

Nutrição experimental - 2021

Adição de gama orizanol a dieta rica em açúcar e gordura previne fatores de risco para doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD)

Janaina Paixão das Chagas Silva¹, Gabriela Souza Barbosa², Jéssica Leite Garcia³, Bruno Henrique de Paula², Thiago Luiz Novaga Palacio², Fabiane Valentini Francisqueti-Ferron³, Camila Renata Corrêa³

¹Nutrição, Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu, jp.silva@unesp.br e Bolsa FAPESP.

²Instituto de Biociências, UNESP, Botucatu

³ Faculdade de Medicina, UNESP, Botucatu

Introdução: A doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD) é uma enfermidade crônica do fígado que está associada à obesidade que, normalmente, é decorrente do consumo de dietas ricas em açúcar e gordura. Processos fisiopatológicos que envolvem a NFLD, podem ser desencadeados pelo estresse oxidativo, inflamação e alterações metabólicas, condições envolvidas tanto na obesidade como no desequilíbrio alimentar. Composto bioativos presentes nos alimentos não processados, têm se destacado como potenciais agentes na prevenção/ tratamento de diversas doenças. O gama orizanol (γ Oz) é o principal componente do arroz integral e, por apresentar ação anti-inflamatória e antioxidante, pode modular os fatores que contribui para a evolução da NAFLD. **Objetivo:** Verificar o efeito da adição de γ Oz na dieta rica em açúcar e gordura na prevenção de fatores de risco para NAFLD. **Materiais e métodos:** 24 ratos Wistar machos foram distribuídos em 4 grupos (n=6): G1- dieta padrão (DP), G2- dieta padrão + γ Oz (DP+ γ Oz), G3- dieta rica em carboidratos e gordura (HSF) e G4- dieta rica em carboidratos e gordura + γ Oz (HSF + γ Oz) durante 30 semanas (CEUA 1310/2015). O γ Oz foi acrescentado na ração na concentração de 0,5%. Ao término do experimento, foram avaliados: índice de adiposidade, níveis de triglicerídeos, resistência à insulina (HOMA-IR), níveis hepáticos de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), malonaldeído (MDA) e proteínas carboniladas. Comparação: ANOVA Two Way com post-hoc de Tukey, p<0,05. **Resultados e discussão:** G3 apresentou aumento no índice de adiposidade, dislipidemia, resistência à insulina, aumento de citocinas no tecido hepático, MDA e de proteínas carboniladas em comparação ao G1. Com exceção das proteínas carboniladas, G4, que recebeu γ Oz, apresentou proteção contra todos os fatores quando comparados ao G3, mostrando menor índice de adiposidade, menores níveis de triglicerídeos, HOMA-IR, citocinas inflamatórias e MDA hepáticos. **Conclusão:** O consumo de γ Oz foi efetivo em prevenir os fatores de risco da NAFLD, mostrando-se um potencial terapêutico preventivo no controle da doença.

Bibliografia: COSTA, M. R.; GARCIA, J.L.; SILVA, C.C.V.A.; FERRON, A.J.T.; FRANCISQUETI-FERRON,F.V.; HASIMOTO,F.K.; GREGOLIN, C.S.; CAMPOS, D.H.S.; ANDRADE, C.R.; FERREIRA,A.L.A.; CORRÊA, C.R.; MORETO, F. Lycopene Modulates Pathophysiological Processes of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Obese Rats. Antioxidants (Basel). 2019 Aug; 8(8): 276.

Agradecimentos:FAPESP:2019/04524-0.

Caracterização do modelo animal de síndrome metabólica induzido por dieta ocidental

Gabriela Souza Barbosa¹, Juliana da Silva Siqueira², Núbia Alves Grandini, Taynara Aparecida Vieira, Fabiane Valentini Francisqueti-Ferron, Cristina Schmitt Gregolin², Camila Renata Correa²

¹Graduação em Nutrição, Instituto de Biociências, UNESP - Botucatu, SP, Bolsista FAPESP de iniciação científica.

² Programa de Pós-Graduação em Patologia, Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), UNESP, SP.

