br>(U/l) |
|-----------------|--------------------|------------------|-----------------------|---------------------------|--------------|--------------|--------------------------------|
| <b>MACHOS</b>   |                    |                  |                       |                           |              |              |                                |
| <b>Controle</b> | 197,0±13,9         | 41,8±1,7         | 0,4±0,0               | 2,2±0,4                   | 80,2±9,4     | 37,8±1,6     | 136,2±16,3                     |
| <b>5mL/kg</b>   | 206,6±17,8         | 43,8±2,5         | 0,4±0,0               | 3,0±0,4                   | 73,2±4,3     | 38,6±2,4     | 128,2±7,8                      |
| <b>7,5mL/kg</b> | 216,0±14,6         | 44,7±5,2         | 0,4±0,0               | 3,1±0,4                   | 77,0±7,1     | 43,7±2,2     | 180,0±35,9                     |
| <b>10mL/kg</b>  | 195,8±7,4          | 46,4±0,8         | 0,3±0,0               | 2,5±0,1                   | 79,8±4,5     | 45,0±2,6     | 208,4±23,9                     |
| <b>FÊMEAS</b>   |                    |                  |                       |                           |              |              |                                |
| <b>Controle</b> | 186,2±23,5         | 44,0±1,0         | 0,5±0,0               | 3,1±0,6                   | 93,0±10,0    | 72,4±15,5    | 99,8±13,5                      |
| <b>5mL/kg</b>   | 178,6±8,3          | 42,2±1,7         | 0,5±0,0               | 3,2±0,3                   | 115,2±10,0   | 50,2±1,0     | 95,6±19,2                      |
| <b>7,5mL/kg</b> | 163,2±2,9          | 44,4±2,3         | 0,5±0,0               | 2,0±0,3                   | 109,0±4,5    | 55,4±3,3     | 85,4±12,8                      |
| <b>10mL/kg</b>  | 179,6±14,8         | 46,7±4,3         | 0,5±0,0               | 3,5±0,4                   | 108,8±13,4   | 45,6±3,5     | 66,8±9,9                       |

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). *One-way ANOVA / Tukey*. \*p<0,05.

**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Tabela 8** - Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos Wistar

| Grupos          | DHL<br>(U/l) | Colesterol<br>(mg/dL) | Triglicerídeos<br>(mg/dL) | Amilase<br>(U/dL) | Proteínas<br>totais(g/dL) | Albumi<br>na<br>(g/dL) | Globulina<br>(g/dL) |
|-----------------|--------------|-----------------------|---------------------------|-------------------|---------------------------|------------------------|---------------------|
| <b>MACHOS</b>   |              |                       |                           |                   |                           |                        |                     |
| <b>Controle</b> | 892±225,1    | 46,80±1,50            | 115,0±22,20               | 462,8±18,51       | 6,12±0,096                | 3,14±0,07              | 2,98±0,09           |
| <b>5mL/kg</b>   | 777,8±119,5  | 53,80±4,12            | 85,6±6,79                 | 475,4±19,86       | 6,28±0,165                | 3,34±0,07              | 3,02±0,08           |
| <b>7,5mL/kg</b> | 640,5±210,2  | 65,75±12,13           | 90,0±17,01                | 410,5±16,34       | 6,50±0,158                | 3,28±0,025             | 3,22±0,15           |
| <b>10mL/kg</b>  | 819,6±167,9  | 51,20±0,80            | 54,4±7,40*                | 418,2±18,46       | 6,32±0,086                | 3,24±0,06              | 3,10±0,08           |

| FÊMEAS          |              |           |            |             |           |           |            |
|-----------------|--------------|-----------|------------|-------------|-----------|-----------|------------|
| <b>Controle</b> | 712,2±144,0  | 63,0±6,94 | 50,2±11,85 | 272,8±14,11 | 6,64±0,12 | 3,56±0,07 | 3,42±0,15  |
| <b>5mL/kg</b>   | 1401,0±238,2 | 62,6±4,70 | 68,0±9,00  | 323,8±3,49* | 6,70±0,17 | 3,52±0,05 | 3,18±0,12  |
| <b>7,5mL/kg</b> | 961,0±102,6  | 61,2±3,00 | 72,9±15,20 | 281,6±17,00 | 6,42±0,09 | 3,44±0,13 | 2,98±0,12* |
| <b>10mL/kg</b>  | 810,6±281,2  | 69,2±2,82 | 63,8±6,36  | 301,2±13,21 | 6,58±0,11 | 3,56±0,07 | 3,02±0,05  |

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=10). *One-way ANOVA / Tukey*. \*p<0,05.

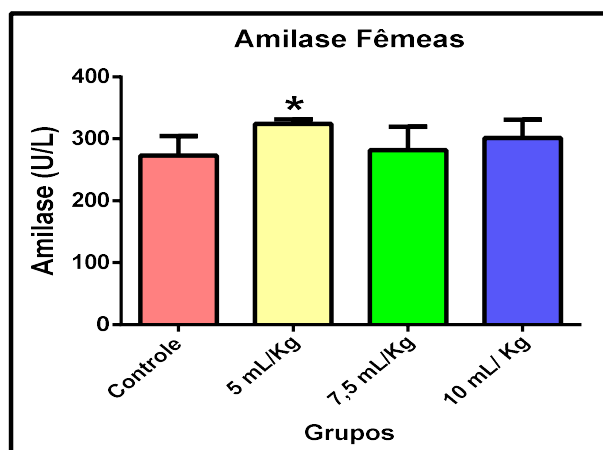
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Tabela 9** - Parâmetros bioquímicos obtidos do sangue de ratos Wistar

| Grupos          | Bilirrubina<br>(U/l) | CPK<br>(mg/dL) | Cálcio<br>(mg/dL) | Cloro<br>(U/dL) | Magnésio<br>(g/dL) | Fosforo<br>(g/dL) | Sódio<br>(g/dL) |
|-----------------|----------------------|----------------|-------------------|-----------------|--------------------|-------------------|-----------------|
| MACHOS          |                      |                |                   |                 |                    |                   |                 |
| <b>Controle</b> | 0,1±0,0              | 424,2±80,0     | 10,3±0,2          | 101,2±0,4       | 3,1±0,1            | 9,9±0,2           | 146,4±0,2       |
| <b>5mL/kg</b>   | 0,1±0,0              | 351,6±47,0     | 10,6±0,2          | 99,6±0,4        | 3,4±0,1            | 9,8±0,2           | 144,2±0,6*      |
| <b>7,5mL/kg</b> | 0,1±0,0              | 320,8±103,8    | 10,6±0,2          | 100,5±1,0       | 3,3±0,2            | 9,6±0,6           | 146,3±0,8       |
| <b>10mL/kg</b>  | 0,1±0,0              | 386,8±80,9     | 10,2±0,2          | 101,6±1,3       | 3,2±0,0            | 9,6±0,2           | 145,2±0,3       |
| FÊMEAS          |                      |                |                   |                 |                    |                   |                 |
| <b>Controle</b> | 0,1±0,0              | 327,2±80,4     | 10,6±0,2          | 102,4±0,8       | 3,6±0,1            | 8,1±0,2           | 143,8±0,2       |
| <b>5mL/kg</b>   | 0,1±0,0              | 601,4±110,0    | 10,3±0,2          | 101,4±0,5       | 3,6±0,1            | 8,2±0,5           | 143,8±0,6       |
| <b>7,5mL/kg</b> | 0,2±0,0              | 566,6±84,6     | 10,0±0,1          | 102,0±0,6       | 3,2±0,2            | 7,7±0,6           | 143,4±1,0       |
| <b>10mL/kg</b>  | 0,1±0,0              | 581,6±133,6    | 10,5±0,3          | 102,2±1,0       | 3,6±0,2            | 8,6±0,8           | 143,6±0,5       |

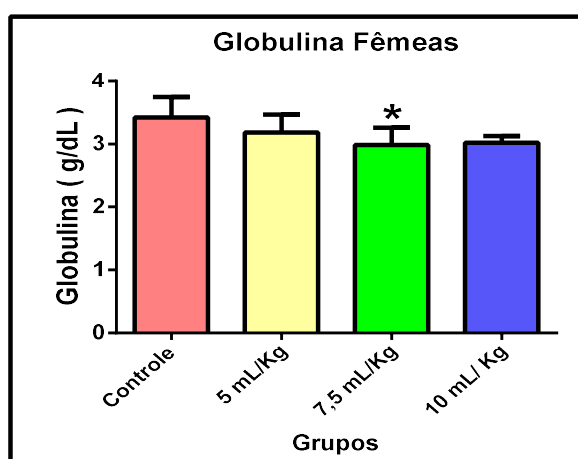
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 32** - Amilase das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

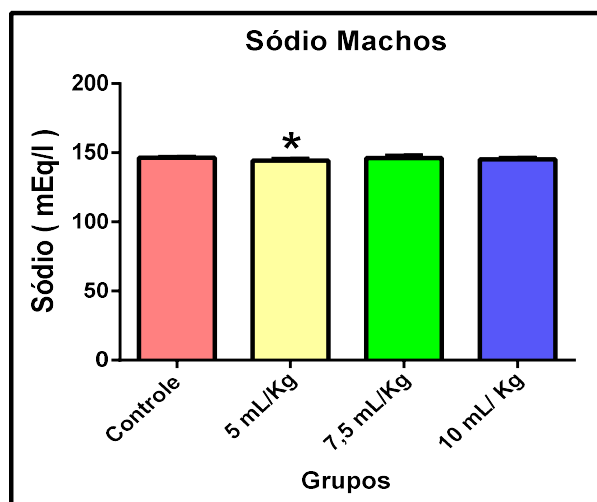
**Gráfico 33** - Globulina das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

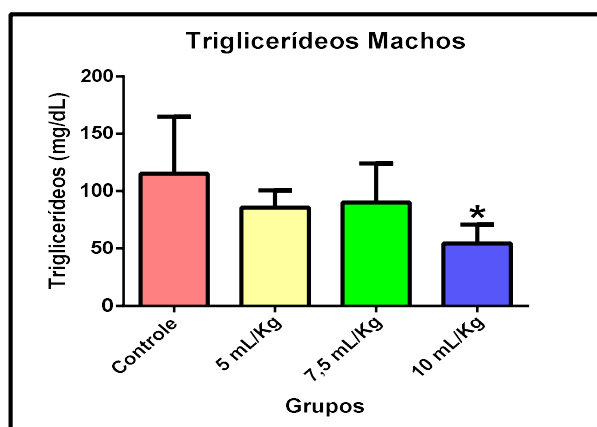
**Gráfico 34** - Sódio dos machos tratados com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica





Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 35** - Triglicerídeos dos machos tratados com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

#### 8.2.4.2 Parâmetros hematológicos

Na avaliação dos parâmetros hematológicos, observou-se diminuição estatisticamente significativa das hemácias, hemoglobina e hematócrito, nas fêmeas que receberam o suco do *P. gounellei*, nas três diferentes doses utilizadas como mostram os **Gráficos 36, 37 e 38**. Houve um aumento do VCM nas fêmeas do grupo de dose de 5mL/kg (**Gráficos 39**).

Não houve alteração dos leucócitos totais em nenhum dos grupos, porém observou-se aumento dos neutrófilos nas fêmeas que receberam 7,5mL/kg e 10mL/kg

associado a diminuição dos linfócitos nas fêmeas deste primeiro grupo (**Gráficos 40 e 41**).

Com relação às plaquetas, nos grupos de fêmeas que receberam as doses de 5mL/kg e 7,5mL/kg, houve um aumento estatisticamente significativo, com diminuição do VPM no grupo de dose de 7,5mL/kg (**Gráficos 42 e 43**).

Não houve alteração hematológica estatisticamente significativa nos grupos dos ratos machos.

**Tabela 10** - Parâmetros hematológicos obtidos do sangue de ratos Wistar 1

| Grupos          | Hemácias<br>( $10^6/\text{mm}^3$ ) | Hemoglobina<br>(g/dL) | Hematócrito<br>(%) | VCM<br>( $\mu^3$ ) | HCM<br>( $\mu\mu\text{g}$ ) | CHCM(%)        |
|-----------------|------------------------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|-----------------------------|----------------|
| <b>MACHOS</b>   |                                    |                       |                    |                    |                             |                |
| <b>Controle</b> | 8,4 $\pm$ 0,3                      | 15,3 $\pm$ 0,3        | 42,5 $\pm$ 1,3     | 52,2 $\pm$ 0,4     | 18,7 $\pm$ 0,2              | 36,0 $\pm$ 0,5 |
| <b>5mL/Kg</b>   | 8,6 $\pm$ 0,2                      | 15,7 $\pm$ 0,3        | 44,4 $\pm$ 0,6     | 51,6 $\pm$ 0,6     | 18,2 $\pm$ 0,3              | 35,4 $\pm$ 0,3 |
| <b>7,5mL/Kg</b> | 8,7 $\pm$ 0,5                      | 16,0 $\pm$ 0,4        | 44,6 $\pm$ 1,8     | 50,4 $\pm$ 0,6     | 18,1 $\pm$ 0,3              | 36,0 $\pm$ 0,3 |
| <b>10mL/Kg</b>  | 8,6 $\pm$ 0,3                      | 15,2 $\pm$ 0,3        | 42,6 $\pm$ 0,7     | 50,7 $\pm$ 0,5     | 18,0 $\pm$ 0,2              | 35,6 $\pm$ 0,1 |
| <b>FÊMEAS</b>   |                                    |                       |                    |                    |                             |                |
| <b>Controle</b> | 10,0 $\pm$ 0,4                     | 18,0 $\pm$ 0,6        | 50,7 $\pm$ 2,2     | 50,5 $\pm$ 0,5     | 18,0 $\pm$ 0,3              | 35,6 $\pm$ 0,5 |
| <b>5mL/Kg</b>   | 7,5 $\pm$ 0,1*                     | 14,1 $\pm$ 0,3*       | 39,7 $\pm$ 1,0*    | 52,9 $\pm$ 0,5*    | 18,8 $\pm$ 0,2              | 35,6 $\pm$ 0,2 |
| <b>7,5mL/Kg</b> | 7,8 $\pm$ 0,2*                     | 13,9 $\pm$ 0,3*       | 39,0 $\pm$ 1,0*    | 50,0 $\pm$ 0,5     | 17,7 $\pm$ 0,3              | 35,6 $\pm$ 0,4 |
| <b>10mL/Kg</b>  | 8,7 $\pm$ 0,3*                     | 15,8 $\pm$ 0,5*       | 43,7 $\pm$ 1,5*    | 50,3 $\pm$ 0,9     | 18,1 $\pm$ 0,4              | 36,2 $\pm$ 0,2 |

Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=10). One-way ANOVA / Tukey. \*p<0,05.

Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Tabela 11** - Parâmetros hematológicos obtidos do sangue de ratos Wistar

| Grupos           | Leucócitos<br>( $10^3/\text{mm}^3$ ) | Neutrófilos<br>(%) | Eosinófilos<br>(%) | Linfócitos<br>(%) | Monócitos<br>(%) | Plaquetas<br>( $10^3/\text{mm}^3$ ) |
|------------------|--------------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------------------|-------------------------------------|
| <b>MACHOS</b>    |                                      |                    |                    |                   |                  |                                     |
| <b>Controle</b>  | 7480 $\pm$ 652                       | 27,4 $\pm$ 1,3     | 0,6 $\pm$ 0,4      | 71,0 $\pm$ 1,1    | 1,0 $\pm$ 0,3    | 774900 $\pm$ 171106                 |
| <b>5mL/Kg</b>    | 6920 $\pm$ 653                       | 22,6 $\pm$ 1,6     | 0,6 $\pm$ 0,2      | 76,4 $\pm$ 1,9    | 0,6 $\pm$ 0,4    | 1097000 $\pm$ 34132                 |
| <b>7,5 mL/Kg</b> | 9700 $\pm$ 443                       | 24,0 $\pm$ 2,1     | 0,5 $\pm$ 0,3      | 74,5 $\pm$ 2,1    | 1,2 $\pm$ 0,3    | 980250 $\pm$ 33258                  |
| <b>10mL/Kg</b>   | 7660 $\pm$ 854                       | 23,4 $\pm$ 2,5     | 0,4 $\pm$ 0,3      | 74,8 $\pm$ 2,6    | 1,4 $\pm$ 0,2    | 948200 $\pm$ 61079                  |

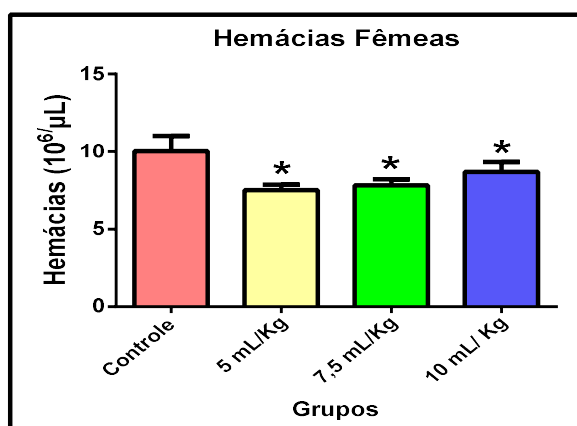
## FÊMEAS

|                  |          |           |         |           |         |               |
|------------------|----------|-----------|---------|-----------|---------|---------------|
| <b>Controle</b>  | 5700±720 | 19,4±0,9  | 0,2±0,2 | 79,2±0,8  | 1,2±0,4 | 719400±72865  |
| <b>5mL/Kg</b>    | 5140±501 | 21,2±1,6  | 0,2±0,2 | 77,4±1,6  | 1,2±0,4 | 949600±31032* |
| <b>7,5 mL/Kg</b> | 5980±976 | 25,4±2,3* | 1,0±0,4 | 73,0±2,3* | 0,6±0,4 | 936600±39221* |
| <b>10 mL/Kg</b>  | 5620±529 | 25,4±1,3* | 0,4±0,2 | 73,6±1,2  | 0,6±0,2 | 909200±54206  |

Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6). Teste “t” de *Student* / Não-pareado. \*p<0,05.

