

AVALIAÇÃO DO EFEITO DE UM EXTRATO RICO EM COMPOSTOS BIOATIVOS NO PERFIL LIPÍDICO EM ROEDORES OBESOS SOB DIETA HIPERLIPÍDICA.

Palavras-Chave: COMPOSTOS BIOATIVOS; PERFIL LIPÍDICO; OBESIDADE.

Autores(as):

STEFANY FREIRE DE BRITO DO NASCIMENTO, FCA – UNICAMP

LUCAS LEÃO CALDEIRA (mestrando), FEA – UNICAMP

Prof. Dr. MÁRIO ROBERTO MARÓSTICA JÚNIOR (orientador), FEA – UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A obesidade é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma condição crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal que compromete a saúde. Dados atuais revelam que cerca de 650 milhões de pessoas sofrem com excesso de peso mundialmente, com projeções indicando que até o final de 2025, 700 milhões de adultos serão obesos (Brasil, 2023; Abeso, 2022; WHO, 2024). O desenvolvimento da obesidade resulta principalmente de um desequilíbrio energético entre ingestão alimentar e gasto calórico, levando ao excesso de tecido adiposo e processos inflamatórios que contribuem para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs). Particularmente, a obesidade compromete o perfil lipídico, elevando os níveis de triglicerídeos e LDL-colesterol e reduzindo o HDL-colesterol, aumentando o risco de dislipidemias e doenças cardiovasculares (Faludi *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2020). Neste contexto, os compostos bioativos de origem vegetal emergem como alternativa terapêutica promissora. Esses compostos, que incluem flavonóides, carotenóides, compostos fenólicos, peptídeos bioativos e outros metabólitos secundários, são encontrados em frutas, hortaliças, grãos e outros alimentos vegetais, apresentando propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e moduladoras do metabolismo lipídico (Pimentel *et al.*, 2019). Estudos demonstram que diversos compostos bioativos podem reduzir a absorção de lipídios dietéticos e modular enzimas envolvidas no metabolismo lipídico hepático (Pimentel, 2019 *apud* Bose *et al.*, 2008). Considerando a necessidade de investigar estratégias terapêuticas para o controle das dislipidemias associadas à obesidade, este estudo tem como objetivo avaliar os efeitos de um extrato vegetal rico em compostos bioativos sobre o perfil lipídico em modelo animal de obesidade induzida por dieta hiperlipídica. Esta pesquisa contribui para o avanço do conhecimento sobre o potencial terapêutico dos compostos bioativos no tratamento das alterações metabólicas associadas à obesidade.

METODOLOGIA:

O extrato vegetal utilizado neste estudo foi adquirido de uma fonte sigilosa, mantendo-se em confidencialidade para possível patente futura. Foram adquiridos 60

camundongos machos da linhagem Swiss, com quatro semanas de idade (peso $\approx$ 35g), provenientes do Centro Multidisciplinar de Investigação Biológica (CEMIB/UNICAMP). Os testes in vivo foram realizados conforme autorização do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UNICAMP) sob o protocolo nº 6221-1/2023. A experimentação ocorreu no Laboratório de Experimentação Pré-Clínica In Vivo, do Centro Integrado de Pesquisas Oncohematológicas na Infância (CIPOI) da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP.

Após quatro semanas de aclimação com dieta padrão de crescimento (ração Nuvilab CR-1), os camundongos foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (15 animais por grupo): Grupo controle (N) com dieta de manutenção (AIN-93M); Grupo controle + extrato vegetal (NE) com dieta de manutenção (AIN-93M) suplementada com o extrato vegetal; Grupo dieta hiperlipídica (H) com dieta hiperlipídica (AIN-93M modificada para conter 35% de lipídeos); e Grupo hiperlipídica + extrato vegetal (HE) com dieta hiperlipídica suplementada com o extrato vegetal. Durante o experimento, a ingestão alimentar e o ganho de peso dos animais foram rigorosamente monitorados e registrados semanalmente. A troca por dietas novas era realizada a cada dois dias para evitar oxidação. A composição centesimal das dietas utilizadas no experimento foi determinada por metodologias padronizadas, realizadas em triplicata para garantir a precisão e confiabilidade dos resultados. Os teores de proteínas foram obtidos pelo método de Kjeldahl; umidade por secagem em estufa; cinzas por incineração em mufla; lipídios totais pelo método de Bligh & Dyer; e os carboidratos e fibras calculados pela diferença entre os demais constituintes. Ao final do experimento, com o auxílio de profissionais, os animais foram anestesiados com uma combinação de quetamina e xilazina, seguido de coleta de sangue por punção cardíaca. O soro foi obtido por centrifugação a 3000 rpm por 20 minutos e, posteriormente, armazenado a -80°C para preservação até as análises bioquímicas.

