

ANÁLISE HISTOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA DE TECIDOS DE ANIMAIS OBESOS TRATADOS COM UMA FRAÇÃO ANTIOXIDANTE DA *STEVIA REBAUDIANA*

Letícia Ferreira Barbosa (PIBIC-CNPq), Silvano Piovan, Cecília Edna Mareze da Costa (Orientadora); e-mail: cemcosta@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá (UEM) /
Departamento de Ciências Fisiológicas (DFS) / Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: 2.07.02.05-1 Fisiologia Endócrina

Palavras-chave: *redução de ninhada*, dieta hiperlipídica, diabetes.

Resumo:

A fração de acetato de etila (FAE) extraída das folhas da *Stevia rebaudiana* possui alta capacidade antioxidante, apresenta conteúdo rico em proteínas e em compostos fenólicos e estimula a secreção de insulina. Considerando a importância destes efeitos e a estreita associação entre obesidade e diabetes, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da FAE na adiposidade corporal e nas adaptações compensatórias morfofuncionais de ilhotas pancreáticas de ratos obesos. Foram utilizados ratos machos Wistar em dois modelos experimentais de obesidade, um induzido por dieta hiperlipídica e outro por redução de ninhada. Os animais receberam o tratamento com FAE (5 mg/Kg/dia; sonda esofágica) dos 90 aos 120 dias de idade. Durante o período de tratamento, foram registrados o consumo alimentar e o peso corporal. Após a eutanásia, foi realizada a retirada do pâncreas para análises histológicas e, em seguida, retirados e pesados os depósitos de gorduras periepídica, retroperitoneal e mesentérica e o músculo gastrocnêmio. Ratos com obesidade induzida por redução de ninhada que receberam o tratamento com FAE consumiram menos alimentos, ganharam menos peso corporal e apresentaram menor adiposidade, quando comparados com o grupo controle. Nenhum efeito do tratamento com a FAE foi constatado nos animais HFD. Devido à pandemia causada pela Covid-19, as atividades laboratoriais foram suspensas e, infelizmente, não foi possível finalizar às análises histológicas previstas.

Introdução

Propriedades antiobesidade e antidiabética são atribuídas a extratos e a compostos isolados da planta *Stevia rebaudiana* (CARREIRA-LANESTOSA, 2017). A investigação de propriedades funcionais de diferentes extratos de folhas de stevia determinou que a FAE possui alta capacidade antioxidante, apresenta conteúdo rico em proteínas e em compostos fenólicos e estimula

a secreção de insulina na presença de concentrações altas de glicose (PIOVAN et al, 2018). Considerando a importância destes efeitos e a associação entre obesidade e diabetes, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da FAE na adiposidade corporal e nas adaptações compensatórias morfofuncionais de ilhotas pancreáticas de ratos obesos.

Materiais e métodos

Modelos experimentais e tratamento:

A FAE foi obtida conforme método descrito por Piovan et al (2018). Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA – 9019210717) da Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizados dois modelos de obesidade induzida: I) por redução de ninhada (SL): após o nascimento, as ninhadas foram divididas em 2 grupos: Ninhada Controle com 9 lactantes por rata mãe ($n=3$); Ninhada Reduzida, com 3 lactantes por rata mãe ($n=8$). Com 90 dias de idade, os animais foram subdivididos em 4 grupos: Ninhada Controle (NL) ($n=13$); Ninhada Controle Tratada (NLT) ($n=14$); Ninhada Reduzida Controle (SL) ($n=12$); Ninhada Reduzida Tratada (SLT) ($n=12$). II) induzido por dieta hiperlipídica (HFD): 40 ratos Wistar machos, com 90 dias de idade foram divididos em 4 grupos: Controle (NFD) ($n=10$); Controle Tratado (NFDT) ($n=10$); HFD Controle (HFD) ($n=10$); HFD Tratado (HFDT) ($n=10$). Em ambos os modelos experimentais os animais receberam o tratamento com FAE (5mg/Kg/dia; sonda esofágica) dos 90 aos 120 dias de idade.