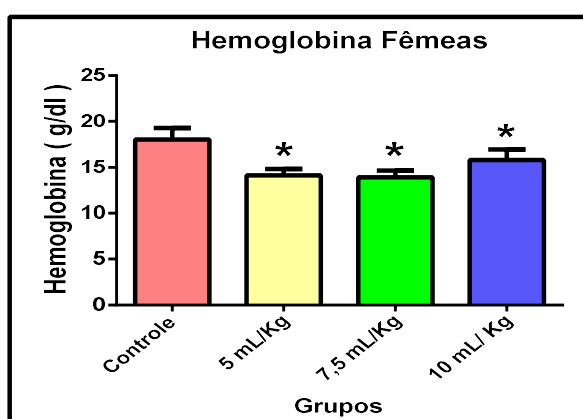
**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 36** - Hemácias das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



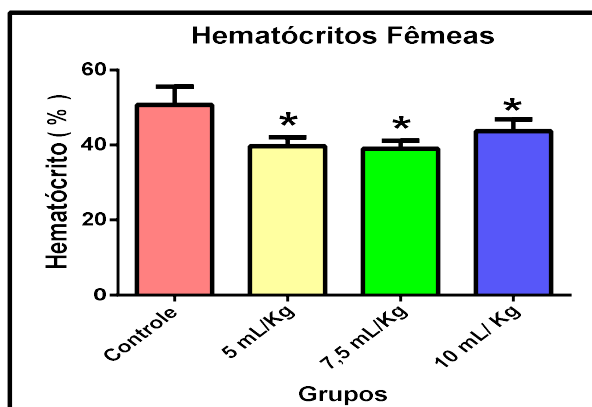
**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 37** - Hemoglobina das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



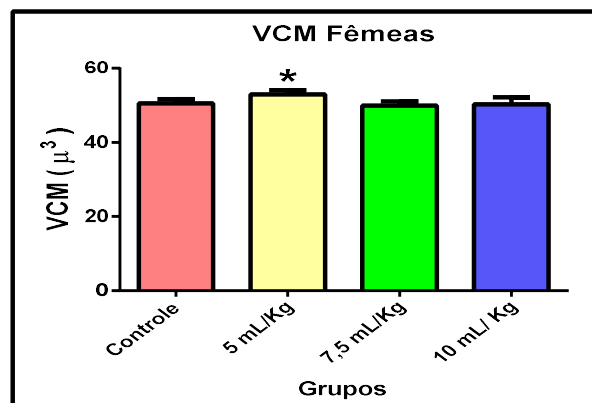
**Fonte:** Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 38** - Hematócrito das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



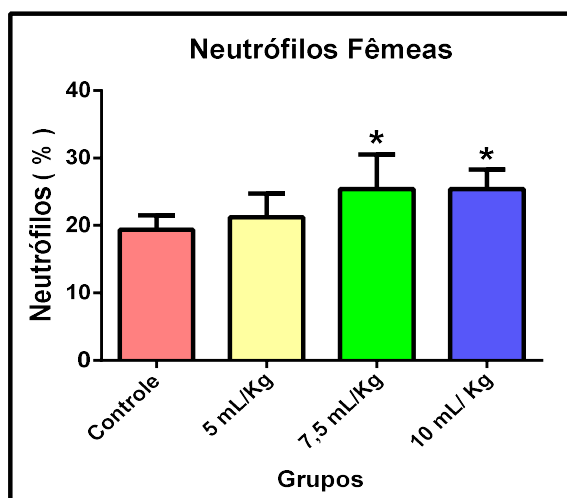
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 39** - VCM das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



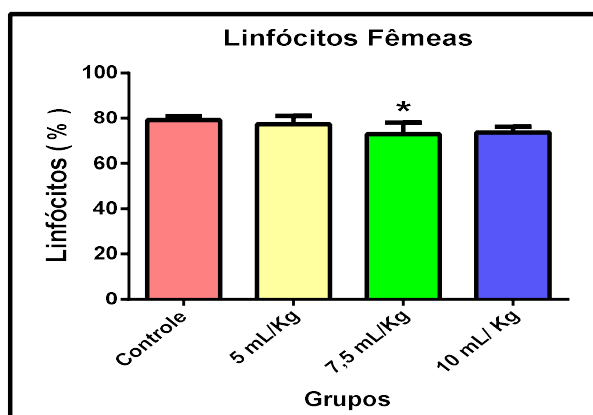
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 40** - Neutrófilos das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



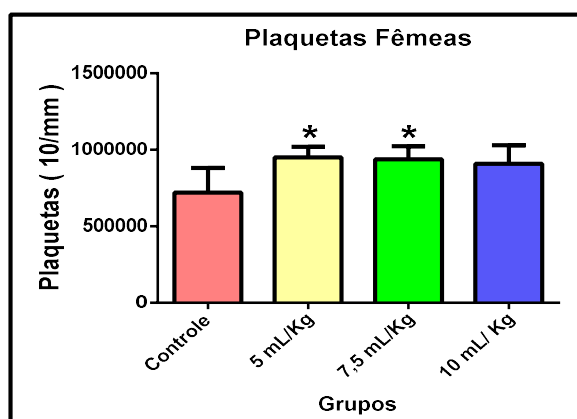
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 41** - Linfócitos das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



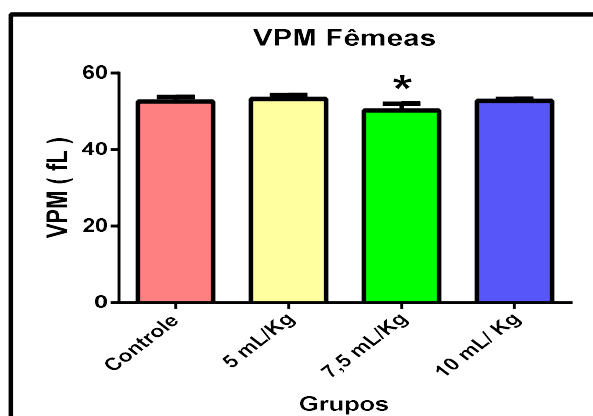
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

**Gráfico 42** - Plaquetas das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa.

**Gráfico 43** - VPM das fêmeas tratadas com as doses de 5mL/kg; 7,5mL/kg e 10 mL/kg do suco do *P. gounellei* durante o ensaio de toxicidade subcrônica



Fonte: Dados da pesquisa.

## 9 DISCUSSÃO

### 9.1 ENSAIO DE TOXICIDADE AGUDA

De acordo com os critérios de classificação de toxicidade da Comunidade Europeia, a não ocorrência de mortes, após administração de 2000 mg/kg de um produto obtido de uma espécie vegetal, por via oral, indica uma provável ausência de toxicidade para a espécie (BARROS; DAVINO, 2003), porém esta avaliação é apenas um indicativo de baixa toxicidade, sendo necessário estudos mais detalhados e de maior extensão, para avaliar a possível toxicidade para a espécie, no seu uso continuado. A substância foi classificada na categoria V da GSH (*Globally Harmonized Classification System*), indicando baixa toxicidade, isto porque de acordo com a OECD 423, as três substâncias testadas apresentaram uma DL50 superior a 5.000 mg/kg.

Os humanos estão expostos a uma grande variedade de produtos químicos, assim, para garantir proteção adequada da saúde humana é necessário avaliar o potencial que os compostos de induzir toxicidade. As análises toxicológicas fornecem informações sobre periculosidade, exposição, risco de intoxicação e mecanismo de toxicidade, buscando atestar segurança e regulamentar o uso de substância química (SANTOS; PEREIRA, 2016).

A ingestão de água e de nutrientes são parâmetros importantes no estudo da segurança de um produto com fins terapêuticos, pois estes são essenciais para o bom funcionamento do organismo e, conseqüentemente, para uma adequada resposta à droga testada, já que condições nutricionais impróprias podem acarretar deficiências no organismo. Neste trabalho foi evidenciado uma diminuição no consumo de água nos grupos que receberam o suco e o iogurte acrescido da geleia da polpa do *Pilosocereus gounellei*. Estes por sua vez, contêm razoável quantidade de água, sendo esta planta utilizada no sertão nordestino como fonte de água e alimento para animais e seres humanos (DIAS, 2015; FERNANDES, 2019). Esta diminuição não repercutiu na função renal dos animais, que por diminuírem a ingestão deste líquido poderiam evoluir com desidratação e insuficiência renal do tipo pré-renal cursando com aumento das escórias nitrogenadas, como uréia e creatinina, o que não foi observado, pelo contrário, houve diminuição da uréia no grupo que recebeu o suco.

O acompanhamento da massa corpórea do animal é um importante indicador para a avaliação da toxicidade de uma substância. O ganho de peso dos animais pode

ser afetado pela dificuldade de digestão dos alimentos e absorção dos nutrientes, sendo um indício de possíveis efeitos tóxicos (SANTANA *et al.*, 2012; ROY *et al.*, 2015). O hipotálamo é um dos principais centros integradores que regulam a ingestão de alimentos e do balanço energético. Alguns estudos correlacionam o efeito do estresse sobre o peso corporal e a ingestão de alimento, sendo verificada perda de peso corporal mais elevada em animais expostos a mais estresse, sugerindo que estresse repetido influencia o estado físico dos animais (KATO *et al.*, 2013; LI, X.; WANG *et al.*, 2017). Apesar de não ter havido redução no consumo de ração, os animais apresentaram uma discreta perda de peso na segunda semana. O grupo que recebeu o iogurte teve um ganho de peso significativamente menor que o seu grupo controle. Contudo, os resultados estão de acordo com o preconizado para a variação de peso corpóreo da OECD (2001a), de não ultrapassar a variação de 20% do peso médio inicial.

Parâmetros bioquímicos também foram investigados para avaliar o estudo de toxicidade dos três produtos derivados do *P. gounellei*: suco, geleia da polpa e iogurte com a geleia da polpa.

O fígado é notadamente um dos órgãos mais importantes do corpo, sendo ele de vital importância para o bom funcionamento do organismo através da produção e metabolismo de várias substâncias (GOMES 2019). Ele atua de forma direta no armazenamento e degradação de substâncias, hormônios e participa da síntese e secreção de sais biliares, além de promover a regulação dos carboidratos, proteínas e lipídeos.

Devido às inúmeras e relevantes funções que o fígado desempenha de forma direta e indireta no organismo, foram desenvolvidas várias técnicas para mensurar o desempenho, bem como apontar possíveis lesões neste órgão. De acordo com (GOMES 2019), os exames laboratoriais hepáticos devem ser divididos em testes que mensuram lesão nos hepatócitos, que detectam colestase e por fim os que avaliam a função hepática.

As lesões nos hepatócitos são detectadas através da mensuração de enzimas séricas liberadas após o rompimento dos hepatócitos, fornecendo informações da extensão, magnitude e curso (aguda ou crônica) da lesão. A ALT, também denominada, no passado, de Transaminase Glutâmico-Pirúvica (TGP), é uma enzima encontrada livre no citoplasma dos hepatócitos, sendo liberada na corrente circulatória após o rompimento celular (GOMES, 2019). Vários transtornos, como, hipóxia,

esteatose hepática, doenças bacterianas e virais, inflamações, neoplasias hepáticas, endo e exotoxinas, bem como medicamentos podem induzir a lesão hepatocelular e sua liberação para a corrente sanguínea. ALT é uma enzima que tem curso de elevação agudo proporcional à lesão encontrada, tendo seu pico de liberação detectado de 3 a 4 dias após a lesão, mas com retorno basal em até 14 dias (OLIVEIRA, A., 2019). AST, também chamada de transaminase glutâmica oxalacética sérica (TGO) é similar à ALT de modo que é outra enzima associada às células parenquimais do fígado. Está aumentada na lesão hepática aguda, mas também está presente nas hemácias e músculos esqueléticos e cardíacos, não sendo então uma enzima específica do fígado. A proporção entre a AST e a ALT é muitas vezes útil para diferenciar as causas da lesão hepática. A Desidrogenase Láctica (LDH) também pode ser observada nas lesões hepáticas.

A GGT é uma enzima que pode estar presente em células do fígado, rins e pâncreas. No entanto, a GGT que se encontra elevada no exame de sangue, geralmente, é de origem hepática. Ela faz parte das enzimas que são rotineiramente solicitadas para avaliação laboratorial das hepatopatias, junto com a Fosfatase Alcalina (FA), Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT). A elevação conjunta da FA e GGT indica presença de colestase (retardo do fluxo de bile) que pode ocorrer, pelo uso de medicamentos ou doenças dos ductos biliares intra ou extra-hepáticos, por obstrução tumoral ou cálculos biliares. A elevação da FA e GGT, que são chamadas de enzimas canaliculares ou colestáticas, pode se associar a elevação de bilirrubina (OLIVEIRA, A., 2019).

A fosfatase alcalina é uma enzima ligada à membrana, e a sua alteração pode afetar a permeabilidade da mesma. O aumento de seu nível está frequentemente associado a várias perturbações como: obstrução biliar extra-hepática, colestase intra-hepática, doença hepática infiltrativa, bem como hepatite e doença óssea. O aumento da FA e ALT sérica podem ser causados por esteatose hepática. Ainda, alterações no metabolismo das gorduras, podem ser demonstradas com a elevação drástica do nível sérico de triglicerídeo e uma diminuição da relação HDL (*High Density Lipoprotein*) / LDL (*Low Density Lipoprotein*) (ROY *et al.*, 2015; ZAREI *et al.*, 2015).

A avaliação da função hepática é feita através da mensuração de metabolitos hepáticos séricos de forma direta ou indireta, que são normalmente produzidos e ou excretados pelo órgão. A bilirrubina (Bb), principal componente dos pigmentos biliares, é o produto final da destruição da porção "heme" da hemoglobina e outras



hemoproteínas. A primeira bilirrubina a ser produzida nesse processo é a bilirrubina indireta (também chamada de bilirrubina *não conjugada*). Essa bilirrubina sofre o processo de conjugação ao ácido glicurônico no fígado pela enzima glicuroniltransferase e passa a ser bilirrubina direta (ou *conjugada*), um composto mais polar e hidrossolúvel. Portanto, elevação da bilirrubina indireta, é causado pelo aumento de degradação do heme ou deficiência da conjugação no fígado. Já aumento da Bb direta é causado pela diminuição da sua eliminação pela bile. O aumento de ambas pode ser causado por obstrução ao fluxo de bile ou por lesão mais intensa dos hepatócitos. Assim, a dosagem da bilirrubina é um exame que pode avaliar ao mesmo tempo lesão hepatocelular, fluxo biliar e função de síntese do fígado (GOMES, 2019). A albumina é a principal proteína circulante no organismo humano e é responsável entre outras coisas, pelo transporte de substâncias pelo sangue e pela maior parte da pressão coloidosmótica do plasma. O fígado é o único responsável pela produção de albumina. Reduções na quantidade desta proteína no sangue, no entanto, podem não ser causadas por doenças hepáticas, mas também por falta de “matéria prima” para sua síntese (como nas desnutrições protéicas) ou aumento na sua distribuição como em estados catabólicos intensos ou ainda perda intestinal ou renal.

No grupo que recebeu a geleia da polpa do *P. gounellei* foi observado um aumento de ALT e AST, tendo o primeiro apresentado significância estatística, em relação ao grupo controle, e o segundo não. Aumento da FA ocorreu em todos os grupos em relação aos valores de normalidade, porém não houve significância estatística. Não foram observadas alterações nos valores de albumina e bilirrubina.

A lesão induzida por drogas pode causar praticamente qualquer tipo de alteração hepática. A hepatotoxicidade aguda pode se caracterizar por uma lesão semelhante à hepatite e envolver todas as zonas da glândula, com balonismo hepatocelular e degeneração acidófila de hepatócitos, corpos apoptóticos, pequenos focos de necrose e inflamação portal mínima. Também pode evoluir como uma hepatite semelhante à vista em casos de mononucleose com aumento da celularidade de sinusóides, infiltração marcada do espaço portal com linfócitos, eosinófilos, corpos acidófilos dispersos e focos de necrose e múltiplas figuras mitóticas em células hepáticas. A necrose maciça, que mostra perda total de hepatócitos com colapso do estroma residual, proliferação ductular proeminente e infiltração por neutrófilos também pode ocorrer (GOMES, 2019).

Contudo, o fígado não apresentou nenhuma alteração macroscópica e nem

alterações microscópicas, mantendo sua anatomia e citoarquitetura preservada. O que nos leva a pensar em uma leve hepatotoxicidade por parte do iogurte acrescido da geleia, já que o mesmo apresentou aumento discreto de ALT e AST, devendo, portanto, seguir com os estudos de toxicidade crônica para confirmar este achado.

