

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA D₃ SOBRE O METABOLISMO HEPÁTICO DE RATOS OBESOS

Sabrina Rodrigues Vichetti (PIBIC-AF-IS-CNPq/FA/UEM), Maiara Mikuska Cordeiro (coorientadora), Jurandir Fernando Comar (Orientador), e-mail: jfcomar@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área e sub-área do conhecimento: Ciências Biológicas/Bioquímica.

Palavras-chave: Obesidade, dieta de cafeteria, gliconeogênese hepática.

Resumo:

A obesidade caracteriza-se pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, a qual está associada com diversas desordens metabólicas, tais tem sido associada com baixos níveis de vitamina D₃ (colecalfiferol). Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito da suplementação de vitamina D₃ sobre algumas alterações metabólicas no fígado de ratos obesos. Ratos Wistar com 50 dias de idade foram divididos em 2 grupos (n=12): Controle (CON), que receberam dieta padrão balanceada para roedores e dieta de cafeteria (WD), cuja é altamente calórica. Aos 90 dias de idade, os animais foram separados em tratados ou não com vitamina D₃ (n=6). A suplementação foi realizada por 40 dias, dos 90 aos 130 dias de idade, com dose de 5.600UI/semana. Os níveis hepáticos e séricos de triglicerídeos e colesterol mostraram-se aumentados no grupo WD comparados com os CTL e WD-VD (p<0,05), assim como as enzimas AST e ALT no grupo WD(p<0,0001). Os incrementos da gliconeogênese hepática a partir de lactato apresentam glicose e piruvato maior em animais WD comparados aos WD-VD (p<0,05). Já o consumo de oxigênio nesse grupo mostrou-se menor que os animais do grupo CTL e WD-VD (p<0,0001). Com esses dados sugerimos que a suplementação com vitamina D₃ tem auxiliado para atenuar os efeitos da obesidade. No entanto, faz-se necessárias maiores pesquisas para esclarecer em quais pontos exatamente essa vitamina atua dentro do metabolismo energético.

Introdução

A obesidade, segundo a Organização Mundial da Saúde é definida através do índice de massa corporal (IMC) e considera-se que há sobrepeso quando este índice é maior que 25 kg/m² e obesidade quando o IMC é maior que 30 kg/m² (OMS, 2018). A obesidade é um importante fator de risco para o desenvolvimento de muitas doenças, principalmente cardiovasculares, mas também ligada a alguns tipos de câncer (LEE; LEE, 2014). A obesidade está associada a um aumento na liberação de ácidos graxos livres provenientes da lipólise da gordura visceral, que em grande quantidade na circulação portal hepática podem acentuar a síndrome metabólica e a resposta à insulina no fígado (RHEE et al., 2013). Recentemente, alguns estudos

demonstraram que a suplementação de Vitamina D3 em ratos alimentados com dieta hipercalórica reduzem os depósitos de gordura corporal (CORDEIRO et al., 2021). Assim, este estudo avaliou os efeitos da suplementação de vitamina D₃ sobre alterações metabólicas no fígado de ratos com obesidade induzida por dieta hipercalórica do tipo cafeteria.

Materiais e Métodos

Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (nº 5866200720). Ratos Wistar com 50 dias de idade foram divididos em 2 grupos (n=12): Controle (CON), que receberam dieta padrão balanceada para roedores e dieta de cafeteria (WD), cuja é altamente calórica. Aos 90 dias de idade, os animais foram separados em tratados ou não com vitamina D₃ (n=6). A suplementação foi realizada por 40 dias, dos 90 aos 130 dias de idade, com dose de 5.600UI/semana.

Para os experimentos de perfusão de fígado: no procedimento cirúrgico, os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de tiopental (100 mg/kg) + lidocaína (10 mg/Kg). Após a canulação do fígado o fluxo do líquido de perfusão através do fígado foi mantido constante por uma bomba peristáltica. O líquido de perfusão entra no fígado pela cânula portal e deixa o fígado pela cânula conectada à veia cava. Amostras do perfusado efluente serão coletadas a cada 2 minutos durante 60 minutos para a determinação de glicose e piruvato. Durante a cirurgia da perfusão foi coletado 5ml de sangue para análise do perfil lipídico e dano hepático. Os procedimentos realizados por perfusão foram: dosagens enzimáticas, determinação do consumo de oxigênio, avaliação da gliconeogênese, avaliação da glicogenólise. Os dados foram expressos como médias ± EPM e a significância estatística foi analisada usando o GraphPad Prism Software (versão 8.0) por meio de ANOVA ONE-WAY seguido de teste de Tukey (p < 0.05).