Parâmetros avaliados:

Durante o período de tratamento, foram registrados o consumo alimentar e o peso corporal. Após a eutanásia, foi realizada a retirada do pâncreas para análises histológicas e, em seguida, retirados e pesados os depósitos de gorduras periepídimal, retroperitoneal e mesentérica e o músculo gastrocnêmio. Os pâncreas foram removidos, fixados solução de Bouin por 24 horas e submetidos a desidratação em concentrações crescentes de álcool (80%, 90% 100), diafanização em xilol e inclusão em parafina. O tecido foi cortado em um micrótomo para obter seções de 6 μ m de espessura. Para a realização da imunohistoquímica, o processo de imunocoloração, visando a marcação da insulina, incluiu estágios de hidratação, bloqueio endógeno da peroxidase, reação primária de anticorpos, coloração contra hematoxilina de Meyer e, finalmente, montagem de lâminas de Permount. Para a captura das imagens está sendo utilizado um microscópio óptico Olympus América e o programa Q Capture Pro. As imagens serão analisadas com o Image Pro Plus, version 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, MD. A captura das imagens e as análises não puderam ser finalizadas devido ao isolamento social exigido pela pandemia causada pela Covid-19.

Análise estatística:

Os dados foram expressos como média±erro padrão e submetidos ao teste two-way ANOVA com pós-teste de Tukey (Prisma® versão 7.0), nível de significância de 5%.

Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra o maior consumo alimentar dos grupos HFD e SL quando comparados com os grupos controle. O tratamento com FAE reduziu significativamente este parâmetro nos ratos obesos induzidos por redução de ninhada (SL), mas não causou efeito significativo nos animais obesos HFD.

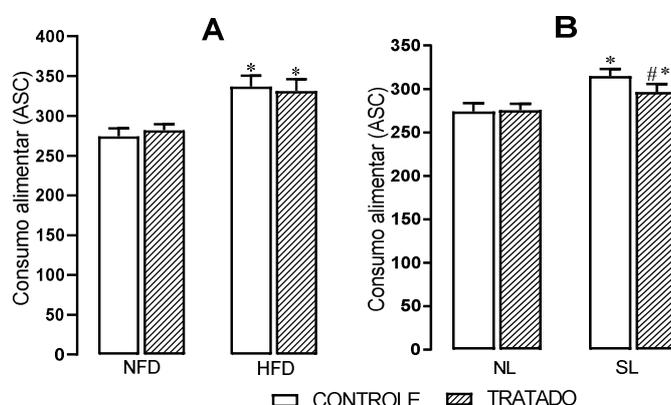


Figura 1. Área sob a curva do consumo alimentar (Kcal/dia). **A)** Obesidade induzida por dieta hiperlipídica (HFD); **B)** Obesidade induzida por redução de ninhada (SL). * $p < 0,05$ difere dos ratos não obesos; # $p < 0,05$ difere dos ratos não tratados.

Na Figura 2 observa-se que os grupos HFD e SL apresentaram peso corporal significativamente maior que dos animais controle. O tratamento com a FAE reduziu o ganho de peso no grupo SL, sem efeito significativo no grupo HFD.

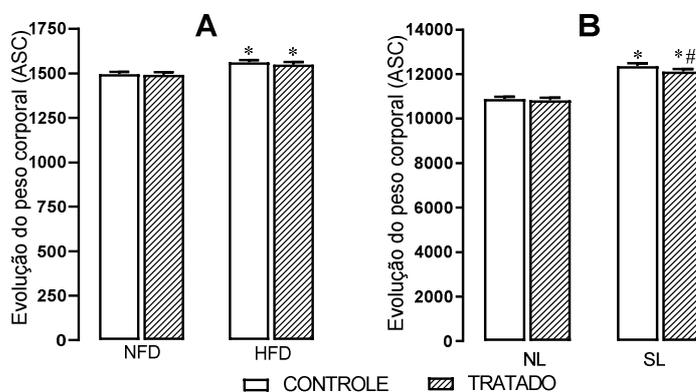


Figura 2. Área sob a curva da evolução do peso corporal **A)** Obesidade induzida por dieta hiperlipídica (HFD); **B)** Obesidade induzida por redução de ninhada (SL). * $p < 0,05$ difere dos ratos não obesos; # $p < 0,05$ difere dos ratos não tratados.