O LDH, também chamado de desidrogenase láctica ou lactato desidrogenase, é uma enzima presente no interior das células responsáveis pelo metabolismo da glicose no organismo. Essa enzima pode ser encontrada em diversos órgãos e tecidos e, por isso, a sua elevação é pouco específica, sendo indicada a realização de outros exames para que se possa chegar a um diagnóstico. O aumento do LDH é normalmente indicativo de lesão em órgãos ou tecidos. Isso porque como consequência do dano celular, o LDH contido dentro das células é liberado e fica circulante na corrente sanguínea, sendo sua concentração avaliada por meio de exame de sangue. Algumas situações podem aumentar os níveis de LDH, não sendo indicativo de doenças, principalmente se outros parâmetros laboratoriais solicitados estão normais (GOMES, 2019).

A função renal é verificada pela avaliação da creatinina, ureia e ácido úrico no sangue. A creatinina sérica é um bom marcador bioquímico, que juntamente a outras moléculas como a albumina, ureia, potássio, fósforo, pode indicar lesão em determinados órgãos/sistemas e até mesmo o grau da agressão. Ureia e creatinina geralmente apresentam-se alterados diante da condição clínica da incapacidade dos rins de eliminar substâncias corporais, isto é, quando há insuficiência renal aguda ou crônica (GOMES, 2019).

A única alteração encontrada em relação a função renal foi a diminuição da ureia no grupo que recebeu o suco do *P. gounellei*, o que pode demonstrar uma possível proteção renal.

A lipase é produzida principalmente pelo pâncreas, e é uma glicoproteína cuja principal missão é hidrolisar os ácidos graxos de cadeia longa, isso é, romper as ligações que os unem pela ação das moléculas de água. Isso é chamado lipólise. Em outras palavras, a lipase participa da digestão de gorduras (LIMA, F.G., *et al.*, 2018). A elevação dos seus níveis é observada em patologias pancreáticas como pancreatites e tumores deste órgão, em colecistites agudas, infarto intestinal e geralmente ela é acompanhada por aumento nos níveis de amilase. Porém sua diminuição não tem necessariamente significado clínico (SILVA, I.G., *et al.*, 2021).

O sistema hematopoiético é um alvo bastante susceptível ao ataque de substâncias tóxicas. Sendo assim, a análise dos parâmetros sanguíneos é de relevante importância para se fazer uma avaliação dos riscos de determinadas substâncias quando administrada em seres humanos (LI *et al.*, 2010; LIMA, F.G., *et al.*, 2018).

As hemácias são unidades morfológicas da série vermelha do sangue, também designadas por eritrócitos ou glóbulos vermelhos. São constituídas basicamente por globulina e hemoglobina (composta de 4 moléculas protéicas de estrutura terciária e 4 grupamentos heme) que contém o ferro (cada íon ferro é capaz de se ligar frouxamente a dois átomos de oxigênio, um para cada molécula de hemoglobina), e a sua função é transportar o oxigênio (principalmente) e o gás carbônico (em menor quantidade) aos tecidos (LORENZI, 2006).

No hemograma, VCM, HCM e RDW são os índices hematimétricos, que servem para avaliar as características das hemácias. Esses índices adicionais permitem verificar o tamanho e o formato das mesmas, sendo usados em conjunto com a contagem dessas células para diagnosticar diversos tipos de anemia (DIAS, G.N., 2015).

O RDW avalia a variação de tamanho entre as hemácias, sendo esta, denominada anisocitose. Dessa forma, quando o valor se eleva no hemograma, significa que os glóbulos vermelhos têm tamanhos diferentes do normal, podendo ser visto no esfregaço sanguíneo hemácias muito grandes e muito pequenas. Associado a isso um valor aumentado do VCM (Volume Corpuscular Médio) confirma que as hemácias possuem um tamanho maior do que o habitual, já que este índice é utilizado para avaliar o tamanho médio dos glóbulos vermelhos (LIMA, F.E.G., *et al.*, 2018).

No grupo tratado com a geleia da polpa do *P. gounellei* na dose de 2000mg/kg durante 14 dias, ocorreu um aumento estatisticamente significativo no VCM e no RDW em relação ao controle. O Volume Corpuscular Médio (VCM), é considerado um dos principais critérios para a classificação de distúrbios anêmicos, contudo, seu aumento neste caso não pode ser considerada um indicativo de anemia, tendo em vista que os outros parâmetros que poderiam indicar uma anemia não foram alterados.

No grupo que recebeu o iogurte acrescido da geleia do *P. gounellei* foi observado além do aumento do RDW, uma diminuição do hematócrito. Este, avalia a porcentagem de volume ocupada pelos glóbulos vermelhos ou hemácias no volume total de sangue. Ele se eleva quando o número de hemácias aumenta ou quando o

volume de plasma diminui, como na desidratação. O hematócrito diminui até menos que o normal, indicando anemia, quando reduz a produção ou aumenta a destruição de hemácias, e quando há perda de sangue por hemorragia (SPERANDIO *et al.*, 2015). Porém esta alteração não foi acompanhada por queda de hemoglobina.

Outra alteração hematológica evidenciada foi uma linfopenia, caracterizada pela diminuição do número de linfócitos, uma das células de defesa do organismo chamada leucócitos. Essa alteração foi observada no grupo que recebeu o iogurte acrescido da geleia da polpa do *P. gounellei*, podendo estar relacionada a diversas causas, sendo uma delas o estresse.

Estas variações apesar de serem estatisticamente significativas não possuem relevância clínica, pois os valores estão próximos dos de referência, tais diferenças podem ser explicadas pela variabilidade biológica entre os ratos (CASTELLO BRANCO *et al.*, 2011).

Os íons cálcio e fósforo são abundantes no esqueleto humano, tendo um metabolismo em comum e associado a fatores como a vitamina D e o paratormônio. Por meio destes fatores se processa a homeostase destes íons, havendo participação de órgãos como o rim, o intestino e o próprio esqueleto (SILVA, I.G., *et al.*, 2021).

O cálcio e o fósforo são minerais importantes na composição da matriz óssea, conferindo-lhe força e dureza. O magnésio é fundamental para que tanto o cálcio como o fosfato funcionem de forma adequada (SILVA, I.G., *et al.*, 2021).

O magnésio é, após o potássio, o segundo cátion mais abundante no fluido intracelular dos organismos vivos (BEZERRIL, F.F., *et al.*, 2021). É envolvido na maioria dos processos metabólicos, participando no evento da síntese proteica via DNA. Está envolvido na regulação da função mitocondrial, processos inflamatórios e defesa imune, alergia, crescimento e estresse, controle da atividade neuronal, excitabilidade cardíaca, transmissão neuromuscular, tônus vasomotores e pressão arterial.

A concentração sérica de magnésio é resultado de um balanço na ingestão/absorção do íon, biodistribuição dentro do organismo e excreção (tanto urinária quanto intestinal). Portanto, a elevação do nível sérico de magnésio é geralmente encontrada em casos de insuficiência renal aguda ou crônica, com o uso de laxativos orais ou enemas retais contendo magnésio em sua composição. Já a hipomagnesemia tem em suas causas as doenças do trato gastrointestinal, como síndromes disabsortivas e pós-ressecções de intestino delgado, podendo também ser

induzida por alimentação enteral prolongada sem suplementação de magnésio e pelo uso excessivo de laxativos (SILVA, I.G., *et al.*, 2021).

No grupo que recebeu o suco do *P. gounellei* houve um aumento dos níveis de magnésio em relação ao grupo controle, e naqueles que receberam o iogurte acrescido da geleia do *P. gounellei* ocorreu uma diminuição destes níveis também em relação ao controle. Importante avaliar que apesar destas alterações os valores do magnésio permaneceram ainda próximo ao valor de normalidade (VN:2,3+0,0). Isto pode ter ocorrido pelas propriedades do iogurte em modificar a microbiota intestinal alterando o processo de digestão e absorção de alguns nutrientes (CARVALHO, P., *et al.*, 2021). Neste último grupo além da hipomagnesemia ocorreu também uma hipofosfatemia o que ajuda a corroborar nossa hipótese.

Importante observar que os minerais, acima mencionados, dependem da absorção intestinal para manter os seus valores de normalidades. Como foi visto anteriormente, estudos com o cladódio do *P. gounellei* mostraram a presença de fibras consideradas prebióticas, que servem como alimento para as bactérias intestinais, resultando em possíveis alterações na absorção destes minerais (BEZERRIL, F., *et al.*, 2017; RIBEIRO, T., *et al.*, 2020).

Existem alguns mecanismos principais para a ocorrência da hipofosfatemia, que são: redistribuição do fósforo do meio extracelular para o meio intracelular, diminuição da absorção intestinal de fósforo e aumento da excreção urinária de fósforo, em geral por perdas no túbulo proximal (SILVA, I.C.G., *et al.*, 2021).

O cloro é essencial no equilíbrio hídrico, na regulação da pressão osmótica e no equilíbrio do sódio. O hormônio ADH intensifica a excreção de cloro e reduz a sua absorção pelos túbulos renais. Além disso, no suco gástrico o cloreto também tem importância especial na produção do ácido clorídrico. O cloreto das secreções gástricas é derivado do cloreto do sangue e normalmente é reabsorvido durante os últimos estágios da digestão no intestino grosso (SILVA, I.G., *et al.*, 2021).

A hipercloremia é caracterizada por um excesso de cloreto, principalmente causada por quadros de desidratação grave, falha renal e hemodiálise. Quando associada a um aumento proporcional de sódio é observada em casos de desidratação, enquanto que quando não associada ao aumento no nível de sódio é observada em casos de acidose metabólica que resulta da ingestão excessiva ou da excreção reduzida de cloreto (SILVA, I.G., *et al.*, 2021). Geralmente não possui sintomas até que os níveis subam muito acima do normal. Quando grave, os sinais

clínicos estão relacionados com a acidose metabólica que a acompanha, e podem incluir hipertensão, desidratação, fraqueza, sede intensa, irritação gastrointestinal, anorexia, perda de peso, letargia e hiperventilação persistente.

Apesar de nenhum órgão ter apresentado alterações macroscópicas após a autopsia dos animais, todos foram enviados para realização de exame histopatológico. Nenhum dos órgãos estudados (coração, pulmão, fígado, estômago, baço e rim) apresentou alterações em sua microscopia. Não foi evidenciado nenhum tipo de inflamação, seja ela aguda ou crônica, fibrose, esteatose ou necrose.

Deve-se levar em consideração que para afirmar a segurança do uso das substâncias em estudo, faz-se necessário iniciar estudos subcrônicos através da via oral de administração, com o intuito de avaliar o efeito da substância em longo prazo, bem como melhor caracterizar possíveis efeitos tóxicos no período de estudos.

## 9.2 ENSAIO DE TOXICIDADE SUBCRÔNICA

Os estudos toxicológicos subcrônicos são fundamentais no desenvolvimento de novos produtos, e são utilizados para testar a eficiência e ausência de toxicidade da substância em questão em um intervalo de tempo maior que os estudos agudos (OECD, 2001).

Considerando a importância destes aspectos foi realizado o estudo que objetivou investigar a toxicidade não-clínica subcrônica do suco do *Pilosocereus gounellei* em ratos, já que deste produto derivam a geleia e o iogurte do *P. gounellei*.

Foi possível detectar diminuição significativa no consumo de água e ração dos animais tratados, o que pode estar associado a uma série de fatores, como por exemplo, ao desconforto geral, levando a uma diminuição na alimentação destes animais, como sugerido anteriormente por LIMA, FEG (2018). Também pode ser consequência de alterações na palatabilidade dos animais, provocados pela administração do suco (FERREIRA *et al.*, 2016). Outra possibilidade seria o fato de que o suco do *P. gounellei* contém razoável quantidade de água e fibras solúveis e insolúveis, o que pode ter causado uma maior saciedade nos animais, e assim, ocasionado um menor consumo da ração. Exceção foi vista na primeira e segunda semana, no grupo dos machos que consumiu 10mL/kg do suco, em que houve um aumento no consumo de água em relação aos demais grupos.

A perda ponderal foi comum aos grupos de machos (controle e tratado) na segunda semana de estudo, e no grupo das fêmeas na terceira semana de experimento. Isto poderia estar relacionado a um maior stress desses animais frente à algum fator externo, que tenha influenciado de forma conjunta a todos os grupos, apesar de não haver relevância estatística nestes dados.

O único grupo que apresentou perda ponderal estatisticamente significativa foi o dos machos que receberam 7,5mL/kg do suco do *P. gounellei*. Pode-se observar que neste mesmo grupo houve uma diminuição no consumo de ração nas três primeiras semanas do experimento, o que resultou num ganho de peso menor ou perda ponderal maior que todos os outros grupos.

Ainda em relação aos machos, foi possível verificar que houve um menor consumo de ração também nos que receberam 10mL/kg na terceira semana do experimento, o que resultou em um menor ganho de peso nestes animais comparado aos outros grupos, porém sem relevância estatística.

Com relação ao consumo de água, foi possível observar um aumento na primeira e segunda semana, nos machos que receberam 10mL/kg do suco, e uma diminuição estatisticamente significativa em todos os grupos tratados, na quarta semana do experimento.

Entre as fêmeas, houve um menor consumo de água e ração, estatisticamente significativo, na terceira e quarta semana naquelas que receberam 5mL/kg do suco resultando em uma maior perda de peso na terceira semana e um menor ganho ponderal na quarta semana comparado aos outros grupos (sem significância estatística). Nas fêmeas que receberam 10mL/kg também houve um menor consumo de água e ração na segunda, terceira e quarta semana, que resultaram em uma perda de peso sem significado estatístico.

Com relação aos parâmetros bioquímicos, pode-se observar uma diminuição do sódio e triglicerídeos, nos ratos machos, que utilizaram o suco do *P. gounellei* nas doses de 5mL/kg e 10mL/kg, respectivamente.

Os triglicerídeos são gorduras presentes na corrente sanguínea e que tem relação direta com a síndrome metabólica. Portanto níveis altos de triglicerídeos sanguíneo estão relacionados ao desenvolvimento de obesidade, resistência insulínica e diabetes, risco cardiovascular, hipertensão arterial e dislipidemia. Uma das formas de diminuir os níveis de triglicerídeos é aumentar a ingestão de fibras na dieta. O seu consumo aumentado ajuda a diminuir a absorção de gorduras e açúcares

no intestino. As principais fontes de fibra incluem as frutas e os vegetais, mas outras formas de obtenção de fibras na dieta são os frutos secos e os cereais. Como já foi dito anteriormente, estudos demonstraram que nos cladódios do *P. gounellei* encontra-se grande quantidade de fibras tanto solúveis como insolúveis, o que pode justificar esta alteração laboratorial encontrada (BEZERRIL *et al.*, 2021).

A hiponatremia é uma alteração metabólica caracterizada pela baixa concentração de sódio no sangue em relação ao volume de água no organismo. Ela ocorre em decorrência do desequilíbrio no complexo sistema renina angiotensina aldosterona, que regula a absorção e excreção de água e sódio no nosso corpo (SILVA, I.G., *et al.*, 2021).

O problema ocorre em disfunções metabólicas mais agudas, principalmente pela incapacidade do organismo eliminar a quantidade certa de água para atingir o equilíbrio com o sódio, pela ação de tumores que podem estimular a produção de hormônios antidiuréticos, por patologias que contribuem para a retenção de água, como as insuficiências cardíaca, hepática e renal e pelos efeitos do uso de determinados medicamentos. Alguns diuréticos, anticonvulsivantes, antidiabéticos, quimioterápicos e antidepressivos podem favorecer a hiponametria, seja propiciando a retenção de líquido (o que reduz a concentração de sódio), seja estimulando a eliminação indevida de sódio (SILVA, I.G., *et al.*, 2021).

Os quadros de hiponatremia podem estar relacionados à insuficiência do sistema renina-angiotensina-aldosterona, que atua na reabsorção de parte do sódio naturalmente excretado pelo organismo, impedindo que ele seja eliminado pela urina. Deficiente, esse sistema não contribui para garantir a reposição do sódio (SILVA, I.G., *et al.*, 2021).

No grupo das fêmeas foi possível verificar um aumento estatisticamente significativo da amilase naquelas que receberam 5mL/kg do suco do *P. gounellei* e uma diminuição da globulina nas que receberam 7,5mL/kg do suco. Apesar do aumento da amilase neste grupo de fêmeas, foi possível observar que mesmo assim, estes valores ainda ficaram menores que o grupo dos animais machos.

A amilase sérica é secretada, essencialmente, pelas glândulas salivares e pelas células acinares do pâncreas, sendo secretada no intestino por meio do ducto pancreático. As glândulas salivares secretam a amilase e inicia a hidrólise do amido presente nos alimentos na boca e no esôfago. Essa ação é desativada pelo conteúdo ácido do estômago. No intestino, a ação da amilase pancreática consiste na quebra



de açúcares. A ingestão de carboidratos ativa o funcionamento da amilase, o qual se inicia com o estímulo às glândulas salivares. A amilase na saliva é capaz de transformar fontes de amido em maltose e glicose. Mas é somente a amilase produzida no pâncreas que consegue quebrar o amido em unidades menores, quando o alimento já está no trato digestivo e o processo de digestão está adiantado (MACK *et al.*, 2020).