Resultados e Discussão

Os níveis plasmáticos no perfil lipídico de ratos WD apresentaram alterações, são elas, aumento de triglicerídeos, aumento de colesterol total, redução da fração de colesterol HDL e aumento da fração de colesterol LDL, diferenças essas observadas com os animais CTL. Ratos tratados com dieta hipercalórica (WD) quando avaliado os níveis das enzimas AST e ALT, obtiveram valores de 73% e 65% acima dos níveis de animais CTL. Ratos WD-VD apresentaram redução de 41% em AST e 35% em ALT, diferentemente dos WD, os quais se apresentam elevados nestas enzimas. Em humanos, a suplementação de Vit D foi associada à redução das concentrações plasmáticas totais de CHOL, LDL e TG (DIBABA; 2019). Em ratos HFD, a suplementação dietética de Vit D (3300 UI/kg) teve efeito preventivo contra o aumento dos níveis totais de CHOL, LDL e TG provocados pelo diabetes induzido pela estreptozotocina (VRANIĆ., MIKOLAŠEVIĆ., MILIĆ; 2019).

A introdução da glicose no fígado perfundido de ratos em jejum estimulou a produção de glicose e piruvato em animais CTL e WD de forma diferente nos ratos suplementados com vitamina D3. O incremento na produção de glicose e piruvato foi

de cerca de quase 70% maior em ratos WD comparado com os ratos CTL. A produção de glicose foi 34% menor no fígado de ratos WD-VD comparados com os ratos WD. A produção de piruvato em ratos WD apresentou aumento de 35% em comparação aos ratos WD-VD. Já os níveis de oxigênio medidos, apresentaram redução de 30% comparados aos animais que dieta que receberam suplementação, além disso esses mesmos animais quando comparados com os ratos CTL apresentam uma redução de até 60% do oxigênio. Um estudo semelhante de Maeda Júnior et., 2018 indica que as alterações na produção hepática de glicose e piruvato são consequências de um complexo padrão de interação entre vias especificamente envolvidas no metabolismo de substratos e efetores gliconeogênicos (lactato, piruvato, glicerol e estearato) e sistemas reguladores.

Conclusões

Estes resultados em conjunto com outros de fluxos metabólicos hepáticos sugerem que uma condição de metabolismo descontrolada no grupo WD caracterizando o quadro de obesidade e, portanto, a suplementação com vitamina D₃ segundo nosso estudo possibilitou normalização da atividade gliconeogênica, também foi capaz de moderar os efeitos da obesidade, como reduzir o LDL, colesterol e triglicerídeos, reduzir a atividade AST e ALT. Maiores estudos sobre esse tema se faz necessário, mas os resultados deste estudo devem encorajar investigações adicionais sobre este tópico.

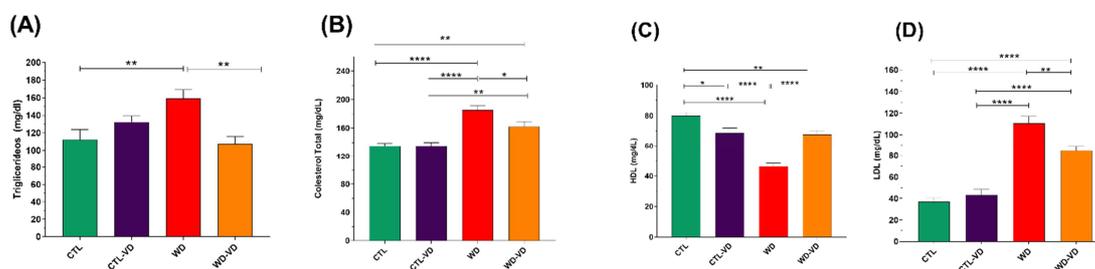


Figura 01- A suplementação com Vitamina D modifica o perfil lipídico plasmático em ratos obesos. Triglicerídeos (A), colesterol total (B), fração HDL (C), fração LDL (D) em CTL, CTL-VD, WD e WD-VD. Cada valor representa a média ± erro padrão da média de 8 animais. Valores com símbolos (*, **, *** e ****) são diferentes ($p < 0,05$).