Introdução: O atual processo de transição nutricional somado ao sedentarismo tem sido associado ao desenvolvimento da síndrome metabólica (SM). A SM é um conjunto de fatores envolvendo a obesidade abdominal, hiperglicemia, dislipidemia e hipertensão arterial sistêmica, os quais se associam ao risco de doenças cardiovasculares ¹. Uma vez que o estudo em humanos é limitado, torna-se relevante o desenvolvimento e caracterização de um modelo animal, que permita investigar novos mecanismos e estratégias terapêuticas. **Objetivo:** Caracterizar o modelo animal, com ratos Wistar, de síndrome metabólica induzida pelo consumo de dieta ocidental. **Materiais e métodos:** Ratos *Wistar* machos (n=30, ± 180g) foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos (n=15) para receberem ração controle + água (grupo controle, C), ou ração rica em carboidratos simples e gordura + água de beber acrescida de 25% de sacarose (Grupo High Sugar-Fat Diet, HSF). As duas dietas foram produzidas de acordo com Francisqueti et al. (2017)². O período experimental teve duração de 30 semanas e a oferta de água e ração foi *ad libitum*. Os animais foram avaliados quanto: 1) perfil nutricional: consumo de água (ml/dia), ração (g/dia), ingestão calórica (kcal/dia), peso corporal (g) e índice de adiposidade; 2) componentes da SM: pressão arterial sistólica (método indireto de plestimografia caudal), glicemia caudal em jejum (glicosímetro), insulina plasmática (ELISA), triglicérides plasmáticos (teste enzimático colorimétrico) e resistência à insulina (cálculo do Homeostasis Model Assessment – Insulin Resistance [HOMA-IR]). A comparação entre os grupos foi realizada por meio Teste t de Student ou Mann Whitney Rank Sum Test. O nível de confiança utilizado foi de 95%. **Resultados e Discussão:** O grupo HSF apresentou maior ingestão de água contendo adição de açúcar, por isso, mesmo tendo consumindo menos ração, a ingestão calórica foi maior. O grupo HSF apresentou maior eficiência alimentar, explicando o maior peso corporal e índice de adiposidade apresentado nesse grupo quando comparado ao grupo controle. Com relação aos componentes da SM, o grupo HSF apresentou aumento de peso corporal, PAS, hipertrigliceridemia, hiperglicemia, e resistência à insulina em relação ao grupo C. **Conclusão:** O modelo experimental dietético utilizado nesse trabalho se mostrou eficaz na indução da SM em ratos Wistar machos, e, portanto, pode ser usado para investigação das complicações associadas a ela, bem como de novos mecanismos e ferramentas terapêuticas. CEUA:1337/2019

Bibliografia:

1. Síndrome Metabólica - SBEM. <https://www.endocrino.org.br/sindrome-metabolica/>.
2. Francisqueti, F. V. *et al.* Metabolic syndrome and inflammation in adipose tissue occur at different times in animals submitted to a high-sugar/fat diet. *J. Nutr. Sci.* **6**, e41 (2017).

Agradecimentos: Apoio financeiro: FAPESP, processo nº: 2021/01069-0

Influência da suplementação de ácido graxo ômega 3 no perfil lipídico de ratos tratados com doxorubicina

Karen Kaori Miyamoto¹, Marina Gaiato Monte², Amanda Gomes Pereira², Mariana Bordinhon de Moraes², Gabriela da Silva Formoso¹, Sérgio Alberto Rupp de Paiva³, Bertha Furlan Polegato³

¹ Graduação em Nutrição, Instituto de Biociências, UNESP - Botucatu, SP, bolsa de Iniciação Científica CNPq.

² Pós-graduação em Fisiopatologia em Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Botucatu, SP.

³ Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, Botucatu, SP.