Moreira *et al.* (2017) ressaltam a importância da dosagem das enzimas amilase e lipase, que funcionam como marcadoras de lesões pancreáticas, indicando que o aumento destas é resultante de um processo de inflamação do pâncreas. Por outro lado, Mack (2020), chama a atenção para o fato de que, apesar de importante, a avaliação dessas enzimas nem sempre significa um quadro de pancreatite, uma vez que a elevação das mesmas pode estar relacionada a doenças não-pancreáticas, tendo em vista que são secretadas em outros órgãos. Por outro lado, essas enzimas também podem não mostrar qualquer alteração em caso de doenças pancreáticas. Portanto, o diagnóstico preciso de pancreatite deve levar em conta os achados histopatológicos colhidos por meio de biópsia, em associação com análises laboratoriais, que complementarão os resultados histopatológicos.

A dosagem da proteína total e suas frações (albumina, globulina e relação albumina: globulina) são partes integrantes dos exames hematológicos e bioquímicos em animais. Alterações nas suas concentrações são as principais anormalidades laboratoriais em algumas doenças, fornecendo também informações importantes para limitar a lista de doenças que podem ser investigadas e, em alguns casos, indicar uma doença específica. Além disso, ajudam na avaliação do estado nutricional e da hidratação do animal (GOMES *et al.*, 2019).

Apesar de ser importante, a dosagem apenas da proteína total sem as suas frações pode ser insuficiente para triar um diagnóstico, pois não se sabe qual a classe de proteína que está alterada.

A albumina é sintetizada no fígado e responde por cerca de 80% da pressão oncótica do sangue, sendo também uma importante proteína transportadora, com significativa participação no transporte de ácidos graxos livres, ácido biliares, bilirrubina, cálcio, hormônios e medicamentos (GOMES *et al.*, 2019).

As globulinas englobam diversos tipos de moléculas de anticorpos e outras proteínas que atuam no sistema imune, fatores de coagulação, enzimas e proteínas transportadoras de lipídeos, vitaminas, hormônios, hemoglobina extracelular e íons

metálicos (ex: ferro e cobre). Elas são divididas em três grandes grupos: alfa, beta e gamaglobulinas (GOMES, *et al.*, 2019).

Foi visto que as fêmeas tratadas, com a dose de 7,5mL/kg do suco, apresentaram uma diminuição significativa da globulina em relação aos demais grupos. Entretanto, aumento ou diminuição de proteínas totais e suas frações, são fatos comuns de acontecer em animais que estão em experimentação (RAMALHO, 2015). No entanto, alterações nas proteínas séricas totais, bem como anormalidades no teor de albumina/globulina também podem ser um indicativo de disfunção hepática (GOMES, *et al.*, 2019). Mas, avaliando os demais parâmetros bioquímicos que são considerados marcadores de dano/função hepática, como AST, ALT e a própria albumina, estes não apresentaram nenhuma alteração significativa. Logo, apenas analisando o nível de globulina, não se pode inferir que o suco cause dano hepático ou alteração na sua função.

Mudanças nos níveis das globulinas podem ser usadas para avaliar estados de adaptação ao estresse: animais adaptados tendem a ter níveis normais, enquanto que os não adaptados têm os níveis alterados (RAMALHO, 2015).

Essa diminuição da globulina observada isoladamente no grupo de fêmeas que recebeu a dose de 7,5mL/kg, pode não estar relacionada diretamente a nenhum efeito tóxico, pois não foi acompanhada de alteração nos níveis de albumina e nem de proteínas totais.

A análise dos parâmetros sanguíneos é de relevante importância para fazer uma avaliação dos riscos de determinadas substâncias quando administrada em seres humanos, pois, o sistema hematológico tem maior valor para prever os primeiros sinais de toxicidade, dessa forma ele se torna um alvo bastante susceptível ao ataque de substâncias tóxicas, sendo um importante sistema para poder analisar o estado de saúde de humanos e animais (LI *et al.*, 2010).

O sistema hematopoiético exige atenção, uma vez que, a distribuição de oxigênio, nutrientes e os próprios medicamentos para os tecidos dependem da integridade vascular o que também garante “em parte” o funcionamento adequado do sistema imune. As consequências de danos diretos ou indiretos às células sanguíneas e aos seus precursores são potencialmente uma ameaça à vida (LIMA, F., *et al.*, 2018).

Hemácias são unidades morfológicas da série vermelha do sangue cuja função é transportar o oxigênio (principalmente) e o gás carbônico (em menor quantidade) aos tecidos (LORENZI, 2006). O hematócrito corresponde ao volume ocupado pelas

hemácias contidos numa certa quantidade de sangue total. Assim como os eritrócitos, o sexo masculino tem maior valor em percentagem do que o sexo feminino (LORENZI, 2006).

Para auxiliar no diagnóstico de patologias hematológicas, no que se refere a série vermelha, existem os índices eritrocitários, tais como: Hemoglobina corpuscular média (HCM), Volume Corpuscular Médio (VCM) e Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) (LIMA *et al.*, 2018).

Para fins práticos, a concentração da hemoglobina (ou o hematócrito) é o parâmetro laboratorial mais utilizado para definir o quadro de anemia. Idade, sexo, altitude, índice de massa corporal são fatores que podem influenciar os níveis de Hb (LIMA *et al.*, 2018).

A anemia pode ser classificada de diversas formas, como: aguda e crônica, quanto ao tempo de instalação; decorrente da diminuição da produção (hipoproliferativa) ou do aumento da destruição dos eritrócitos (perda ou hemólise), quanto à causa e em normocítica/normocrômica, macrocítica e microcítica/hipocrômica, quanto ao Volume Corpuscular Médio (VCM) (LIMA *et al.*, 2018).

Como visto neste estudo, houve uma alteração estatisticamente significativa na série vermelha das fêmeas que receberam o suco do *P. gounellei* nas três doses, em relação ao grupo controle, porém estes níveis ainda permaneceram bem próximo aos parâmetros da normalidade, conforme os valores encontrados por Castello Branco *et al.* (2011) (VN Hb: 15+-0,2/ VN Ht: 34+-0,8/ VN hemácias: 7,3+-0,1). Também seria possível tentar justificar este achado, devido ao gênero, já que nos machos não houve nenhuma alteração hematológica, porém, um fato contra este argumento seria a observação que o grupo controle das fêmeas não apresentou nenhuma alteração, sugerindo fortemente alguma reação de toxicidade do suco induzida nas fêmeas.

Também foi observado um aumento dos valores de plaquetas (trombocitose) nos grupos das fêmeas que receberam 5 mL/kg e 7,5mL/kg. Essas alterações podem ser indicativas de dano hematológico e necessitam ser melhor investigadas.

As plaquetas são fragmentos de megacariócitos. Têm origem na medula óssea e estão envolvidas no processo de coagulação. A trombocitose pode ocorrer devido a um processo primário, que é a chamada trombocitemia essencial e pode ser um processo reativo a outras patologias. O número de plaquetas não é um marcador fidedigno para diferenciar processos primários e secundários (LIMA *et al.*, 2018).

A trombocitose secundária é muito mais frequente que a trombocitemia essencial, ela ocorre principalmente devido ao aumento de trombopoetina, IL-6 e catecolaminas em doenças inflamatórias, neoplásicas e infecciosas (OLIVEIRA, L.J., 2011).

Reações medicamentosas também podem cursar com trombocitose, entre as medicações que cursam com trombocitose incluem vincristina, ácido retinoico, citocinas, como a epinefrina e fatores de crescimento. O uso de álcool também pode ser associado com supressão medular ocorrendo principalmente plaquetopenia (OLIVEIRA, L.J., 2011; DIAS, G.E., 2015).

O leucograma avalia os tipos celulares nucleados que comumente circulam na corrente sanguínea, como: linfócitos, monócitos e os granulócitos (principalmente neutrófilos, basófilos e eosinófilos) (OLIVEIRA, L.J., 2011; DIAS, G.E., 2015). Neste estudo houve um aumento significativo nos valores de neutrófilos das fêmeas tratadas com o suco do *P. gounellei*, nas doses de 7,5mL/kg e 10mL/kg, o que pode ser sugestivo de resposta inflamatória contribuindo para injúria do tecido afetado. A elevação acima dos valores fisiológicos no leucograma, pode envolver qualquer grupo de células brancas, e dependendo do tipo celular mais significativamente elevado pode-se especificá-la, sendo assim, no nosso estudo foi observada uma neutrofilia. Ainda no mesmo grupo de fêmeas que recebeu a dose de 7,5mL/kg houve uma diminuição de linfócitos (linfopenia). É sabido que as alterações dos níveis das células sanguíneas podem muitas vezes ser causado pela substância em questão, mas cabe analisar até que ponto realmente tais reações podem gerar uma resposta de agressão tóxica ao organismo, e se essas alterações são ou não momentâneas, podendo voltar à normalidade espontaneamente.

Não foi observada nenhuma alteração hematológica nos animais machos, e nem nos grupos controle.

Foi realizada a eutanásia e retirada dos órgãos para análise e processamento histológico, porém ainda não temos os resultados finais em virtude das dificuldades impostas pela pandemia e outros problemas técnicos com o laboratório de Morfologia.

## 10 CONCLUSÃO

Conclui-se, assim, com relação ao estudo de toxicidade aguda, que o suco e o iogurte da geleia do *Pilosocereus gounellei* possuem baixa toxicidade. Em relação à geleia do *P. gounellei*, pode-se inferir que mais estudos são necessários para descartar hepatotoxicidade, já que a mesma ocasionou elevação discreta de ALT e AST, sem alterar demais parâmetros relacionados ao estudo do fígado, o que pode ter sido relacionada à alta dose administrada. Sendo assim, sugere-se prosseguir com os estudos de toxicidade crônica para avaliar os possíveis efeitos com o uso continuado da mesma.

Com relação ao estudo de toxicidade subcrônica pode-se inferir que o consumo pelas fêmeas do suco do *P. gounellei* nas três diferentes doses, causou alterações significativas do ponto de vista hematológico. Apesar de ter sido evidenciado uma diminuição estatisticamente significativa das hemácias, hemoglobina e hematócrito, estes ainda se encontram dentro dos padrões de normalidade esperados para o gênero e a espécie em questão, não podendo portanto, afirmar com toda certeza que a mesma tenha sido resultado de toxicidade hematológica.

Tanto nos machos como nas fêmeas ocorreu diminuição no consumo de água e ração que resultou em uma perda de peso mais expressiva ou ganho de peso menor que nos grupos controles, o que justificaria a realização de estudos mais detalhados sobre o poder do suco no controle de peso e níveis de triglicerídeos.

Para melhor avaliar os efeitos finais do suco é imprescindível o resultado do estudo anatomopatológico realizado com os órgãos destes animais, que ainda se encontra em processamento e análise.

## REFERÊNCIAS

AALIZADEH, A.; ASHTIYANI, S.C.; HAMIDIZADE, S., RAMEZANI, M., ZAREI, A. The study of the effects hydro-alcoholic extract of *Eryngium billardieri* on lipid profiles levels and liver and renal functions tests in hypercholesterolemic rats. **Global Journal of Pharmacology**. v. 9, n.1, p. 21-27, 2015.

ADEBAL, A. F; DÉLIO, C.; DIAS, M.B. **Toxicologia na prática clínica**. Belo Horizonte: Folium, 2001.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Guia para a condução de Estudos não clínicos de Toxicologia e segurança Farmacológica Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos**. Diário oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de janeiro de 2013, versão 2.

AGRA, M.F.; SILVA, K.N.; BASÍLIO, I.J.L.D.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, pp. 472-508, 2008.

ALMEIDA, R.N.; OLIVEIRA, T.M.L. Triagem Farmacológica Comportamental. In: ALMEIDA, R.N. **Psicofarmacologia: fundamentos práticos**, 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, cap.11, p. 131-137.

ANDRADE, C.T.S. **Cactos úteis na Bahia: ênfase do semiárido**. Rio Grande do Sul: Editora USEB, 2008, 125p. ISBN: 9788589985192.

ASSIS, P.O.A.; GUERRA, G.C.B.; ARAÚJO, D.F.S.; ANDRADE, L.F.L.I.; ARAÚJO, A. A.; ARAÚJO, R.F.; JR., & QUEIROGA, R.C.R.E. Intestinal anti-inflammatory activity of xique-xique (*Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) juice on acetic acid-induced colitis in rats. **Food & Function**, n.10, p. 7275–7290, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1039/c9fo00920e>.

BADKE, M.; SOMAVILLA, C.; HEISLER, E.; ANDRADE, A.; BUDÓ, M., & GARLET, T. Saber popular: uso de plantas medicinais como forma terapêutica no cuidado à saúde. **Revista de Enfermagem da UFSM**. [Online] 6:2, 2016.

BAJPAI, P.K; WARGHT, A.R.; SHARMA R.K., YADAV A, THAKUR A.K., SRIVASTAVA R.B., STOB DAN T. Structure and genetic diversity of natural populations of *Morus Alba* in the Trans-Himalaina Ladock Regio. **Biochemical Genetic**, v. 52 s/n., p. 137-152, 2014.

BARROS, S.B.M.; DAVINO, S.C. Avaliação da Toxicidade. In: OGA, S. **Fundamentos de Toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003, pp.57-67.

BEH, B.K.; MOHAMAD, N.E.; SIM, S.K., YEAP, S.K., HO, W.Y., YUSOF, H.M., SHARIFUDDIN, S.A., JAMALUDDIN S.A., LONG K., ALITHEEN N.B. Polyphenolic profiles and the in vivo antioxidant effect of nipa vinegar on paracetamol induced liver damage. **RSC Advances**. v. 6, p. 63304-63313, 2016.

BERKOWITZ, B.A. Avaliação básica e clínica. In: KATZUNG, B.G. **Farmacologia: básica e clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

BEZZERIL, F.F.; MAGNANI, M.; BERTOLDO PACHECO, M.T., SOUZA, M.F.V.; FIGUEIREDO, R.M.F.; LIMA, M.S.; BORGES, G.S.C.; OLIVEIRA, M.E.G.; PIMENTEL, T.C.; QUEIROGA, R.C.R.E. *Pilosocereus gounellei* (xique-xique) jam is source of fibers and mineral and improves the nutritional value and the technological properties of goat milk yogurt. **LWT - Food Science and Technology**, 139, 2021.

BEZERRIL, F.F. **Caracterização nutricional e de compostos bioativos do Xique-Xique** (*Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex. K. Schum.) Bly. ex Rowl.). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimento). Departamento de Nutrição. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017; 77 p.

BHATT, L.D.; RAWAT, S. **Nutraceutical potential of selected with edible fruits of the Indian Himalian regio**. **Food Chemistry**, v.215, s/n., p. 84, 2017.

BRASIL, M. S. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS**: PNPIC. Atitude de Ampliação de Acesso. 1. ed. Série B, texto básico de saúde, Brasília, DF, 2008.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Departamento de Assistência Farmacêutica**. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRAVO FILHO, E.S. **Diversidade, Etnobotânica e Propagação de cabeça-de-frade (*Melocactus* Link & Otto – CACTACEAE) no Estado de Sergipe**. 161f. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente] Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, 2014.

CARVALHO, P.O.A.A.; GUERRA, G.C.B.; SOUZA, D.F.A., BORGES, G.S.C.; BEZERRIL, F.F.; SAMPAIO, K.B.; RIBEIRO, T.S.; PACHECO, M.T.B.; MILANI, R.F.; GOLDBECK R.; AVILA, P.F.; LIMA, M.S.; SOUZA, M.F.V.; QUEIROGA, R.C.R.E. Nutritional potential and bioactive compounds of xique-xique juice: An unconventional food plant from Semiarid Brazilian. **J Food Process Preserv.**, 45: e15265, 2021.

CASTELLO BRANCO, A.C.S.; DINIZ, M. F.F.M.; ALMEIDA, R.N.; SANTOS, H.B., OLIVEIRA, K.M.; RAMALHO, J.A.; DANTAS, J.G. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos Wistar e camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas

George. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v. 15, n. 2, p. 209-14, 2011.

COSTA, M. P. C.; MONTEIRO, M. L. G.; FRASAO, B. S., SILVA, V. L. M., RODRIGUES, B. L., CHIAPPINI, C. C. J. Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. **Journal of Dairy Science**, n.100, p. 157–168, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11315>.

CUŞMENCO, T.; BULGARU, V. Quality characteristics and antioxidant activity of goat milk yogurt with fruits. **Ukrainian Food Journal**, n.9, p. 86–98, 2020.

DIAS, G.E.N.; GORGONIO, I. F.; RAMALHO, J. A., OLIVEIRA K.M.; GUEDES E.J.R.C.E.; LEITE F.C.; ALVES M.F.; MACIEL J.K.S.; SOUZA M.F.V.; LIMA C.M.B.L.; DINIZ M.F.F.M. Acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of ethanolic extract from *Pilosocereus gounellei* (Fac Weber) in rats. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**, n.7, p.1–6, 2015.

EATON, D.L.; GILBERT, S.G. Principles of toxicology. In: KLAASSEN, C. D. **Casarett & Doull's Toxicology: The basic science of poisons**. 7. ed. New York: MacGraw-Hill, cap. 2, p. 11-43, 2008.

ESQUINAS-ALCAZAR, J. Science and Societ. Protecting crop genetic diversity for food security; political, ethical, and technical challenges. **Nature review Genetics**, v. 6, n. 12, p. 946-953, 2005.