A análise da adiposidade corporal, representada pelos pesos dos depósitos de gordura retroperitoneal, periepididimal e mesentérica, e da massa magra, representada pelo peso do músculo gastrocnêmio, mostram, conforme Tabela 1, que tanto o modelo HFD como o modelo SL foi eficiente em induzir obesidade, pois os grupos HFD e SL apresentaram quantidades significativamente maiores de tecido adiposo, quando comparados aos grupos controle. O tratamento com a FAE diminuiu os depósitos de gordura retroperitoneal e mesentérica no modelo SL, mas não teve efeito significativo no modelo de obesidade induzida por dieta HFD. Animais obesos HFD apresentaram redução na massa magra (peso do músculo gastrocnêmio) e o tratamento com FAE não alterou significativamente este parâmetro.

Tabela 1. Peso (g) dos depósitos de gordura e do músculo gastrocnêmio.

Grupos	Gordura			Músculo
	Retroperitoneal	Periepididimal	Mesentérica	Gastrocnêmio
NFD	9,36g ±1,48	8,19g ±0,62	9,96g ±0,84	1,36g ±0,83
NFDT	9,20g ±0,95	8,66g ±0,63	9,97g ±1,14	1,38g ±0,44
HFD	12,97g ±1,46*	10,94g ±1,30*	13,10g ±1,99*	1,26g ±0,95*
HFDT	12,68g ±1,41*	10,36g ±1,06*	12,34g ±0,93*	1,19g ±1,08*
NL	9,42g ±1,48	8,71g ±0,75	9,83g ±1,21	1,42g ±1,16
NLT	9,70g ±1,23	8,54g ±1,05	9,71g ±1,09	1,39g ±1,06
SL	12,77g ±2,20*	10,61g ±1,74*	12,35g ±1,57*	1,40g ±0,78
SLT	9,91g ±1,31#	10,31g ±1,71*	10,09g ±1,76#	1,38g ±1,23

*p<0,05 difere dos ratos não obesos; # p<0,05 difere dos ratos não tratados.

Conclusões

Ratos com obesidade induzida por redução de ninhada que receberam o tratamento com FAE consumiram menos alimentos, ganharam menos peso corporal e apresentaram menor adiposidade, quando comparados com o grupo controle. Nenhum efeito do tratamento com a FAE foi constatado nos animais HFD. Devido à pandemia causada pela Covid-19, as atividades laboratoriais foram suspensas e, infelizmente, não foi possível finalizar às análises histológicas previstas.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Ao Nepron (DBQ-UEM) por fornecer a fração testada. À profa. Raquel Marçal Natali e ao grupo técnico do laboratório de Histologia do Departamento de Ciências Morfológicas da UEM, pelo apoio para a realização da histologia.

Referências

PIOVAN, S.; PAVANELLO, A.; PEIXOTO, G. M. L.; MATIUSSO, C. C. I.; DE MORAES, A. M. P.; MARTINS, I. P.; MALTA, A.; PALMA-RIGO, K.; FRANCO, C. C. S.; MILANI, P. G.; DACOME, A. S.; DA COSTA, S. C.; MATHIAS, P. C. F.; MAREZE-COSTA, C. E. Stevia Nonsweetener Fraction Displays an Insulinotropic Effect Involving Neurotransmission in Pancreatic Islets. *International Journal of Endocrinology*, v. 2018, 2018.

29º Encontro Anual de Iniciação Científica
9º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



29 a 31 de outubro de 2020

CARRERA-LANESTOSA, A.; MOGUEL-ORDONEZ, Y.; SEGURA-CAMPOS, M. Stevia rebaudiana Bertoni: A Natural Alternative for Treating Diseases Associated with Metabolic Syndrome. **Journal of Medicinal Food**, v.20, n.10, p. 933:943, 2017.