Introdução: Atualmente, a doxorubicina é o principal agente quimioterápico utilizado no tratamento de diversos tipos de câncer¹. Apesar de ser altamente efetivo, o tratamento com esta droga é acompanhado por diversos efeitos colaterais, dentre eles, alteração no perfil lipídico sérico². A hiperlipidemia induzida pela doxorubicina pode levar à lipotoxicidade cardíaca e favorecer o desenvolvimento de alterações cardiovasculares e contribuir para a fisiopatologia da cardiotoxicidade, principal complicação do tratamento com o quimioterápico. Nesse sentido, a suplementação de ácido graxo ômega-3 poderia ser uma estratégia de atenuação desta complicação, uma vez que está relacionado com a modulação do perfil lipídico³. **Objetivo:** Avaliar a influência da suplementação de ácido graxo ômega 3 no perfil lipídico de ratos tratados com doxorubicina. **Materiais e Métodos:** 58 ratos Wistar machos foram alocados em 4 grupos: Controle (C; n=14), Doxorubicina (D; n=16), Ômega 3 (W; n=14) e Doxorubicina + ômega 3 (DW; n=16). Os animais dos grupos W e DW receberam 400mg/kg/dia de ácido graxo ômega 3 comercial (Essential Nutrition®) durante 6 semanas via gavagem. Os animais dos grupos C e D receberam água filtrada no mesmo volume e pela mesma via de administração dos animais tratados. Os animais do grupo D e DW receberam doxorubicina 3,5kg/kg IP, uma vez por semana, totalizando 14mg/kg, a partir da 2ª semana de início do tratamento com ômega 3. Ao final das 6 semanas, os animais foram submetidos à eutanásia por meio de dose excessiva de tiopental (120mg/kg, IP), o sangue foi coletado e centrifugado para obtenção do soro, que foi armazenado a -80° C até o momento das análises. As concentrações séricas de colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL) e triglicérides (TG) foram quantificados por método enzimático calorimétrico (Bioclin, Minas Gerais, BR). A análise estatística foi realizada por ANOVA de duas vias, seguida de pós-teste de Holm-Sidak e foi considerada significância estatística de 5%. **Resultados e Discussão:** A administração de doxorubicina levou ao aumento das concentrações séricas de todas as frações lipídicas e a administração de ácido graxos ômega 3 não teve qualquer efeito no perfil lipídico (CT [C: 60,0 ± 7,72]; [D: 188 ± 108]; [W: 58,8 ± 12,2]; [DW: 251 ± 76,8] mg/dL; pD= <0,001, pW= 0,372, pi= 0,088; HDL-c [C: 27,3 ± 3,37]; [D: 45,1 ± 17,8]; [W: 27,2 ± 5,15]; [DW: 55,9 ± 18,0] mg/dL; pD= <0,001, pW= 0,241, p= 0,200; TG [C: 124 ± 33,0]; [D: 350 ± 253]; [W: 118 ± 53,0]; [DW: 601 ± 375] mg/dL; pD= <0,001, pW= 0,170, pi= 0,050). Apesar de não haver diferença estatisticamente significativa, a administração de ácido graxo ômega 3 concomitante ao tratamento com doxorubicina parece piorar o perfil lipídico desses animais, com aumento importante de CT e TG.

Conclusão: A administração de ômega 3 não foi capaz de atenuar a dislipidemia induzida pela doxorubicina.

Bibliografia:

¹Klinskova MG, Iushnikova EL, Koldysheva EV, et al. Cardiotoxic and Dyslipidemic Effects of Doxorubicin and Betulinic Acid Amide. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. v. 162(2):277-282, 2016.

²Ribeiro APD, Pereira AG, Todo MC, et al. Pera orange (*Citrus sinensis*) and Moro orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) juices attenuate left ventricular dysfunction and oxidative stress and improve myocardial energy metabolism in acute doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats. *Nutrition*. 91-92:111350, 2021.

³Masson W, Rossi E, Siniawski D, et al. Severe hypertriglyceridemia. Clinical characteristics and therapeutic management. *Clin Investig Arterioscler*. 30(5):217-223, 2018.

Agradecimentos: FAPESP (Processo nº 2018/25677-7).

Extrato da folha de bergamota reverte o quadro de síndrome metabólica em ratos Wistar

Palacio, TLN¹, Siqueira, JS², Nakandakare, ET², Baron, G³, Kano, HT², Aldini, G³, Corrêa, CR².

¹Graduação em Nutrição, Instituto de Biociências, UNESP-Botucatu, bolsa de iniciação científica FAPESP.

²Programa de Pós-Graduação em Patologia – UNESP/Botucatu.

³Università Degli Studi Di Milano- Milão- MI- Itália.