FENG, C.; WANG, B.; ZHAO, A., WEI, L.; SHAO, Y.; WANG, Y.; CAO, B.; ZHANG, F. et al. Quality characteristics and antioxidant activities of goat milk yogurt with added jujube pulp. **Food Chemistry**, n. 277, p. 238–245, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.104>

FERNANDES, C.F. **Potencial de Cactaceae do Brasil como PANC (Plantas Alimentícias Não Convencionais)**: Revisão bibliográfica. [Trabalho de Conclusão de Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas]. Instituto Federal de São Paulo. São Roque, 2019.

FURTADO, R.N.; MOREIRA FILHO, E.C.; SOUZA CARNEIRO, M.S., PEREIRA, E.S.; ROGERIO, M.C.P.; PINTO, A.P. *Pilosocereus gounellei* in the water supply for finishing sheep in regions of climatic vulnerability. **Small Ruminant Research**, n.173, p. 88-93, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.02.012>.

GÁRCIA, V.; ROVIRA, S.; BOUTOIAL, K. Improvements in goat milk quality: A review. **Small Ruminant Research**, v. 121, n.1, p. 51-57, 2014.

GOLDIM, J.R. A Avaliação Ética da Investigação Científica de Novas Drogas: A Importância da Caracterização Adequada das Fases de Pesquisa. **Rev HCPA**, v.27, n.1, 2007.



GOMES, B.T.L.; SOUZA, F.A.P.; PEREIRA, I.S.; PORTELA, B.Y.M.; SANTOS, C.R.B. **Avaliação da função hepática: uma revisão bibliográfica.** Bio Medicina, v. 4, n. 1, 2019.

GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à Bioquímica Clínica Animal.** Porto Alegre: Gráfica de Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003, p. 198.

GONZALEZ, N.J.; ADHIKARI, K.; SANCHE-MADRIZ, M. F. Sensory characteristics of peach-flavored yogurt drinks containing prebiotics and synbiotics. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 158-163, 2011.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica.** 12. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

KATO, H.; TSUJI, M.; MIYAGAWA, K.; TAKEDA, K.; TAKEDA H. Repeated exposure to stress stimuli during ethanol consumption prolongs withdrawal-induced emotional abnormality in mice. **European Journal of Pharmacology**, v. 721, n. 1–3, p. 29–34, 2013.

KHALATBARY, A.R.; KHADEMI, E. The green tea polyphenolic catechin pigallocatechin gallate and neuroprotection. **Nutritional Neuroscience**, n. 23, p. 281-294, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1500124>.

KOEPPEN, B.M.; STANTON, B.A. **Berne & Levy: Fisiologia.** 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

LEBLANC, A.M.; PERDIGÓN, G. The application of probiotic fermented milks in cancer and intestinal inflammation. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 69, p. 421-428, 2010.

LEBLANC, A.M.; CHAVES, S.A.; PERDIGÓN G. Effect of yoghurt on the cytokine profile using a murine model of intestinal inflammation. **European Journal of Inflammation**, v.7, p. 97-109, 2009.

LEWIS, R.W.; BILLINGTON, R.; DEBRYUNE, E., GAMER, A.; LANG.; CARPANINI, F. Recognition of adverse and non adverse effects in toxicity studies. **Toxicol Pathol.** v.30, n. 1, p. 66-74, 2002. DOI: 10.1080/01926230252824725. PMID: 11890477.

LI, X.; LUO, Y.; WANG, L.; LI, Y.; SHI, Y.; CUI, Y.; XUE, M. Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 131, p. 110-115, 2010.

LORENZI, T. F. **Manual of hematology: propaedeutic and clinical.** Guanabara Koogan, 2006, 711p.

LIMA, F.E.G. **Perfil bioquímico e hematológico de ratos e camundongos do biotério central da Universidade Federal do Ceará.** Dissertação (Mestrado Profissional em Farmacologia Clínica) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018, 75p.

LUCENA, C. M.; COSTA, G. M.; SOUSA, R. F.; CARVALHO, T.K.N.; MARREIROS, N.A.; ALVES, C.A.B.; PEREIRA, D.D.; LUCENA, R.F.P. **Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil)**. Universidade Federal da Paraíba. v.25, n.3, p. 282-288, 2012. ISSN: 1678-2593.

MACIEL, K.S.; CHAVES, O.S.; FILHO, S.G.B., TELES, Y.C.; FERNANDES, M.G.; ASSIS, T.S.; FERNANDES, P.D.; ANDRADE, A.P.; FELIX, L.P.; SILVA, T.M.; RAMOS, N.S.; SILVA, G.R.; SOUZA, M.D.E. F. New Alcamide and anti-oxidant activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. **Bly. Ex Rowl. (Cactaceae). Molecules**, n. 21, 1-13, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21010011>.

MACK, I.C. **Pancreatite em Clínica Médica de Pequenos Animais: uma Revisão de Literatura / Pancreatitis in Small Animal Medical Clinic: a Literature Review**. v. 14, n. 50, 2020.

MARIZ, S.R. **Estudo toxicológico pré-clínico de *Jatropha gossypifolia* L.** [Ph.D. thesis], Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, 2007.

MARIZ, S.R.; CERQUEIRA, G.S.; ARAÚJO, W.C.; DUARTE, J.C.; MELO, A.F.M.; SANTOS, H.B.; OLIVEIRA, K.; DINIZ, M.F.F.M.; MEDEIROS, I.S. Estudo toxicológico agudo do extrato etanólico de partes aéreas de *Jatropha gossypifolia* L. em ratos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n.3, p. 372-378, 2006.

MENEZES, M.O.T.; RIBEIRO-SILVA, S. Cactáceas do Ceará, Brasil: prioridades para a conservação. **Rev. Gaia Scie**, v.9, n.2, p. 67-76, 2015. ISSN: 1981-1268.

MOREIRA, T.A.; GUNDIM, L.F.; RONCHI, A.M. Patologias pancreáticas em cães: revisão de literatura. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 20, n. 2, p. 109-115, abr./jun. 2017.

MORELLI, L. Yogurt, living cultures, and gut health. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 99, p. 1248S-1450S, 2014.

OECD, Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (Organization for Economic Cooperation and Development). Guideline 423: acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method 2001. **Guideline for testing of Chemicals**. 2001a.

OECD, Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (Organization for Economic Cooperation and Development). Guideline 420: acute Oral Toxicity – Fixed Dose Procedure Method 2001. **Guideline for testing of Chemicals**. 2001b.

OECD. 2, Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, **OECD Publishing**, Paris, 2018.

OLIVEIRA, L.J. **Bioensaios de *Pilosocereus gounellei* (Weber) Byles e Rowley (Parâmetros fitoquímicos, toxicológicos, microbiológicos, hematológicos e bioquímicos)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011, 88p.

OLIVEIRA, A.M. **Avaliação da toxicidade aguda e subaguda e efeitos nociceptivos, anti pirético e anti obesidade de extrato de caule de *P. gounellei***. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

OLSON, H.; BETTON, G.; ROBINSON, D.; THOMAS, K.; MONRO, A.; KOLAJA, G.; LILLY, P.; SANDERS, J.; SIPES, G.; BRACKEN, W.; DORATO, M.; VAN, D. K.; SMITH, P.; BERGER, B.; HELLER, A. Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, n.32, p. 56-67, 2000.

PARK, Y. W.; OGLESBY, J.; HAYEK, S. A., ALJALOU, S. O.; GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Impact of different gums on textural and microbial properties of goat milk yogurts during refrigerated storage. **Foods**, n.8, p. 169, 2019.

PEREIRA, M.C.; STEFFENS, R.S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P.F.; RIOS, A.O.; VIZZOTTO, M.; FLORES, S.H. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.29, s/n., p.19-24, 2013.

PINTO, V.M.; MELO, F.B.; MELO, J.R.B. Avaliação toxicológica de preparação fitoterápica contendo *Piper methysticum* Forst Piperaceae (Kava Kava®) sobre o desenvolvimento pré-natal em ratos Wistar. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 6, p. 818–824, 2007.

POSECION, N. C.;<sup>†</sup> NANCY, L.C. \*A Robin Robinson and Samuel K Asiedu. The development of a goat's milky yogurt. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p.1909-1913, 2005.

PUPO, M. T.; GALLO, M. B. C. Biologia química: uma estratégia moderna para a pesquisa em produtos naturais. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1446-1455, 2007.

PUNITHAVATHI, V. R.; PRINCE, P.S.M.; KUMAR, R.; SELVAKUMARI, I. Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. **European Journal of Pharmacology**, 650, 465–471, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.08.059>.

QUEIROZ, R.T. **Diversidade florística do componente herbáceo na Estação Ecológica do Seridó, Serra Negra do Norte RN**, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2006.

RIBEIRO, T.S.; SAMPAIO, K.B.; MENEZES, F.N.D.D.; ASSIS, P.O.A.; SANTOS, L.M.; OLIVEIRA, M.E.G.; SOUZA, E.L.; QUEIROGA, R.C.R.E. In vitro evaluation of potential prebiotic effects of a freeze-dried juice from *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) cladodes, an unconventional edible plant from Caatinga biome. **3 Biotech**, n. 10, p. 1–9, 2000.

ROY, S.; MAJUMDAR, S.; SINGH, A.K.; GHOSH, N.; MANNA, S.; CHAKRABORTY, T.; VMALLICK, T.S Synthesis, Characterization, Antioxidant Status, and Toxicity Study of Vanadium-Rutin Complex in Balb/c Mice. **Biological Trace Element Research**, n.166, p. 183-200, 2015. DOI: 10.1007/s12011-015-0270-2. Epub 2015 Feb 21. PMID: 25697629.

SANTANA, L.R.; BRITO, M.M.; SOUSA, G.F.; FREITAS, R.M. Estudo das propriedades físico-químicas e avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico das folhas de Mikania glomerata Sprengel. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.16, n.3, p. 670-678, 2014.

SANTIS, D.; GIACINTI, G.; CHEMELLO, G.; FRANGIPANE, M.T. Improvement of the sensory characteristics of goat milk yogurt. **Journal of Food Science**, n. 84, p. 2289–2296, 2019.

SANTOS, A.G.; PEREIRA, L.C. Utilização de Métodos Alternativos à experimentação animal em pesquisa. **Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório**, v.4, n.1, p. 22-31. 2016.

SILVA ICG, DUARTE, M. T. R.; LANDIM, L. A. DOS S. R. .; DUARTE, C. T. T. Deficiency of vitamins and minerals: the role of technology in health prevention: an integrative review. **Research, Society and Development**, v.9, n.10, 2021, e4129108700.

SILVA, V.A. Diversidade de uso das cactáceas no nordeste do Brasil: uma revisão. **Rev Gaia Scie**. v.9, n.2, p. 137-154. 2015. ISSN: 1981-1268.

SIMÕES, C.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G., MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da Planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universiade/UFRGS/Ed. UFSC, 2003.

SOARES, A.C. Plantas medicinais: Se bem não fizer, mal também não fará. **IQSC-USP**, n. 12, 2003.

SOUSA, G.A.; OLIVEIRA, I.S.; SILVA-FREITAS, F.V.; VIANA, A.F.S.C.; NETO, B.P.S.; CUNHA, F.V.M.; GONÇALVES R.L.G.; LIMA FILHO, ACM, AMARAL MPM, OLIVEIRA RCM, FERNANDES PD, MACIEL JKS, DA SILVA TMS, SOUZA, M.F.V.; OLIVEIRA, F.A. Gastroprotective effect of ethanol extracts of cladodes and roots of *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl (Cactaceae) on experimental ulcer models. **J Ethnopharmacol**, n.218, p.100-108, 2018. DOI: 10.1016/j.jep.2018.02.009.

SPERANDIO, N.; SANT'ANA, L.R.; FRANCESCHINI, S.C. Diferenças no ponto de corte de hemoglobina para diagnóstico de anemia em função da raça/cor. **Revista Médica de Minas Gerais**, Minas Gerais, v. 25, n. 1, p. 100-107, 2015.

TAYLOR, N.; SANTOS, M. R.; LAROCCA, J.; ZAPPI, D.; CACTACEAE. 2015. In: Forzaa, R. C. (Org.). **Lista de Espécimes da Flora do Brasil**. Acesso em:

<<http://www.floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/listaBrasil/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUCdo?id=FB70>>. Acesso em: 13 dez. 2015.

TSUANG, Y.H.; SUN, J.S.; CHEN, L.T.; Sun, S.C.; Chen, S.C. Direct effects of caffeine on osteoblastic cells metabolism: the possible causal effect of caffeine on the formation of osteoporosis. **J Orthop Surg Res.** n.1, p. 7, 2006. DOI: 10.1186/1749-799X-1-7. PMID: 17150127; PMCID: PMC1636032.

VEIGA, J.R.; V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas Medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 519-528, 2005.

WANG, Z.J.; XIE, J.H.; NIE, S.P.; XIE, M.Y. Review on cell models to evaluate the potential antioxidant activity of polysaccharides. **Food & Function**.2017.

WANG, X.; KRISTO, E.; LAPOITE, G. Adding apple pomace as a functional ingredient in stirred-type yogurt and yogurt drinks. **Food Hydrocolloids**, n.100, 105453, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105453>.

# ANEXOS

## Avaliação da toxicidade não-clínica do suco, da geleia e do iogurte da polpa de *Pilosocereus gounellei*

Evaluation of non-clinical toxicity of juice, jelly and yoghurt of *Pilosocereus gounellei*

Evaluación de la toxicidad no clínica del jugo, mermelada y yogur de pulpa *Pilosocereus gounellei*

Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida Guedes Pires<sup>1\*</sup>, Josué do Amaral Ramalho<sup>1</sup>, Igor Gabriel da Silva Ramalho<sup>1</sup>, Thyffanne Suellen Tavares Linhares<sup>1</sup>, Maria de Fátima Vanderlei de Souza<sup>1</sup>, Rita de Cássia Ramos do Egypto Queiroga<sup>1\*\*</sup>, Caliandra Maria Bezerra Luna Lima<sup>1</sup>, Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz<sup>1</sup>

### RESUMO

**Objetivo:** Realizar ensaios toxicológicos não-clínico agudo do suco, da geleia e do iogurte da polpa do *Pilosocereus gounellei*. **Métodos:** O estudo foi realizado com 36 ratas Wistar, divididos em 3 grupos tratados e 3 controles, que receberam 2000mg/kg, via oral, dose única de cada substância. Foram observados por 14 dias, com relação ao consumo de água, ração e evolução ponderal. Ao fim do estudo, os animais foram eutanasiados e autopsiados. Foram avaliados parâmetros hematológicos, bioquímicos e realizado exames histopatológicos. **Resultados:** Não houve alteração no consumo de ração, porém os animais apresentaram diminuição de peso. Nos grupos do suco e geleia houve diminuição no consumo de água. No grupo do suco houve diminuição de ureia, aumento de cloro e magnésio. No grupo da geleia se evidenciou aumento de alanina aminotransferase (ALT) e volume corpuscular médio. Naqueles que receberam o iogurte ocorreu diminuição de fósforo, magnésio, hematócrito e linfócitos. Todas estas alterações foram estatisticamente significativas, apesar de se encontrarem dentro dos padrões de normalidade para esta espécie, exceto com relação aos valores de ALT. **Conclusão:** Conclui-se que o suco e iogurte da geleia *P. gounellei* possuem baixa toxicidade. Em relação à geleia *P. gounellei*, mais estudos são necessários para descartar hepatotoxicidade. **Palavras-chave:** Testes de Toxicidade Aguda, Cactaceae, iogurte, sucos.

### ABSTRACT

**Objective:** Perform acute non-clinical toxicological tests of the juice, jelly and yogurt of the *Pilosocereus gounellei*. **Methods:** The study was carried out with 36 female Wistar rats, divided into 3 treated groups and 3 controls, who received 2000mg / kg, orally, of each substance. They were observed for 14 days, with respect to water consumption, food and weight evolution. Subsequently, the animals were euthanized and autopsied. Hematological and biochemical parameters were evaluated, anatomopathological examination was performed. **Results:** All animals showed weight loss, but there was no change in feed intake. In juice and jelly's groups, there was a decrease in water consumption. In the juice group there was a decrease in urea, lipase and an increase in chlorine and magnesium. In the jelly group, there was an increase in alanine aminotransferase and mean corpuscular volume. In

<sup>1</sup> Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa-Paraíba. \*E-mail: [wilminhaguedes@hotmail.com](mailto:wilminhaguedes@hotmail.com)

\*\* "In memoriam"

those who received the yogurt there was a decrease in phosphorus and magnesium, hematocrit and lymphocytes. All of these changes were statistically significant, despite the values being within the normal range, except for ALT. **Conclusion:** It is concluded that the juice and yogurt of *P. gounellei* jelly are of low toxicity. Regarding *P. gounellei* jelly, further studies are needed to rule out hepatotoxicity.

**Key words:** Toxicity Tests Acute, Cactaceae, yogurt, juices.

---

## RESUMEN

**Objetivo:** Realizar pruebas toxicológicas agudas no clínicas del zumo, mermelada y yogur de *Pilosocereus gounellei*. **Métodos:** El estudio se realizó con 36 ratas Wistar, divididas en 6 grupos (tratados y controles), que recibieron 2000 mg/kg, vía oral, de cada sustancia. Se observó consumo de agua, alimentación y evolución del peso durante 14 días. Posteriormente, los animales fueron sacrificados y sometidos a autopsia. Se evaluaron parámetros hematológicos, bioquímicos y se realizó examen anatomopatológico. **Resultados:** Todos los animales mostraron pérdida de peso, pero sin cambios en la ingesta de alimento. En los grupos de zumo y mermelada, hubo una disminución en el consumo de agua. En el grupo de zumo hubo una disminución de urea, lipasa, aumento de cloro y magnesio. En el grupo de mermelada, hubo aumento en la alanina aminotransferasa y volumen corpuscular medio. En los que recibieron el yogur hubo una disminución de fósforo, magnesio, hematocrito y linfocitos. Todos estos cambios fueron estadísticamente significativos, pero los valores se encuentran dentro del rango normal, a excepción de ALT. **Conclusión:** Se concluye que el zumo y yogur de *P. gounellei* son de baja toxicidad. Con respecto a la mermelada de *P. gounellei*, se necesitan más estudios para descartar la hepatotoxicidad.

