

## **AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO DE LIPÍDIOS, DE GLICOGÊNIO E DO ESTADO OXIDATIVO DO FÍGADO DE RATOS OBESOS TRATADOS DIARIAMENTE COM GOJI BERRY (*Lycium barbarum*)**

Vanessa Lara Rissi Sabino (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Luiz Geovani França, Isabela Ramos Mariano, Márcia do Nascimento Brito (Co-orientadora), Rosângela Fernandes Garcia (Orientadora), e-mail: rfgarcia@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá, PR.

### **Ciências Biológicas II – Fisiologia dos órgãos e sistemas**

**Palavras-chave:** Metabolismo hepático, esteatose, Goji berry.

### **Resumo**

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do extrato de Goji berry (GB) sobre parâmetros hepáticos de ratos machos alimentados com dieta padrão (CON) ou dieta rica em carboidratos simples (dieta HC). Aos 90 dias de idade, os animais receberam administração intragástrica de solução veículo (CON e HCD) ou solução com GB (CONGB e HCDGB), por 60 dias. Aos 150 dias de idade foram avaliados o ganho de peso corporal e conteúdos de lipídios, glicogênio e estado oxidativo hepáticos. A dieta HC promoveu aumento no ganho de peso corporal, esteatose, estresse oxidativo e redução dos níveis de GSH mitocondrial e citosólico hepáticos. O tratamento com extrato de GB reduziu, nos animais alimentados com dieta HC, o ganho de peso corporal, a esteatose, o estresse oxidativo, enquanto promoveu aumento no conteúdo de glicogênio e tendência de elevação de GSH citosólico, tornando o GB um importante adjuvante no tratamento da síndrome metabólica.

### **Introdução**

A obesidade vêm atingindo níveis alarmantes em todas as populações, principalmente na idade adulta e está associada a várias desordens metabólicas, dentre as quais destacam-se diabetes mellitus tipo 2 e doenças cardiovasculares. Alguns suplementos naturais tem seu uso incentivado por nutrólogos no auxílio da redução de gordura, dentre eles o *Lycium barbarum*, da família Solanaceae, conhecido popularmente como Goji berry (GB). Rico em aminoácidos, vitaminas, minerais, ácidos graxos insaturados, polissacarídeos e antioxidantes, possui ainda uma ampla variedade de efeitos benéficos, tais como: hipoglicemiante, hipolipemiante, anti-envelhecimento, modulador do sistema imune, anti-cancerígeno, etc (Amagase H. & Farnsworth, 2011). Estudos anteriores realizados por nós mostraram efeitos benéficos do GB na redução de ganho de peso corporal,

na participação do fígado em seu efeito hipoglicemiante e na redução de depósitos de gordura. Considerando que o fígado é um órgão central de regulação da homeostase energética em geral e da homeostase glicêmica em particular e é um alvo central de fatores neurais e hormonais que controlam o metabolismo energético, mais estudos se fazem necessário para avaliar a participação deste órgão no efeito do GB sobre os parâmetros da síndrome metabólica. Com base nos resultados previamente obtidos por nosso grupo, nos propomos avaliar o efeito do tratamento diário de GB sobre parâmetros hepáticos, tais como o conteúdo de lipídios, glicogênio e o estado oxidativo, em ratos machos submetidos a dieta rica em carboidratos.

### Materiais e métodos

O extrato de GB foi preparado em Farmácia de Manipulação na concentração de 250mg/mL. A dissolução do GB foi feita utilizando-se uma solução veículo de sorbitol líquido contendo propilenoglicol, metilparabeno e goma xantana. Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar, submetidos à fotoperíodo e temperatura controlados. Os protocolos de experimentação foram aprovados pela Comissão de Ética sob o protocolo nº 4373180216 - CEUA. Animais com 21 dias de vida (desmame) foram distribuídos em dois grupos experimentais: animais controle alimentados com dieta regular (CON) e animais alimentados com a dieta rica em carboidratos (HC), com livre acesso a alimento e água. Aos noventa dias de idade os animais dos dois grupos foram subdivididos em outros dois grupos (n=7): **CON** - alimentados com dieta padrão que receberam solução veículo; **CONGB** - alimentados com dieta padrão que receberam extrato de GB; **HCD** - alimentados com a dieta HC que receberam solução veículo e **HCDGB** - alimentados com dieta HC que receberam extrato de GB. A administração oral foi feita por meio de gavagem gástrica, por 60 dias consecutivos. O peso corporal foi avaliado no vigésimo primeiro dia (desmame) e ao final do tratamento aos 150 dias, quando, após jejum de 12 horas, foram anestesiados com pentobarbital sódico (40 mg/Kg de peso corporal + lidocaína 5 mg/ml, ip) e submetidos a laparotomia para remoção do fígado e avaliação do estado redox pela mensuração de espécies reativas de oxigênio (EROs), glutatona reduzida (GSH) mitocondrial e citosólica e peroxidação lipídica. O conteúdo de lipídios hepáticos foi avaliado por método gravimétrico e a análise histoquímica para avaliação do percentual de glicogênio intracelular foi realizada com auxílio do programa Image Pró-Plus® 4.5 (Media Cybernetics).

Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão (EP) empregando-se o programa Graphpad Prism-Versão 5.0, avaliados por meio de Análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 5%.