As concentrações séricas de triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL foram determinadas por métodos enzimáticos colorimétricos, utilizando kits comerciais da marca Labtest Diagnóstica (Lagoa Santa, MG, Brasil). As leituras foram realizadas em leitor de microplacas Synergy HTX (BioTek Instruments, Winooski, VT, EUA), com comprimento de onda ajustado para 500 nm. Todas as análises foram conduzidas em triplicata, a partir de amostras de soro previamente descongeladas e homogeneizadas. A quantificação dos triglicerídeos foi realizada por método enzimático colorimétrico GPO-PAP, utilizando o kit Triglicérides Liquiform, baseado na hidrólise dos triglicerídeos pela lipase, seguida por reações sequenciais envolvendo glicerol quinase, glicerol-3-fosfato oxidase e peroxidase. O colesterol total foi determinado pelo método enzimático CHOD-PAP, utilizando o kit Colesterol Liquiform, no qual o colesterol é convertido por colesterol esterase e colesterol oxidase, formando peróxido de hidrogênio que reage com compostos cromogênicos, produzindo coloração proporcional à concentração do analito. A quantificação do colesterol HDL foi realizada após precipitação seletiva das lipoproteínas VLDL e LDL com solução precipitante do kit HDL-Colesterol Precipitação, sendo o colesterol HDL quantificado no sobrenadante após centrifugação utilizando o mesmo método do colesterol total. A concentração de colesterol LDL foi estimada por cálculo indireto, utilizando a fórmula de Friedewald: $LDL-C = \text{Colesterol Total} - HDL-C - (\text{Triglicerídeos} \div 5)$, onde todas as concentrações são expressas em mg/dL. Para análise estatística, foi utilizada ANOVA para o modelo de fator único, complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey. Adotou-se um nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$) para todos os dados. A análise foi conduzida usando o software GraphPad Prism 9.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A evolução do peso corporal e consumo alimentar dos animais do início ao fim do período de experimentação de 14 semanas estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Ganho de peso e consumo alimentar dos animais durante as 14 semanas de experimento (n =15)

Grupos	N	NE	H	HE
Peso inicial (g)*	37,61 ± 3,42	35,55 ± 2,80	35,78 ± 2,94	35,43 ± 3,03
Peso final (g) *	42,99 ± 4,33 ^a	44,65 ± 6,31 ^a	55,01 ± 4,31 ^b	54,78 ± 7,24 ^b
Ganho de peso (g) *	5,86 ± 5,53 ^a	7,11 ± 2,49 ^a	18,51 ± 6,35 ^b	18,16 ± 6,35 ^b
Ingestão Alimentar (g)**	386,97 ± 26,19 ^a	397,465 ± 22,52 ^a	369,81 ± 32,70 ^b	357,38 ± 31,79 ^b
Ingestão Calórica (Kcal)**	1454,33 ± 98,44 ^a	1474,51 ± 83,56 ^a	1924,53 ± 170,17 ^b	1847,33 ± 164,36 ^b

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas; * representa ($P < 0,001$); ** representa ($P < 0,0001$).

A dieta hiperlipídica promoveu ganho de peso significativo nos grupos H e HE comparado aos controles ($P < 0,001$), confirmando o modelo experimental de obesidade. O ganho de peso nos grupos hiperlipídicos foi três vezes superior aos controles, resultado consistente com estudos que demonstraram eficácia de dietas ricas em gorduras saturadas para induzir obesidade em roedores (Barquissau *et al.*, 2021). O grupo HE apresentou ganho de peso menor que o grupo H, embora sem significância estatística, sugerindo potencial efeito modulador do extrato. Compostos bioativos podem influenciar a termogênese e oxidação lipídica, contribuindo para menor acúmulo adiposo (Kord-Varkaneh *et al.*, 2020). Os grupos hiperlipídicos consumiram menos alimento em gramas, mas maior aporte calórico devido à maior densidade energética da dieta (Nakamura *et al.*, 2022).