**Palabras clave:** Pruebas de Toxicidad Aguda, Cactaceae, yogur, zumos.

---

## INTRODUÇÃO

A espécie *Pilosocereus gounellei*, pertencente à família *Cactaceae*, também conhecida como xique-xique, encontra-se dispersa pelo território brasileiro. Tem característica de forte adaptação às condições extremas de temperatura e umidade, multiplicando-se regularmente e cobrindo áreas extensas da caatinga (CARVALHO POAA, et al., 2021).

Estudos têm mostrado o potencial desta espécie, como fonte alimentar para comunidades do nordeste brasileiro (LUCENA CM, et al., 2012; SILVA VA, 2015). Na alimentação humana, o miolo dos cladódios é consumido cozido ou assado, sendo empregado também na produção de farinhas, biscoitos, bolos e doces. Na medicina popular, ele é consumido como suco, para tratamento de gastrite, colite e icterícia (LUCENA CM, et al., 2012).

Chaves EMF e Barros RFM (2015) citam que a utilização das cactáceas, na alimentação humana, restringe-se aos períodos de fome e seca, gerando efeitos negativos sobre sua utilização. Pesquisadores vêm estudando aspectos nutricionais do *P. gounellei*, sugerindo sua utilização, como fonte alimentar e de renda, orientando sua produção e aproveitamento em escala e estimulando o desenvolvimento de uma das regiões mais carentes do Brasil (PINTO NCC e SCIO E, 2014).

Estudos prévios com o suco do *P. gounellei* identificaram nutrientes importantes, como: fibras solúveis e insolúveis, e minerais (magnésio, cálcio, zinco, selênio e manganês), constituindo-o, uma alternativa alimentar de importante valor nutricional (BEZERRIL FF, et al., 2017). As fibras solúveis foram consideradas prebióticas (componentes alimentares não digeríveis que estimulam a proliferação e manutenção da microbiota intestinal) como mostrou um estudo que evidenciou efeito no crescimento de cepas do *Lactobacillus* (RIBEIRO TS, et al., 2020).

Dezenove compostos fenólicos foram identificados no suco do *P. gounellei*, com destaque para os flavonoides e ácidos fenólicos (CARVALHO POAA, et al., 2021).



Resultados obtidos por Sousa GA, et al. (2018) mostraram, que o extrato etanólico do caule e da raiz do *P. gounellei* apresentaram atividade gastroprotetora em modelos de úlcera gástrica, induzidas por etanol em camundongos.

Outro estudo com o suco do *P. gounellei* evidenciou efeito anti-inflamatório na mucosa intestinal de animais que foram submetidos à colite por ácido acético, com melhora do dano tecidual e diminuição de marcadores inflamatórios. Esses efeitos protetivos podem ser atribuídos aos compostos fenólicos e as fibras presentes no suco do xique-xique (CARVALHO POAA, et al., 2021).

No entanto, tem-se observado há alguns anos, que as plantas medicinais são consumidas com quase nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas e tóxicas. Sendo importante ressaltar que estes produtos também são passíveis de possuir efeitos adversos e toxicidade. Pesquisas mostraram que muitas plantas possuem substâncias potencialmente agressivas, devendo ser utilizadas com cuidado e respeitando seus riscos toxicológicos (MACIEL KS, et al., 2016; VERRI AM, et al., 2017).

A Toxicologia é uma ciência que estuda as propriedades físico-químicas das substâncias orientando a segurança de seu uso. Os estudos de avaliação toxicológica se concentram em duas grandes fases: não clínica, realizada em espécies de experimentação e a clínica, onde os produtos que não demonstraram toxicidade significativa nos estudos não clínicos, são testados em humanos voluntários, sob rigorosos preceitos técnicos e éticos (DIAS GEN, 2015).

No Brasil, a toxicologia não clínica é orientada pelo Guia para a condução de estudos não clínicos de toxicologia e segurança farmacológica, necessários ao desenvolvimento de medicamentos, e pela Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (*Organization for Economic Cooperation and Development-OECD*).

Os ensaios toxicológicos não clínicos podem ser divididos em quatro fases: toxicidade aguda, de doses repetidas, subcrônica e crônica. A toxicidade aguda consiste em uma avaliação preliminar que objetiva conseguir dados acerca das características tóxicas da substância e seus efeitos adversos num organismo, permitindo inferir riscos para a saúde, resultantes de uma exposição de curta duração, sendo obrigatórios para toda substância em teste (OECD 2001).

Diante disso, o objetivo deste estudo é realizar ensaios toxicológicos não clínico agudo do suco, da geleia e do iogurte de *Pilosocereus gounellei*, com base na OECD 423. Durante a revisão da literatura, não foram encontrados estudos referentes à toxicidade destes produtos, justificando prosseguir com as análises toxicológicas não clínicas, sendo essa uma etapa fundamental para realização dos estudos clínicos.

## MÉTODOS

Os procedimentos experimentais foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), protocolo N°1275210718.

Foram utilizadas 36 ratas Wistar (*Ratus norvegicus*), albinas, adultas, nulíparas e não grávidas, pesando entre 180 e 220 gramas, fornecidas pela Unidade de Produção Animal (UPA) do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) UFPB.

Estas, foram divididas em doze gaiolas de polietileno, contendo 3 animais em cada, e foram mantidas sob condições controladas de temperatura ( $22 \pm 3^\circ\text{C}$ ), em ciclos de claro e escuro de 12 horas, com livre acesso à água e ração do tipo pellets, e sem uso de medicamentos.

Foram utilizados seis grupos (três tratados e três controles) contendo seis animais cada um. Os testes foram realizados com três substâncias diferentes: suco do *P. gounellei*, cujo controle foi água; geleia do *P. gounellei*, sendo o controle uma geleia constituída de água e açúcar e iogurte acrescido da geleia do *P. gounellei*, cujo controle foi iogurte sem geleia. Depois de prontos, estes produtos, foram gentilmente cedidos pela professora doutora Rita Queiroga do Departamento de Nutrição da UFPB. O

estudo foi desenvolvido, utilizando a dose de 2000mg/kg de cada substância. A escolha da dose foi realizada, segundo recomendação da *OECD*, seguindo os requisitos do teste limite.

O estudo de toxicidade aguda não clínica tem duração de 14 dias. No primeiro dia foi realizada a administração da substância em dose única, via oral, por gavagem, e a partir daí, observam-se os efeitos gerais apresentados pelos animais e diariamente se avalia o consumo de água e ração. Mamadeiras graduadas com água foram colocadas nas gaiolas pela manhã, sendo registrado no dia seguinte, o volume ingerido pelos animais. Quanto ao consumo de alimentos, a ração foi pesada e colocada nas gaiolas, sendo contabilizado, no dia seguinte, o peso consumido da mesma. A pesagem dos animais foi realizada no 1º, 7º e 14º dia.

Antes da eutanásia e após jejum de 12 horas, amostras de sangue foram coletadas a partir do plexo braquial para análise de parâmetros hematológicos e bioquímicos.

As análises hematológicas englobam o eritrograma: contagem de hemácias, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) e amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos (RDW), leucograma: contagem global dos leucócitos e diferenciação celular e plaquetas.

As análises bioquímicas compreendem: glicose, ureia, colesterol total, triglicerídios, ácido úrico, creatinina, aspartato amino transferase (AST), alanina amino transferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), amilase, desidrogenase láctica (DHL), proteínas totais, sódio, potássio, cálcio, magnésio, fósforo e cloreto.

A eutanásia dos animais foi realizada ao fim dos 14 dias de observação, por sobredose de solução anestésica, contendo quetamina (300mg/Kg) e xilazina (30mg/Kg), segundo recomendação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e em seguida, realizou-se a autópsia. Foi efetuada a ressecção e pesagem dos pulmões, coração, estômago, baço, fígado e rins. Os pulmões foram submetidos à perfusão, via traquéia, com solução de formol a 10%, tamponada, enquanto os demais órgãos foram fixados em formalina tamponada. Após 72 horas, os órgãos foram resseccionados para processamento histopatológico.

A Pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Ensaios Toxicológicos (LABETOX) e no biotério Professor Thomas George do IPeFarM-UFPB.

Para análise estatística dos resultados, foi utilizado o Teste “t” de Student não pareado, com o intuito de comparar as médias dos diferentes grupos em relação a cada parâmetro avaliado, utilizando o Software Graph Pad Prism 6.0, sendo os resultados considerados significativos quando apresentarem valores de  $p < 0,05$ . Ressalta-se que os resultados foram expressos em média e erro padrão da média (e.p.m.).

## RESULTADOS

Não foi observado nenhuma morte dos animais experimentais durante os 14 dias em que foi realizado o ensaio, apesar da alta dose administrada dos três diferentes produtos.

### Consumo de água e ração

O consumo de água e ração foi avaliado diariamente, pela manhã, durante os 14 dias de experimento. O grupo da geléia do P. gounellei apresentou um consumo de água significativamente menor que o grupo controle (geléia:  $193,4 \pm 6,07$  e controle:  $212,3 \pm 5,21$ ) como pode ser visto na **tabela 1**. Os animais que receberam o suco também apresentaram diminuição do consumo de água comparado ao grupo controle (suco:  $157,5 \pm 4,96$  e controle:  $175,5 \pm 6,38$ ). No grupo do iogurte não houve alteração em relação ao consumo de água e nem de ração.

Não foi encontrada diferença estatística significativa no consumo de ração entre os grupos avaliados (**Tabela 1**).

**Tabela 1:** Consumo de água e ração de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg com o suco, geleia, iogurte com geleia do *P. gounellei* durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda.

|                             | GRUPO      |            |            |             |            |             |
|-----------------------------|------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|
|                             | CT-I       | iogurte    | CT-G       | Geleia      | CT-S       | Suco        |
| <b>CONSUMO DE ÁGUA (mL)</b> | 185,9±6,11 | 196,6±5,00 | 212,3±5,21 | 193,4±6,07* | 175,5±6,38 | 157,5±4,96* |
| <b>CONSUMO DE RAÇÃO (g)</b> | 111,8±5,02 | 105,4±3,86 | 112,2±3,32 | 105,9±2,41  | 102,8±3,15 | 113,8±3,88  |

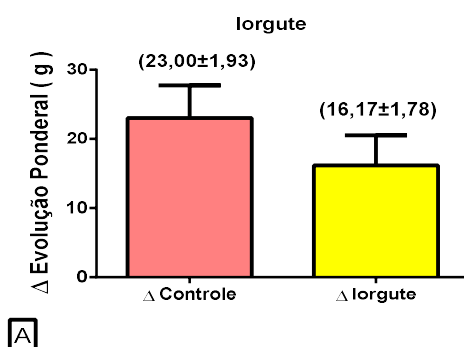
**Legenda:** Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de Student / Não-pareado. \*p<0,05. CT-I: controle do iogurte. CT-G: controle da geleia. CT-S: controle do suco.

**Fonte:** Pires WRCAG, et al., 2021.

### Evolução ponderal

Com relação a evolução ponderal pode-se observar que durante os 14 dias de avaliação, os animais que receberam o iogurte da geleia apresentaram um ganho de peso menor comparado ao grupo controle, como pode ser visto no **gráfico 1 A**. Este grupo apresentou um delta de ganho de peso de  $16,17g \pm 1,78g$ , enquanto que o seu controle teve um ganho de  $23g \pm 1,93g$ .

**Gráfico 1 A:** Delta de ganho de peso de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, de iogurte com geleia do *P. gounellei*, durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda.

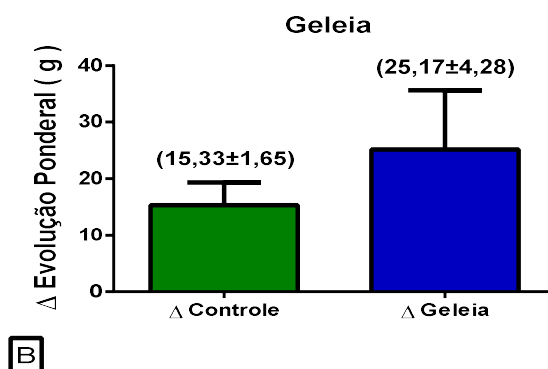


**Legenda:** Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de Student / Não-pareado. \*p<0,05.

**Fonte:** Pires WRCAG, et al., 2021.

Já o grupo da geleia apresentou uma variação de peso maior ( $25,17\text{g} \pm 4,28\text{g}$ ), durante os 14 dias de experimento, comparado ao seu controle ( $15,33\text{g} \pm 1,65\text{g}$ ), como pode ser visto no **gráfico 1 B**.

**Gráfico 1 B:** Delta de ganho de peso de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, com a geleia do *P. gounellei*, durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda.

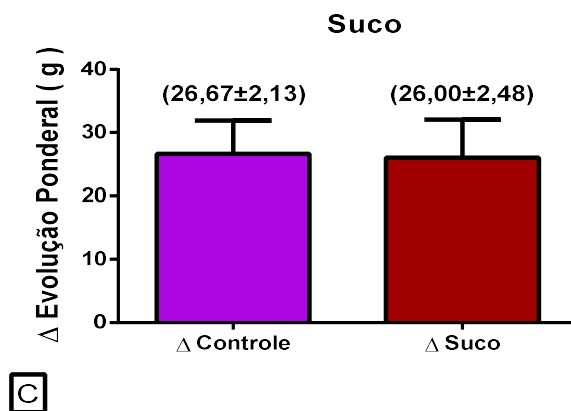


**Legenda:** Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de Student / Não-pareado. \*p<0,05.

**Fonte:** Pires WRCAG, et al., 2021.

Ao avaliar o grupo do suco e seu controle, pode-se perceber que a variação de peso entre os dois foi semelhante, como mostra o **gráfico 1 C**.

**Gráfico 1C:** Delta de ganho de peso de Ratos Wistar, fêmeas, tratadas com a dose de 2000 mg/kg, com o suco do *P. gounellei*, durante os 14 dias do ensaio de toxicidade aguda.



**Legenda:** Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de Student / Não-pareado. \*p<0,05.

**Fonte:** Pires WRCAG, et al., 2021.

### Parâmetros bioquímicos

Poucas alterações foram evidenciadas na avaliação dos parâmetros bioquímicos, porém, algumas foram estatisticamente significativas, como pode-se verificar na **Tabela 2**. Dentre elas, observa-se um aumento de ALT no grupo que recebeu a geleia do *P. gounellei*. Houve diminuição nos níveis de ureia e lipase nos animais que receberam o suco do *P. gounellei*, além de um aumento significativo do cloro e do magnésio. No grupo que recebeu o iogurte com a geleia do *P. gounellei*, foi identificada uma diminuição significativa nos níveis de magnésio, fósforo e LDH em relação ao controle.