Introdução: A síndrome metabólica (SM) é um conjunto de fatores de risco cardiometabólicos representados pela obesidade central, hipertensão arterial, hiperglicemia e dislipidemias.¹ O fruto da Bergamota (*Citrus bergamia*) apresenta potencial terapêutico não farmacológico para a SM². No entanto, estudos mostram que, para algumas plantas, a composição fenólica da folha é semelhante à do fruto ou até mesmo mais rica ou superior. Estudo realizado por nosso grupo de pesquisa, mostrou que o extrato das folhas de Bergamota (Fo) é superior em compostos bioativos comparados ao extrato do fruto³. Sendo assim, como não existem trabalhos com as folhas desse citrus, é interessante investigar o efeito terapêutico dessa parte da planta na SM. **Objetivo:** Verificar o comportamento dos parâmetros que compõe a Síndrome Metabólica em resposta à administração do Fo. **Materiais e Métodos:** Ratos Wistar machos (n=40), com 30 dias foram distribuídos em dois grupos para receber de dieta controle (C; n=20) e dieta rica em açúcar e gordura (HSF; n=20) com sacarose na concentração de 25% durante 20 semanas. Após esse período, foi detectada a SM e então, os animais foram realocados aleatoriamente para receber dieta controle +placebo (C; n=9), dieta controle + Fo (C+ Fo; n=10), dieta HSF + placebo (HSF; n=10) e dieta HSF + Fo (HSF + Fo, n=10) por 10 semanas, totalizando 30 semanas de experimento. O Fo e o placebo (água potável) foram administrados por gavagem na concentração de 50mg/Kg. Foram avaliados os parâmetros da SM em 20 semanas para fins diagnóstico e em 30 semanas, para constatar o efeito do contra tratamento com Fo. Foi realizado teste *t* independente em 20 semanas e em 30 semanas, ANOVA *two-way* ou teste de Kruskal-Wallis. $p < 0,05$. **Resultados e discussão:** Na 20^a semana foi diagnosticada a SM demonstrada pela glicose de jejum (C:86,3±8,4 vs HSF:99,6±10,3 $p < 0,001$), triglicerídeos (C:85,3±43,5 vs HSF:155,7±70,3 $p < 0,001$) e pressão arterial sistólica (C:116,1±4,53 vs HSF:136,8±9,5 $p < 0,001$). Na 30^a semana, o tratamento com Fo diminuiu os níveis de glicose de jejum (HSF:103,5±5,9 vs HSF+Fo:89,5 ±7,2 $p = 0,006$) e triglicerídeos (HSF:126,25±24,1 vs HSF+Fo:85,0±20,5 $p < 0,001$), e ao mesmo tempo, aumentou os níveis de HDL-colesterol (HSF:19,5±3,0 vs HSF+Fo:24,3±3,02 $p < 0,001$). **Conclusão:** O extrato da folha de bergamota melhorou os parâmetros da síndrome metabólica, revertendo o quadro dessa doença. (CEUA: 1337/2019). **Bibliografia:**

¹Priest, C. & Tontonoz, P. Inter-organ cross-talk in metabolic syndrome. *Nat. Metab.* **1**, 1177–1188 (2019).

²Di Donna, L. *et al.* Statin-like Principles of Bergamot Fruit (*Citrus bergamia*): Isolation of 3-Hydroxymethylglutaryl Flavonoid Glycosides. *J. Nat. Prod.* **72**, 1352–1354 (2009).

³Baron, G. *et al.* Analytical Profile and Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Enriched Polyphenol Fractions Isolated from Bergamot Fruit and Leave. *Antioxidants* **10**, 141 (2021).

Agradecimentos: Apoio financeiro FAPESP.

Restrição proteica materna perinatal altera proteínas da via glicolítica no músculo sóleo de ratos adultos.

Lucas Lins Pereira ^{1*}, Jéssica Silvino Valente ², Luis Antônio Justulin Jr ³, Maeli Dal-Pai-Silva ³

¹ Graduação em Nutrição, Instituto de Biociências, UNESP - Botucatu, SP, bolsa de iniciação científica PIBIC CNPq.