### Resultados e Discussão

Animais alimentados com dieta HC apresentaram maior ganho de peso corporal em relação aos animais CON (497,60  $\pm$  14,70 vs 386,95  $\pm$  6,36). O

tratamento com extrato de GB foi capaz de reduzir o ganho de peso corporal apenas nos animais alimentados com dieta HC ( $449,60 \pm 8,20$ ). O ganho de peso corporal ocasionado pela dieta HC pode ser atribuído ao maior índice de adiposidade destes animais, conforme previamente avaliado em estudos anteriores, já que os mesmos apresentaram redução de massa muscular. O extrato de GB reduziu o índice de adiposidade nestes animais, sem alteração no consumo diário de alimento, ratificando o efeito no menor ganho de peso.

A dieta HC promoveu aumento dos conteúdos de triglicerídeos e lipídios totais do fígado, configurando um quadro de esteatose. O tratamento com extrato de GB foi eficaz em reduzir os níveis de triglicerídeos e reverter os conteúdos de lipídios totais de animais HCD, sem promover alteração nestes parâmetros nos animais CON. Houve uma discreta redução dos níveis de colesterol com o tratamento nos animais HCDGB, embora não significativa. Conforme previamente avaliado, animais alimentados com dieta HC apresentam distúrbios metabólicos, dentre elas a resistência à insulina, o que leva a um aumento na lipólise do tecido adiposo e de ácidos graxos livres (AGL) circulantes, que sobrecarregam o fígado se não forem oxidados (Mittendorfer et al., 2016). Este maior aporte de AGL no fígado aumenta a síntese de TGA e a produção/exportação de VLDL levando a hipertrigliceridemia. Além disto, dietas ricas em carboidratos induzem a lipogênese *de novo* hepática, através da elevada glicólise e posterior conversão a AGL no citosol, contribuindo para a deposição de gordura *in situ* e levando a uma esteatose massiva (Silva-Santi et al., 2016). Nossos resultados mostraram que a reversão na esteatose foi acompanhada por uma melhora na RI, além de reduzir o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, conforme previamente observado pela reversão do índice aterogênico.

A análise do estado redox do fígado onde foram avaliados a geração de EROs e o conteúdo de GSH mitocondrial e citosólico, mostra que a produção de EROs foi 170,88% maior no grupo HCD que no controle e o tratamento foi eficaz em reverter este parâmetro. Os conteúdos de GSH tanto mitocondrial quanto citosólico foram reduzidos no grupo HCD, e não foram restaurados com o tratamento, apresentando apenas um discreto aumento no GSH citosólico. Ao avaliarmos a peroxidação lipídica, por meio da quantificação de MDA, observamos que embora a dieta HC não tenha afetado este parâmetro, o tratamento com extrato de GB reduziu significativamente quando comparado aos demais grupos. Estudos mostraram que a esteatose no fígado está associada ao estresse oxidativo, incluindo à elevada produção de EROs mitocondrial, redução dos conteúdos de GSH mitocondrial e citosólico, elevada peroxidação lipídica e reduzida atividade de enzimas antioxidantes. A atividade antioxidante do GB pode ser explicada pela presença de compostos fenólicos, ácidos orgânicos e vitaminas. Outro importante efeito do extrato de GB foi evitar os danos celulares induzidos pela geração de EROs, como observado pela redução nos níveis de MDA em fígados de ratos tratados com dieta HC.

O conteúdo de glicogênio hepático não diferiu nos animais alimentados com dieta HC, mas aumentou com o tratamento de GB. Estes resultados não foram compatíveis com avaliação prévia do conteúdo de glicogênio realizado através da técnica de perfusão de fígado *in situ*, tanto basal quanto estimulada por glucagon. Acreditamos que a falta de experiência na metodologia de histoquímica possa ter influenciado nestes resultados. Pois, na condição de resistência à insulina, característica da dieta HC, a síntese de glicogênio hepática se encontra elevada devido a supressão do efeito inibitório da insulina sobre a gliconeogênese. Entretanto, o tratamento com extrato de GB suprimiu a gliconeogênese por diminuir a expressão de RNAm de enzimas chave desta via, fosfoenolpiruvato carboxiquinase e glicose-6-fosfatase, enquanto aumenta a síntese de glicogênio (Yang et al., 2014).

### Conclusão

O tratamento com extrato de GB foi capaz de promover melhora em parâmetros da síndrome metabólica promovida pela dieta HC, reduzindo o ganho de peso corporal, a esteatose, o estresse oxidativo com aumento do conteúdo de glicogênio hepático, tornando o GB um importante adjuvante no tratamento da síndrome metabólica.

### Agradecimentos

Agradecemos a Fundação Araucária pelo apoio financeiro através da concessão de bolsa de estudos.

### Referências

Amagase, H.; Farnsworth, N. R. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of *Lycium barbarum* fruit (Goji). Food Research International, v. 44, n. 7, p. 1702-1717, 2011.

Mittendorfer, B.; Yoshino, M.; Patterson, B. W.; Klein, S. VLDL triglyceride kinetics in lean, overweight, and obese men and women. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, v. 101, n. 11, p. 4151-4160, 2016.

Silva-Santi, L. G; Antunes, M. M; Caparroz-Assef, S. M; Carbonera, F.; Mais, L. N.; Curi, R.; Bazotte, R. B. Liver fatty acid composition and inflammation in mice fed with high-carbohydrate diet or high-fat diet. Nutrients, v.8, n. 11, p. 682, 2016.

Yang, Y.; Li, W.; Li, Y.; Wang, Q.; Gao, L.; Zhao, J. Dietary *Lycium barbarum* polysaccharide induces Nrf2/ARE pathway and ameliorates insulin resistance induced by high-fat via activation of PI3K/AKT signaling. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2014, 2014.