**Tabela 2:** Parâmetros Bioquímicos de Ratos Wistar tratados com a dose de 2000 mg/kg do suco, da geleia e do iogurte com a geleia do *P. gounellei*, durante o ensaio de toxicidade aguda.

| Grupos                          | CT- I       | Iogurte     | CT-G        | Geleia      | CT-S        | Suco        |
|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>Glicose (mg/dL)</b>          | 124,7±2,2   | 128,8±7,7   | 149,3±1,1   | 154,8±11,4  | 104,0±6,7   | 129,0±6,8   |
| <b>Ureia (mg/dL)</b>            | 28,3±1,2    | 32,5±2,5    | 24,3±0,2    | 25,8±0,7    | 36,7±1,1    | 31,5±1,5*   |
| <b>Creatinina (mg/dL)</b>       | 0,44±0,03   | 0,41±0,03   | 0,38±0,01   | 0,39±0,02   | 0,37±0,02   | 0,37±0,01   |
| <b>Colesterol (mg/dL)</b>       | 58,3±3,27   | 53,7±3,69   | 54,0±0,97   | 55,8±6,18   | 64,7±4,36   | 59,8±4,06   |
| <b>Triglicerídeos (mg/dL)</b>   | 33,3±3,29   | 35,7±2,89   | 32,3±2,43   | 35,3±4,77   | 26,0±0,97   | 29,3±1,99   |
| <b>Ácido úrico (mg/dL)</b>      | 1,1±0,19    | 0,8±0,10    | 1,5±0,46    | 1,9±0,82    | 0,7±0,06    | 1,1±0,22    |
| <b>AST (U/I)</b>                | 193,3±46,0  | 129,5±19,5  | 79,33±2,6   | 31,0±1,59   | 119,3±2,1   | 207,7±67,4  |
| <b>ALT (U/I)</b>                | 37,67±2,76  | 39,2±2,90   | 239,3±101,1 | 66,0±18,22* | 47,0±4,21   | 39,5±3,93   |
| <b>Fosfatase Alcalina (U/I)</b> | 123±7,73    | 112,5±14,97 | 100,7±10,42 | 90,5±9,23   | 143±19,75   | 115,5±14,16 |
| <b>LDH (U/I)</b>                | 1656±36,27  | 1301±88,28* | 814±86,67   | 1429±373,5  | 1336±72,13  | 1153±196,1  |
| <b>Amilase (U/dL)</b>           | 330,7±17,41 | 312,8±15,57 | 361,7±3,66  | 339,3±13,56 | 263,3±15,76 | 297,0±16,66 |
| <b>Proteínas totais (g/dL)</b>  | 6,2±0,11    | 5,88±0,12   | 6,03±0,08   | 6,12±0,09   | 6,07±0,076  | 5,87±0,140  |
| <b>Albumina (g/dL)</b>          | 3,13±0,06   | 3,15±0,08   | 3,06±0,06   | 3,22±0,06   | 3,23±0,056  | 3,20±0,068  |
| <b>Globulina (g/dL)</b>         | 3,07±0,14   | 2,73±0,67   | 2,73±0,67   | 2,73±0,14   | 2,83±0,095  | 2,67±0,088  |
| <b>Bilirrubina (mg/dL)</b>      | 0,13±0,02   | 0,13±0,02   | 0,16±0,02   | 0,13±0,02   | 0,17±0,021  | 0,15±0,022  |
| <b>Cálcio (mg/dL)</b>           | 9,97±0,12   | 9,90±0,05   | 9,97±0,10   | 10,02±0,09  | 10,07±0,042 | 10,07±0,088 |
| <b>Cloro (U/I)</b>              | 101,7±0,21  | 102,3±0,56  | 101,7±0,21  | 102,3±0,80  | 100,7±0,21  | 102,7±0,67* |
| <b>CPK (U/I)</b>                | 1727±538    | 845,2±161,4 | 440±18,62   | 687,3±201,9 | 672,2±28,86 | 1001±230,8  |
| <b>Fósforo (U/dL)</b>           | 6,37±0,24   | 5,67±0,10*  | 6,23±0,27   | 6,23±0,61   | 6,53±0,055  | 6,60±0,410  |

|                        |           |            |            |            |            |            |
|------------------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Lipase (g/dL)</b>   | 5,0±0,63  | 5,5±1,36   | 5,67±1,05  | 5,60±1,08  | 6,33±0,76  | 3.83±0,69* |
| <b>Magnésio (g/dL)</b> | 2,23±0,02 | 2,03±0,07* | 2,20±0,07  | 2,25±0,18  | 1,93±0,02  | 2,12±0,05* |
| <b>Potássio (g/dL)</b> | 4,4±0,09  | 4,23±0,11  | 4,50±0,49  | 4,55±0,40  | 4,30±0,04  | 4,53±0,31  |
| <b>Sódio (g/dL)</b>    | 142±0,36  | 142,3±0,33 | 142,7±0,21 | 141,7±0,49 | 142,0±0,00 | 142,3±0,33 |

**Legenda:** Os valores estão expressos em média  $\pm$  e.p.m. (n=6). Teste “t” de Student / Não-pareado.\*p<0,05. CT-I: controle do iogurte. CT-G: controle da geleia. CT-S: controle do suco. AST: aspartato aminotransferase. ALT: alanina aminotransferase. LDH: desidrogenase láctica. CPK: creatinofosfoquinase.

**Fonte:** Pires WRCAG, et al., 2021.

### Parâmetros hematológicos

Não foi observada diferença significativa entre os parâmetros hematológicos dos animais que receberam o suco do *P. gounellei*.

No grupo tratado com a geleia do *P. gounellei* ocorreu um aumento estatisticamente significativo no VCM e no RDW em relação ao controle.

Nas fêmeas que receberam o iogurte acrescido da geleia do *P. gounellei* houve uma diminuição do hematócrito, dos linfócitos e um aumento no RDW estatisticamente significativo em relação ao grupo controle (**Tabela 3**).

**Tabela 3:** Parâmetros hematológicos de Ratos Wistar tratados com suco, geleia e iogurte com a geleia do *P. gounellei* na dose de 2000 mg/kg durante o ensaio de toxicidade aguda.

| Grupos                                          | CT- I       | logurte    | CT- G      | Geleia      | CT-S       | Suco       |
|-------------------------------------------------|-------------|------------|------------|-------------|------------|------------|
| <b>Hemácias (10<sup>6</sup> mm<sup>3</sup>)</b> | 8,13±0,044  | 8,05±0,180 | 8,01±0,20  | 8,05±0,23   | 7,96±0,07  | 7,64±0,12  |
| <b>Hemoglobina (g/dl)</b>                       | 14,2±0,15   | 13,42±0,26 | 13,9±0,16  | 13,62±0,39  | 13,90±0,12 | 13,40±0,20 |
| <b>Hematócrito (%)</b>                          | 41,1±0,35   | 38,6±0,80* | 40,44±0,50 | 39,90±0,87  | 39,76±0,36 | 13,40±0,20 |
| <b>VCM (μ<sup>3</sup>)</b>                      | 50,84±0,28  | 48,08±1,67 | 39,90±0,87 | 49,52±0,34* | 49,96±0,42 | 50,94±0,63 |
| <b>HCM (μμg)</b>                                | 17,54±0,092 | 39,90±0,87 | 16,82±0,16 | 16,82±0,16  | 17,50±0,20 | 17,52±0,20 |
| <b>CHCM (%)</b>                                 | 34,56±0,10  | 39,76±0,36 | 34,26±0,21 | 34,26±0,21  | 34,96±0,70 | 34,42±0,24 |
| <b>Leucócitos (10/mm)</b>                       | 4160±712,5  | 4100±148,3 | 3780±563,4 | 4300±876,4  | 5240±815,2 | 3360±510,5 |
| <b>Neutrófilo (%)</b>                           | 15,2±1,71   | 20,8±1,02  | 16,6±0,93  | 26,2±5,49   | 20,0±3,35  | 15,6±0,40  |
| <b>Eosinófilo (%)</b>                           | 0,0±0,0     | 0,2±0,2    | 0,2±0,2    | 0,2±0,2     | 0,2±0,2    | 0,2±0,2    |
| <b>Linfócito (%)</b>                            | 73,2±2,13   | 65,6±1,54* | 71,6±2,40  | 64,8±4,42   | 70,6±3,47  | 72,8±1,20  |

|                             |              |              |               |               |              |              |
|-----------------------------|--------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| <b>Monócito (%)</b>         | 11,8±0,74    | 11,8±0,74    | 10,2±1,20     | 8,6±1,43      | 9,2±0,37     | 11,4±1,50    |
| <b>Plaquetas (10/mm)</b>    | 997400±61675 | 997400±61675 | 487600±198511 | 810400±115939 | 974200±42925 | 879200±86102 |
| <b>RDW (%)</b>              | 12,74±0,22   | 12,74±0,22   | 13,90±0,26    | 14,56±0,11*   | 10,76±2,41   | 12,84±0,48   |
| <b>VPM (mm<sup>3</sup>)</b> | 5,6±0,15     | 5,6±0,15     | 5,84±0,27     | 5,80±0,14     | 5,66±0,06    | 5,62±0,07    |

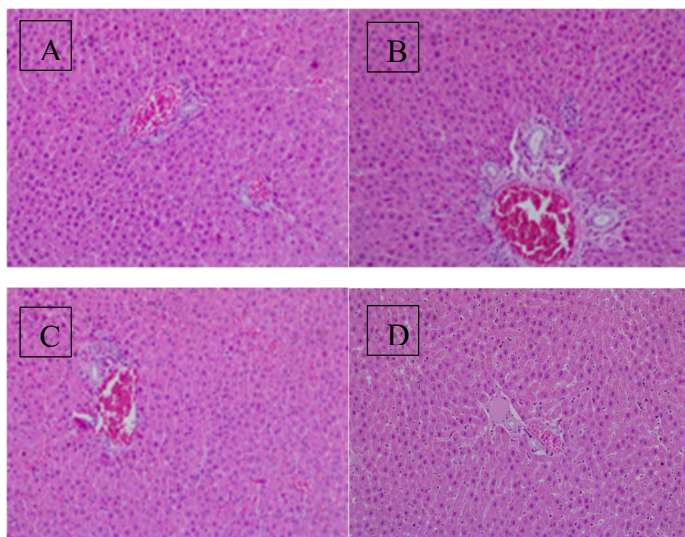
**Legenda:** Os valores estão expressos em média ± e.p.m. (n=6). Teste “t” de Student / Não-pareado.\*p<0,05. CT-I: controle do iogurte. CT-G: controle da geleia. CT-S: controle do suco. VCM: volume corpuscular médio. HCM: hemoglobina corpuscular média. CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média. RDW: *red cell distribution* (amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos). VPM: volume plaquetário médio.

**Fonte:** Pires WRCAG, et al., 2021.

### Avaliação anatomopatológico

Foram avaliados o coração, estômago, fígado, baço, pulmões e rins dos animais deste estudo. Os órgãos não apresentaram alterações macroscópicas e nem microscópicas, como mudanças estruturais, inflamação aguda e crônica, esteatose, fibrose e necrose. Os cortes histológicos foram analisados pela coloração hematoxilina-eosina em microscópio óptico com aumentos de x40, x100 e x400. Nas figuras abaixo pode-se evidenciar cortes histológicos do fígado e rins mostrando que não houve alteração nesses órgãos em nenhum dos grupos estudados, apesar da alterações bioquímicas encontradas (elevação da ALT no grupo da geleia e diminuição da uréia no grupo do suco).

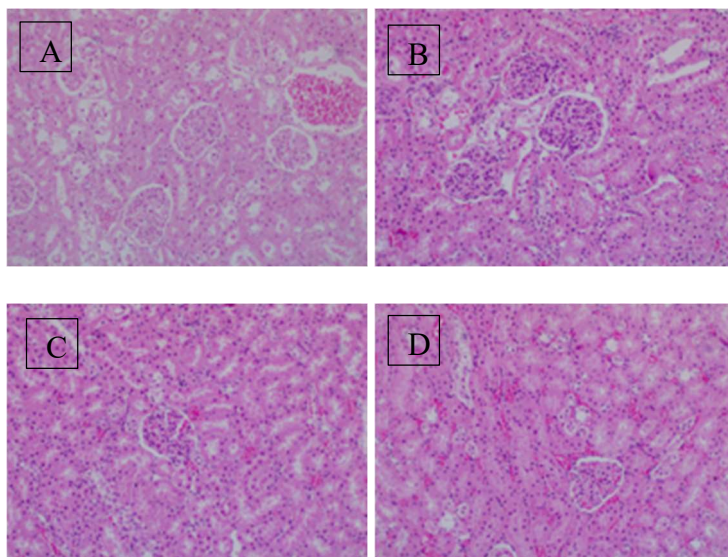
**Figura 1:** Fotomicrografias representativas de fígado dos grupos experimentais



**Legenda:** A- Grupo controle da geleia (HE 100X); B- Grupo do suco do *P. gounellei* (HE 100X); C- Grupo da geleia do *P. gounellei* (HE 100X); D- Grupo do iogurte com a geleia do *P. gounellei* (HE 100X).

**Fonte:** Pires WRCAG, et al., 2021.

**Figura 2:** Fotomicrografias representativas de rins dos grupos experimentais.



**Legenda:** A- Grupo controle do suco (HE 100X); B- Grupo do suco do *P. gounellei* (HE 100X); C- Grupo da geléia do *P. gounellei* (HE 100X); D- Grupo do iogurte com a geléia do *P. gounellei* (HE 100X).

**Fonte:** Pires WRCAG, et al., 2021.

## DISCUSSÃO

Segundo a classificação de toxicidade da Comunidade Europeia, a não ocorrência de mortes, após administração de 2000 mg/kg de um produto obtido de espécie vegetal, por via oral, indica uma provável ausência de toxicidade, porém mais dados são necessários para confirmar este achado (OLIVEIRA AM, 2019).

A ingestão de água e nutrientes são parâmetros importantes no estudo da segurança do produto, pois estes são essenciais para o funcionamento do organismo. Neste trabalho, foi evidenciada uma diminuição no consumo de água nos grupos do suco e iogurte do *P. gounellei*. Estes contêm razoável teor aquoso, sendo esta cactácea utilizada no sertão como fonte de água e alimento para animais e seres humanos. Em seu estudo, Dias GE (2015) também evidenciou diminuição no consumo de água ao utilizar o extrato etanólico do *P. gounellei*. Enquanto, Oliveira AM (2019), em seu estudo com o extrato do *P. gounellei* não evidenciou alteração no consumo da mesma.

A avaliação da massa corpórea do animal é um importante indicador para caracterização da toxicidade de uma substância. O ganho de peso pode ser afetado pela dificuldade de digestão dos alimentos e absorção dos nutrientes, sendo um indício de possíveis efeitos tóxicos (SANTANA LR, et al., 2014). Alguns estudos correlacionam o efeito do estresse sobre o peso corporal e ingestão de alimento, sendo verificada perda de peso mais elevada em animais expostos a mais estresse. Apesar de não haver redução no consumo de ração, os animais do grupo do iogurte apresentaram um ganho de peso menor comparado ao seu controle e aos demais grupos. Contudo, os resultados estão de acordo com o preconizado para avaliação de peso corpóreo, da OECD, (2001a), de não ultrapassar a variação de 20% do peso médio inicial.

Dentre os parâmetros bioquímicos, destaca-se o aumento da ALT, no grupo da geleia do *P. gounellei*. O fígado é um dos órgãos mais importantes do corpo, sendo responsável pela produção e metabolismo de várias substâncias. Lesões nos hepatócitos são detectadas através da mensuração das transaminases (ALT e AST), enzimas liberadas após rompimento destas células, e consideradas



importantes marcadores para avaliação de dano hepático ( ROY S, et al, 2015).

A avaliação da função hepática é feita através da mensuração de metabólitos que são produzidos ou excretados pelo órgão, como a bilirrubina e albumina. A bilirrubina é o principal componente dos pigmentos biliares e o seu aumento pode ocorrer por lesão dos hepatócitos ou bloqueio ao fluxo biliar (colestase). Já a albumina é a principal proteína circulante, sendo o fígado, o único responsável pela sua produção. Na hepatotoxicidade pode ocorrer lesão hepática em todas as zonas da glândula, com balonismo hepatocelular e degeneração de hepatócitos, corpos apoptóticos, pequenos focos de necrose e inflamação portal mínima (GOMES BTL, et al., 2019). Contudo, não foi observada alteração nos exames de função hepática, e nem alteração histopatológica neste órgão. O que nos leva a pensar na possibilidade de leve hepatotoxicidade pela geleia, podendo, inclusive, este efeito ser atribuído à alta dose administrada da mesma, devendo, portanto, seguir com os estudos de toxicidade subcrônica para confirmar este achado.

Estudos com extrato etanólico do *P. gounellei* não evidenciaram aumento de transaminases e nem alterações anatomopatológicas no fígado dos animais submetidos ao estudo de toxicidade aguda (OLIVEIRA AM, 2019 e DIAS GEN, 2015).

Ureia e creatinina geralmente se apresentam alteradas quando há insuficiência renal. Os rins são órgãos de extrema importância para avaliação de toxicidade, pois, quando ocorre a falência dos mesmos, a substância permanece mais tempo no organismo, devido à diminuição de sua eliminação, podendo causar danos decorrentes do aumento do seu volume sérico. A única alteração encontrada em relação à função renal foi a diminuição da ureia no grupo do suco do *P. gounellei*, o que poderia caracterizar uma possível proteção renal. Dias GEN (2015) em seu estudo com o extrato do *P. gounellei* identificou um discreto aumento da ureia e diminuição da creatinina. Enquanto que Oliveira LJ (2011) não identificou modificações nestes parâmetros.

A análise dos parâmetros hematológicos é de relevante importância para avaliação dos riscos de determinadas substâncias quando administrada em seres humanos, pois o sistema hematológico é um alvo bastante susceptível ao ataque de substâncias tóxicas (LIMA FEG et al., 2018).

Hemácias são unidades morfológicas da série vermelha sanguínea, cuja função é transportar o oxigênio aos tecidos e recolher o gás carbônico. VCM, HCM e RDW são índices hematimétricos utilizados para avaliar estas células. RDW mensura a variação de tamanho entre as hemácias, dessa forma, quando está elevado, significa que as mesmas possuem diferentes tamanhos. O aumento do VCM indica que as hemácias estão maiores que o habitual, pois ele avalia o tamanho médio dos glóbulos vermelhos (DIAS GEN, 2015).

No grupo da geleia do *P. gounellei* ocorreu um aumento estatisticamente significativo no RDW e VCM. Contudo, estas alterações ainda se encontram próximas aos valores de referência e não houve modificação dos demais parâmetros indicativos de anemia (hemácias, hemoglobina e hematócrito). Conclui-se, assim, que os glóbulos vermelhos apresentam alteração em seu tamanho, com predomínio de macrócitos (hemácias maiores que as habituais), porém, em número ainda normais. Geralmente, em humanos, os macrócitos são vistos em deficiência de vitaminas como ácido fólico e vitamina B12, sugerindo-se, assim, avaliações desses parâmetros para melhor investigação deste achado (LIMA FEG et al., 2018). Como exemplo, tem-se o metotrexato, medicamento utilizado em doenças autoimunes e neoplasias, que tem como efeito inibir o folato, causando entre outras alterações macrocitose e anemia macrocítica.