² Pós-graduação em Biologia Geral e Aplicada, UNESP, Botucatu,

³ Professor, Departamento de Biologia Estrutural e Funcional-IBB/UNESP- Botucatu-SP,

Introdução: Os macronutrientes, em especial proteínas, possuem efeito direto no crescimento, reparo e manutenção de tecidos, sendo extremamente importantes em todas as fases de formação e desenvolvimento pelas suas funções estruturais e funcionais. A ingestão proteica materna inadequada em fases essenciais como na gestação e lactação, pode levar à programação fetal, trazendo consequências na prole à curto e longo prazo, afetando o peso corporal ao nascer, maior risco a doenças crônicas não transmissíveis na vida adulta como problemas cardíacos, reprodutores, síndrome metabólica, e alterações no tecido muscular esquelético¹. Assim, o melhor entendimento dos mecanismos alterados pelo aporte energético e proteico inadequados pela restrição proteica perinatal se faz necessário, visando a qualidade de vida e longevidade da prole. **Objetivo:** Esse estudo teve como objetivo avaliar as alterações morfológicas, gênica (mRNA de genes catabólicos) e proteômica (proteínas do metabolismo energético e lipídico) no músculo Sóleo (SOL) de ratos submetidos a restrição proteica materna gestacional e lactacional. **Materiais e Métodos:** Ratos machos foram divididos de acordo com as dietas normocalóricas maternas durante toda gestação e lactação em: Grupo Controle (GC) proveniente de mães que receberam dieta normoproteica (17%-controle), e Grupo Restrito (GR) proveniente de mães que receberam dieta hipoproteica (6%-restrito). No dia pós-natal (DPN) 21, todos os animais receberam dieta normoproteica e no DPN150, parâmetros anatômicos foram mensurados, os animais receberam a morte humanitária e amostras do músculo SOL foram coletadas e armazenadas adequadamente para análises: morfológica (Área de secção transversal - AST das fibras musculares, n=8), molecular (RT-qPCR, n=8) para marcadores catabólicos (*Mafbx* e *Murf1*) e proteômica (n=triplícata biológica e técnica), para investigar possíveis proteínas envolvidas com o metabolismo energético e lipídico. Foi considerado valor de p (valor de p<0.05 para *down*-reguladas e p>0.95 para *up*-reguladas) para determinar as proteínas diferencialmente expressas (PDE). Os termos enriquecidos envolvendo as PDE relacionadas ao metabolismo energético e lipídico foram selecionadas a partir da plataforma *Kobas* 3.0 levando em consideração o valor $-\log_{10}(padj) > 0,05 \geq 2.0$. **Resultados e Discussão:** Os animais do GR apresentaram menor peso corporal ao nascer e no DPN 150 observamos menor peso e gordura corporal. Observamos a diminuição do catabolismo muscular aos 150 dias, demonstrado pelo aumento na AST das fibras musculares acompanhada pela menor expressão gênica dos marcadores de *Mafbx* e *Murf1*. A análise proteômica mostrou 158 PDE, sendo 58 *up*-reguladas, 11 delas relacionadas com metabolismo energético e 9 com o metabolismo lipídico; 100 PDE se encontravam *down*-reguladas, com 27 envolvidas com o metabolismo energético e 4 com o metabolismo lipídico. Proteínas relacionadas à β -oxidação de ácidos graxos estavam super expressas nos animais do GR, envolvendo proteínas relacionadas ao transporte de Acil-CoA mitocondrial (DBi) e enzimas responsáveis por esse processo (HADH e ACADS), enquanto a via glicolítica e o ciclo do ácido cítrico estavam desreguladas negativamente devido a grande quantidade de enzimas envolvidas em ambos os processos (PFKM, ALDOA, TPI, GAPDH, PGK1, PGAM2, ENO, PKM, CS, ACO2)². **Conclusão:** A restrição proteica materna diminuiu o peso corporal dos animais não havendo recuperado após a normalização da dieta, diminuiu o catabolismo muscular, desregulou negativamente a via glicolítica e aumentando a β -oxidação de ácidos graxos no músculo SOL.

Bibliografia:

¹ HANSON, M. The birth and future health of DOHaD. *Jornal of. Dev. Orig. Health Dis*, v.6, p.434–437, 2015.

² ALMEIDA, M.A et al. Proteomic investigation of the effects of weight loss in the gastrocnemius muscle of wild and NZW rabbits via 2D-electrophoresis and MALDI-TOF MS. *Animal Genetics*, v.41, n.3, p. 260-72, 2009.

Agradecimentos: Apoio financeiro: CAPES (bolsa de doutorado).