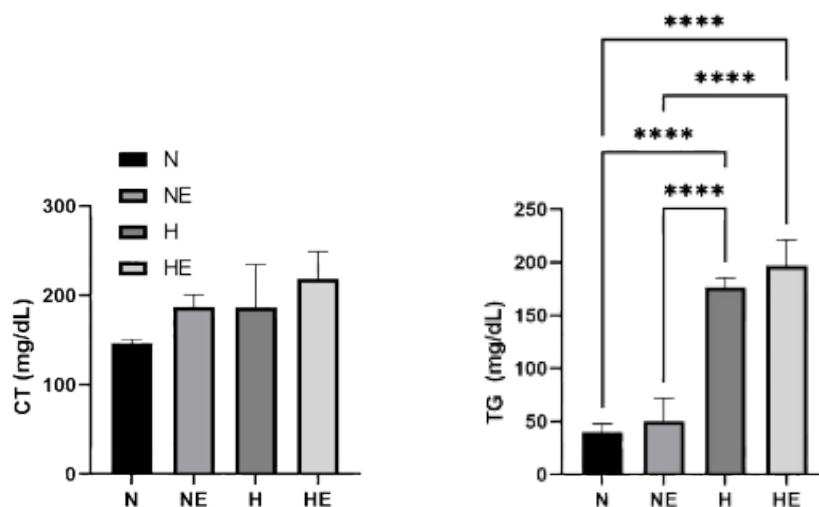


Figura 1. Níveis séricos de Colesterol Total (A) e Triglicerídeos (B). Os dados estão expressos como média ± desvio padrão. Diferenças significativas entre os grupos: **** $p < 0,0001$.

Os níveis de colesterol total não diferiram significativamente entre os grupos, embora o grupo HE apresentasse uma maior elevação. A ausência de efeito do extrato pode estar relacionada à dose utilizada e à biodisponibilidade dos compostos (Pimentel *et al.*, 2019). A eficácia de compostos bioativos na modulação do colesterol depende da concentração sérica e características farmacocinéticas específicas (Zhang *et al.*, 2023). Os triglicerídeos apresentaram concentrações significativamente superiores nos grupos hiperlipídicos (H e HE) comparado aos controles ($P < 0,0001$), independente do extrato. Este resultado era esperado, pois dietas ricas em gorduras saturadas elevam a síntese hepática de VLDL (Nakamura *et al.*,

2022). A hipertrigliceridemia reflete o desequilíbrio metabólico característico da obesidade induzida por dieta (Liu *et al.*, 2020).

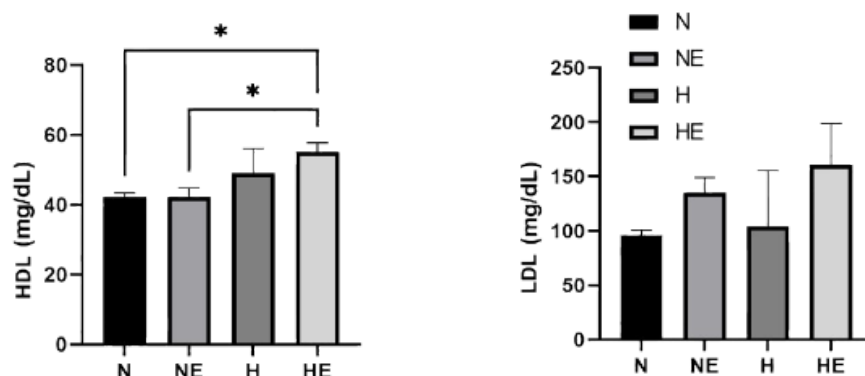


Figura 2. Níveis séricos de HDL-c (C) e LDL-c (D). Os dados estão expressos como média $\pm$ desvio padrão. Diferenças significativas entre os grupos: * $p < 0,05$.

Os níveis de HDL-colesterol aumentaram significativamente nos grupos hiperlipídicos (H e HE) comparado aos controles ($P < 0,05$). Esse resultado, que parece estranho, mostra como o corpo se adapta ao consumo de uma dieta rica em gorduras que estimula o transporte reverso de colesterol (Rodriguez-Correa *et al.*, 2020). O grupo HE apresentou as maiores concentrações, sugerindo que o extrato potencializou este efeito através da modulação da enzima LCAT (Sharma *et al.*, 2021). O grupo HE apresentou as maiores concentrações de LDL-colesterol, indicando que o extrato não atenuou o efeito hipercolesterolêmico da dieta hiperlipídica. Gorduras saturadas elevam o LDL-colesterol através da redução da expressão de receptores hepáticos de LDL (Wang *et al.*, 2024). A ausência de efeito protetor pode estar relacionada à complexidade das vias metabólicas e necessidade de doses mais elevadas (Silva *et al.*, 2023).

CONCLUSÕES:

Com base nos resultados obtidos, o extrato rico em compostos bioativos não alterou significativamente os parâmetros do metabolismo lipídico (colesterol total, LDL-c, HDL-c e triglicerídeos) nos camundongos submetidos à dieta hiperlipídica durante o período experimental. A ausência de efeitos pode estar relacionada à dosagem utilizada, duração do tratamento ou biodisponibilidade dos compostos ativos. Estudos futuros com diferentes concentrações, tempos de exposição prolongados e análises de absorção intestinal são necessários para determinar o real potencial do extrato.