Um estudo feito por Oliveira LJ (2011), avaliou os parâmetros hematológicos em um bioensaio com *P. gounellei* e não encontrou nenhuma alteração.

No grupo do iogurte com geleia do *P. gounellei* foi observado aumento do RDW e diminuição do hematócrito. O hematócrito avalia a porcentagem de volume ocupada pelas hemácias no total de sangue. Ele diminui na anemia, devido à redução na produção ou aumento da destruição de hemácias, e quando há hemorragia. Porém, esta alteração não foi acompanhada por queda de hemoglobina e

nem diminuição do número de hemácias, o que a princípio seria contraditório (LIMA FEG et al., 2018). Consta-se, que, estudos adicionais são necessários para confirmar estes achados.

A linfopenia caracteriza-se pela diminuição dos linfócitos, um dos subtipos de leucócitos, células responsáveis pela defesa do nosso organismo. Essa alteração foi observada no grupo que recebeu o iogurte da geleia do *P. gounellei*, podendo ser relacionada a diversas causas, dentre elas o estresse ou a alta dose administrada da substância. Estudos prévios não mostraram alterações dos glóbulos brancos na avaliação dos parâmetros hematológicos (OLIVEIRA LJ, 2011 e DIAS GE, 2015).

Estas variações apesar de serem estatisticamente significativas não possuem relevância clínica, pois os valores estão próximos aos de referência, podendo tais diferenças serem explicadas pela variabilidade biológica entre os ratos (CASTELLO BRANCO AC, et al., 2011).

O cálcio e fósforo estão presentes no esqueleto humano, e têm em comum, o metabolismo associado à vitamina D e paratormônio. Por meio destes e com auxílio do rim, intestino e esqueleto, processa-se a homeostase destes íons. (SILVA ICG, et al., 2021).

O magnésio é o segundo cátion intracelular mais abundante, tendo participação na maioria dos processos metabólicos (BEZERRIL FF, et al., 2021). Sua concentração sérica é resultado de um balanço na ingestão/absorção, biodistribuição e excreção. Hipermagnesemia é encontrada em casos de insuficiência renal e no uso de laxativos contendo magnésio. Já a hipomagnesemia tem em suas causas doenças do trato gastrointestinal, como síndromes disabsortivas e pós-ressecções de intestino delgado, podendo também ser induzida por alimentação enteral prolongada sem suplementação de magnésio e pelo uso excessivo de laxativos.

No grupo do suco do *P. gounellei*, houve um aumento dos níveis de magnésio e no grupo do iogurte do *P. gounellei* ocorreu uma diminuição destes níveis em relação ao controle. Importante avaliar que apesar destas alterações, os valores do magnésio permaneceram ainda dentro da normalidade. Isto pode ter ocorrido pelas propriedades do iogurte em modificar a microbiota intestinal, alterando o processo de digestão e absorção de nutrientes (CARVALHO POAA, et al., 2021). Neste último grupo, além da hipomagnesemia ocorreu também uma hipofosfatemia, o que ajuda a corroborar nossa hipótese. Existem alguns mecanismos para a ocorrência da hipofosfatemia, que são: redistribuição do fósforo do meio extracelular para o meio intracelular, diminuição da absorção intestinal e aumento da excreção urinária.

Importante observar que os três minerais, acima mencionados, dependem da absorção intestinal para manter os seus valores de normalidades. Como foi visto anteriormente, estudos com o cladódio do *P. gounellei* mostraram a presença de fibras consideradas prebióticas, que servem como alimento para as bactérias intestinais, resultando em possíveis alterações na absorção destes minerais (BEZERRIL FF, et al., 2017; RIBEIRO TS, et al., 2020).

O cloro é essencial no equilíbrio hídrico e do sódio, e na regulação da pressão osmótica. A hipercloremia é caracterizada por um excesso de cloreto, causada por desidratação grave, falência renal e hemodiálise. No grupo do suco do *P. gounellei* foi evidenciado aumento do cloro em relação ao seu controle, porém, os valores ainda permaneceram dentro da normalidade para esta espécie (SILVA ICG, et al., 2021).

Apesar de nenhum órgão ter apresentado alterações macroscópicas após a autopsia dos animais, todos foram enviados para exame histopatológico. Nenhum deles apresentou alterações em sua microscopia, portanto não foi evidenciado nenhum tipo de inflamação, seja ela aguda ou crônica, fibrose, esteatose ou necrose.

## CONCLUSÃO

Conclui-se, assim, que o suco e o iogurte da geleia do *P. gounellei* possuem baixa toxicidade. Em relação à geleia do *P. gounellei*, pode-se inferir que mais estudos são necessários para descartar hepatotoxicidade, já que a mesma ocasionou elevação discreta de ALT, o que pode ter sido relacionada à alta dose administrada. Como limitação ao estudo ressalta-se a curta duração do mesmo, devendo-se levar em consideração, que para afirmar a segurança do uso das substâncias em estudo, faz-se necessário a realização de ensaios crônicos, com o intuito de avaliar o seu efeito a longo prazo e melhor caracterizar possíveis efeitos tóxicos. A importância desse projeto de pesquisa advém da necessidade

de se encontrar novos agentes nutritivos, farmacologicamente ativos e seguros, etapa fundamental na cadeia de produção de medicamento, e relevante para prosseguir com os estudos clínicos em humanos, contribuindo assim com sua utilização como forma de prevenção e cuidado com a saúde.

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Fabrícia de França Bezerril por contribuir com este projeto auxiliando na produção do suco, iogurte e geléia do *Pilosocereus gounellei*.

---

### REFERÊNCIAS

- 1- BEZERRIL FF. Caracterização nutricional e de compostos bioativos do Xique-Xique (*Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex. K. Schum.) Bly. ex Rowl.). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimento). Departamento de Nutrição. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017; 77 p.
- 2- BEZERRIL FF, et al. *Pilosocereus gounellei* (xique xique) jam is source of fibers and mineral and improves the nutrionitional value and the technological properties of goat milk yogurt. LWT- Food Science and Technology, 2021; 139.
- 3- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA. Guia para condução de estudos não clínicos e toxicologia e segurança farmacológica necessários ao desenvolvimento de medicamentos. Brasília-DF 2013. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acessado em 01 de junho de 2021.
- 4- BRAVO FILHO ES. **Diversidade, Etnobotânica e Propagação de cabeça-de-frade (*Melocactus* Link & Otto – CACTACEAE) no Estado de Sergipe**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, 2014; 161 p.
- 5- CARVALHO POAA, et al. Nutritional potential and bioactive compounds of xique-xique juice: An unconventional food plant from Semiarid Brazilian. J Food Process Preserv, 2021; 45: e15265.
- 6- CASTELLO BRANCO ACS, et al. Parâmetros bioquímicos e hematológicos de ratos Wistar e camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas George. Revista Brasileira de Ciências da Saúde, 2011; 15 (2), 209-14.
- 7- CAVALCANTI NB, RESENDE GM. Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.), facheiro (*Pilosocereus pachycladus* RITTER), xiquexique (*Pilosocereus gounellei* (A. WEBWR EX K. SCHUM.) BLY. EX ROWL.) e coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis* BRITTON). Caatinga, 2007; 20 (1): 28-35.
- 8- CHAVES EMF, BARROS RFM. Cactáceas: Recurso alimentar emergencial no semiárido, Nordeste do Brasil. Gaia Scientia, 2015; 9, 129-135.
- 9- DIAS GEN. Avaliação da toxicidade não clínica do extrato e etanólico bruto de *Pilosocereus gounellei* (F.A.C Weber) em ratos. Dissertação (Doutorado em Farmacologia). Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015; 79p.
- 10- GOLDIM JR. A Avaliação Ética Da Investigação Científica de Novas Drogas: A Importância da Caracterização Adequada das Fases de Pesquisa. Revista HCPA, 2007; 27; 66-73.
- 11- GOMES BTL, et al. Avaliação da função hepática:uma revisão bibliográfica. Bio Medicina, 2019; 4 (1).

- 12- LIMA, FEG. Perfil bioquímico e hematológico de ratos e camundongos do biotério central da Universidade Federal do Ceará. Dissertação (Mestrado Profissional em Farmacologia Clínica) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018; 75p.
- 13- LI X, et al. Acute and subacute toxicity of ethanol extracts from *Salvia przewalskii* Maxim in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010; 131: 110-115.
- 14- LUCENA CM, et al. **Conhecimento local sobre cactáceas em comunidades rurais na mesorregião do sertão da Paraíba (Nordeste, Brasil)**. Universidade Federal da Paraíba. 2012; 25(3): 282-288.
- 15- MACIEL KS, et al. New Alcamide and anti-oxidant activity of *Pilosocereus gounellei* A. Weber ex K. Schum. Bly. ex Rowl. (Cactaceae). *Molecules*, 2016; 21: 1–13.
- 16- MENEZES MOT, RIBEIRO-SILVA S. Cactáceas do Ceará, Brasil: prioridades para a conservação. **Revista Gaia Scie**, 2015; 9(2): 67-76.
- 17- OECD. Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (Organization for Economic Cooperation and Development). Guideline 423: Acute Oral Toxicity Method. Guideline for testing of Chemicals, 2001a. Disponível: [www.oecd-ilibrary.org](http://www.oecd-ilibrary.org). Acessado em: 01 de junho de 2021.
- 18- OECD. Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (Organization for Economic Cooperation and Development). Guideline 420: Acute Oral Toxicity –Fixed Dose Procedure Method. Guideline for testing of Chemicals, 2001b. Disponível: [www.oecd-ilibrary.org](http://www.oecd-ilibrary.org). Acessado em: 01 de junho de 2021.
- 19- OLIVEIRA LJ. Bioensaios de *Pilosocereus gounellei* (Weber) Byles e Rowley (Parâmetros fitoquímicos, toxicológicos, microbiológicos, hematológicos e bioquímicos). Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011; 88p.
- 20- OLIVEIRA AM. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda e efeitos nociceptivos, anti pirético e anti obesidade de extrato de caule de *P. gounellei*. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.
- 21- PINTO NCC, SCIO E. The biological activities and chemical composition of *Pereskia* species (Cactaceae) - a review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2014; 69(3): 189-195.
- 22- RIBEIRO TS, et al. In vitro evaluation of potential prebiotic effects of a freeze-dried juice from *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum. Bly. Ex Rowl) cladodes, an unconventional edible plant from Caatinga biome. *3 Biotech*, 2020; 10: 1–9.
- 23- ROCHA FILHO CAF. Investigação do caule do xique-xique (*P.gounellei*) como fonte de inibidor de tripsina com ação antibacteriana. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015; 58p.
- 24- ROY S, et al. Synthesis, Characterization, Antioxidant Status, and Toxicity Study of Vanadium–Rutin Complex in Balb/c Mice. *Biol Trace Elem Res*. 2015; 66:83–200.
- 25- SANTANA LCLR, et al. Estudo das propriedades físico-químicas e avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico das folhas de *Mikania glomerata* Sprengel. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 2014; 16 (3): 670-678.
- 26- SANTOS AG, PEREIRA LC. Utilização de métodos alternativos à experimentação animal em pesquisa. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, 2016; 4 (1) 22-31.
- 27- SILVA VA. Diversidade de uso das cactáceas no nordeste do Brasil: uma revisão. **Revista Gaia Scie**, 2015; 9(2): 137-154.

- 28- SOUSA GA, et al. Gastroprotective effect of ethanol extracts of cladodes and roots of *Pilosocereus gounellei* (A. Weber ex K. Schum.) Bly. Ex Rowl (Cactaceae) on experimental ulcer models. *Journal of Ethnopharmacology*, 2018; 218:100–108.
- 29- VERRI AM, et al. Testes citogenéticos na avaliação da genotoxicidade de produtos naturais provindos de plantas medicinais. **Revista Uningá Review**, 2017; 30 (1): 55-6.
- 30- SILVA ICG, et al. Deficiency of vitamins and minerals: the role of technology in health prevention: an integrative review. *Research, Society and Development*, 2021; 9 (10); e4129108700.



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE NÃO-CLÍNICA DO IOGURTE DA POLPA DE *Pilosocereus gounellei* EM ROEDORES", protocolada sob o CEUA nº 1275210718 (ID 000357), sob a responsabilidade de **Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz e equipe; Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida Guedes Pires** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 06/09/2018.

We certify that the proposal "EVALUATION OF NON-CLINICAL TOXICITY OF *Pilosocereus gounellei* PULP YOGHURT IN RODENTS", utilizing 170 Heterogenics rats (males and females), protocol number CEUA 1275210718 (ID 000357), under the responsibility of **Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz and team; Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida Guedes Pires** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 09/06/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **10/2018** a **06/2019** Área: **Ciências Farmacêuticas**

Origem: **Unidade de Produção Animal IPeFarM**

Espécie: **Ratos heterogênicos**  
semanas N:

sexo: **Machos e Fêmeas** idade: **8 a 12**  
**170**

Linhagem: **Rattus Norvegicus - Wistar**

Peso: **180 a 220 g**

Local do experimento: Laboratório de Ensaios Toxicológicos (LABETOX) - IPeFarM - UFPB  
Biotério professor Thomas George - IpeFarM - UFPB

João Pessoa, 08 de junho de 2021



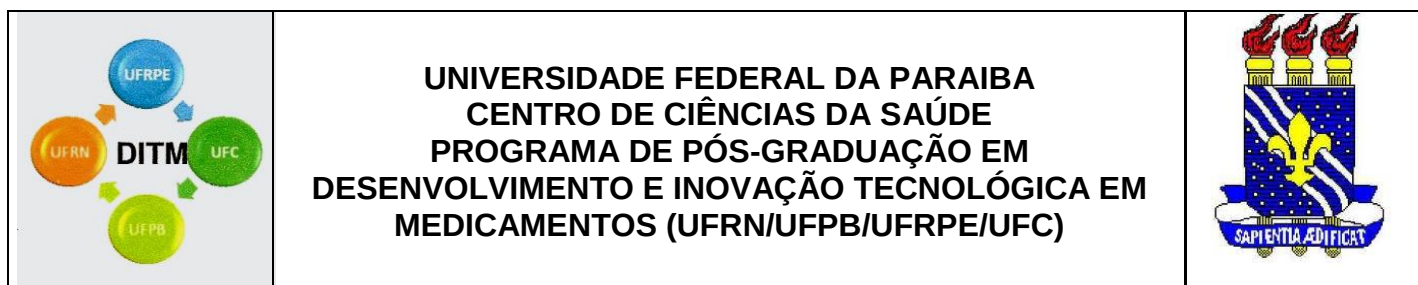
Profa. Dra. Adriana Maria Fernandes de Oliveira  
Golzio  
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de  
Animais

Prof. Dr. Ivia Carmem Talieri  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso  
de Animais

Universidade Federal da Paraíba

Cidade Universitária, s/n - Castelo Branco III Prédio da Reitoria - Gabinete da Vice-reitoria - CEP 58051-085 - João Pessoa/PB - tel: 55 (83) 3216-7155  
Horário de atendimento: 2ª a 6ª das 14 às 17h : e-mail: [ceua@ufpb.br](mailto:ceua@ufpb.br)  
CEUA N [1275210718](#)

Universidade Federal da Paraíba



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM  
MEDICAMENTOS (UFRN/UFPB/UFRPE/UFC)**

**RELATÓRIO FINAL DO ORIENTADOR  
DOUTORADO**

Eu, **Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz**, orientadora do trabalho final do aluno **Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida Guedes Pires**, matrícula nº 20171013040, do curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Medicamentos, área de concentração em Inovação Tecnológica em Medicamentos, da Universidade Federal da Paraíba, após exame da vida acadêmica do mencionada aluno, tenho a relatar:

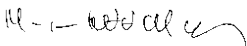
A integralização do curso foi feita em 55 meses, portanto no prazo de prorrogação estabelecido pela Legislação vigente da UFPB.

Quanto ao desempenho acadêmico, constata-se que a doutoranda cursou 39 créditos da estrutura curricular a que está submetido e foi aprovado no exame de verificação da capacidade de leitura em Inglês e Espanhol respectivamente no período de 2018.2 e 2020.1. Já na apresentação do trabalho, intitulada **“Avaliação da toxicidade não clínica do suco, da geléia e do iogurte da geléia do *Pilosocereus gounellei*”**, realizada no dia 21 de setembro de 2021, na sala virtual, a doutoranda obteve conceito APROVADO, tendo a banca examinadora sido formada pelos especialistas:

- Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz (presidente)
- Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Hilzeth de Luna Freire Pessoa (Examinadora Interna)
- Prof. Dr. Reinaldo Nóbrega de Almeida (Examinador Interno)
- Prof. Dr. Josué do Amaral Ramalho (Examinador Externo)
- Prof. Dr.<sup>a</sup> Tarciana Vieira da Costa (Examinadora Externa)

Diante do exposto, considerando que **Wilma Ribeiro Coutinho de Almeida Guedes Pires**, dentro do prazo regimental, satisfaz todas as exigências do Regimento Geral da UFPB, do Regimento Geral dos Cursos e programas de Pós-Graduação Stricto Sensu da UFPB e do regulamento do Curso/Programa, está apto a obter o grau de **DOUTOR** em **DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA EM MEDICAMENTOS**, área de concentração: Inovação Tecnológica em Medicamentos, a ser conferido pela Universidade Federal da Paraíba.

João Pessoa, 21 de setembro de 2021.

  
Orientador do Trabalho Final