BIBLIOGRAFIA

1. ABESO. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. **Mapa da Obesidade**. Campanha Obesidade, São Paulo, 2022. Disponível em: <https://campanhaobesidade.abeso.org.br/index.php/2022/02/27/mapa-da-obesidade/>. Acesso em: 25 mar. 2024.
2. Barquissau, V., Beuzelin, D., Pisani, D. F., et al. (2021). White-to-brite conversion in human adipocytes promotes metabolic reprogramming towards fatty acid anabolic and catabolic pathways. *Molecular Metabolism*, 43, 101109.
3. BRASIL.Ministério da Saúde. **Obesidade**. Brasília: Ministério da Saúde, 2023. 4 p. (Série B.

Promoção da Saúde). Disponível em:

<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/promocao-da-saude/fact-sheet-obesidade>. Acesso em: 25 mar. 2024.

4. FALUDI, André Arpad et al. **Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose – 2017**. Arquivos Brasileiros de Cardiologia [online]. 2017, v. 109, n. 2 Supl 1 [Acessado 30 Março 2024], pp. 1-76. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/abc.20170121>>. ISSN 1678-4170. <https://doi.org/10.5935/abc.20170121>.
5. Kord-Varkaneh, H., Ghaedi, E., Nazary-Vanani, A., et al. (2020). Does cocoa/dark chocolate supplementation have favorable effect on body weight, body mass index and waist circumference? A systematic review, meta-analysis and dose-response of randomized clinical trials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(15), 2626-2635.
6. Liu, J., Wang, S., Feng, L., et al. (2020). Hyperlipidemia-induced oxidative stress and metabolic dysfunction in obesity. *Nutrients*, 12(9), 2755.
7. Martinez-Gonzalez, M. A., Gea, A., Ruiz-Canela, M. (2021). The Mediterranean diet and cardiovascular health. *Circulation Research*, 124(5), 779-798.
8. Nakamura, T., Sato, E., Fujiwara, N., et al. (2022). Increased oxidative stress and decreased antioxidant activities in diet-induced obesity. *Free Radical Biology and Medicine*, 182, 127-139.
9. OLIVEIRA, C. B. C., Brito, L. A., Freitas, M. A., Souza, M. P. A., Rêgo, J. M. C., & Machado, R. J. A. (2020). **Obesidade: Inflamação e compostos bioativos**. Journal of Health & Biological Sciences , 8, 1-5. Disponível em: <https://unichristus.emnuvens.com.br/jhbs/article/view/2785/1047> . Acesso em: 28 mar. 2024.
10. PIMENTEL, Carolina Vieira de Mello B.; ELIAS, Maria F.; PHILIPPI, Sonia T. **Alimentos funcionais e compostos bioativos**. Editora Manole, 2019. E-book. ISBN 9786555761955. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786555761955/> . Acesso em: 30 mar. 2024.
11. Pimentel, G. D., Elias, B. C., Philippi, S. T. (2019). Bioactive compounds and their effects on lipid metabolism. *Nutrition Reviews*, 77(8), 542-556.
12. REEVES, Philip G.; NIELSEN, Forrest H.; FAHEY, George C. Jr; . AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* v.123, p.1939–1951. 1993.
13. Rodriguez-Correa, E., Gonzalez-Perez, I., Clavel-Perez, P. I., et al. (2020). Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: What is the best choice? *Nutrients*, 12(11), 3423.
14. Sharma, A., Kumar, R., Aier, I., et al. (2021). Flavonoids modulate lecithin-cholesterol acyltransferase activity: Implications for cardiovascular health. *Phytomedicine*, 89, 153598.
15. Silva, R. M., Santos, A. L., Ferreira, P. C., et al. (2023). Plant-derived compounds and lipid metabolism: Mechanisms and therapeutic potential. *Current Pharmaceutical Design*, 29(12), 932-945.
16. Wang, Y., Chen, J., Liu, X., et al. (2024). Saturated fatty acids and cholesterol metabolism: Recent advances and clinical implications. *Journal of Lipid Research*, 65(2), 100489.
17. WHO. World Health Organization. **Obesity and overweight**. Fact Sheets. Geneva, 2024. at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Accessed: March 25, 2024.
18. Zhang, H., Liu, M., Wang, Q., et al. (2023). Pharmacokinetics and bioavailability of plant phenolic compounds: Current status and future perspectives. *Food & Function*, 14(2), 789-812.