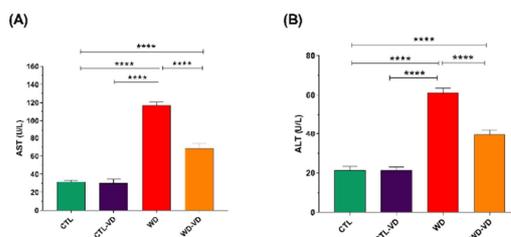


Figura 02- Dieta hipercalórica produz aumento de enzimas aspartato transaminase e alanina transaminase. Médias ± EPM AST (A), ALT (B) em CTL, CTL-VD, WD e WD-VD. Cada valor representa a média ± erro padrão da média de 8 animais. Valores com símbolos (*, **, *** e ****) são diferentes ($p < 0,05$).

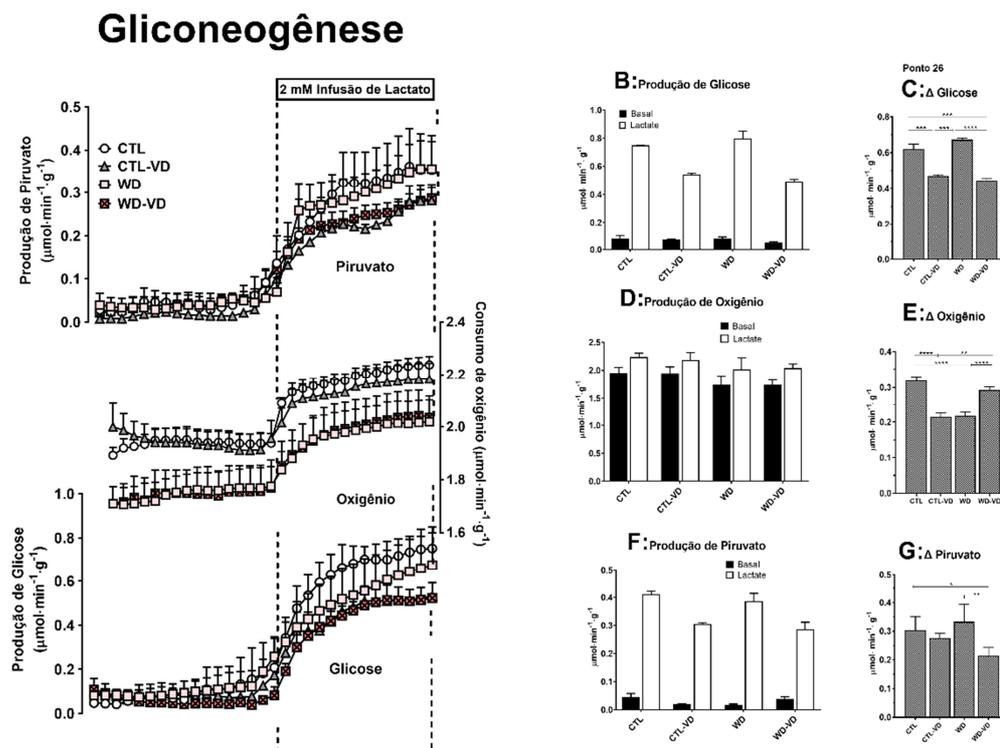


Figura 03- Efeitos do tratamento por 40 dias com vitamina D₃ sobre a gliconeogênese e consumo de oxigênio de fígado de rato isolado. Fígados de animais em jejum foram perfundidos com lactato 2mM conforme descrito em material e métodos. O perfusado efluente foi coletado a cada dois minutos para avaliação do conteúdo de piruvato e glicose. O consumo de oxigênio foi medido polarograficamente. Os valores de incremento de metabólitos (piruvato e glicose) e consumo de oxigênio, foram calculados pela diferença do tempo 26 (steady-state do lactato) e tempo 10 (basal, ausência do lactato), sendo todos representados com média ± erros padrão. Símbolos (*, **, ***, ****) indicam nas barras diferenças significativas p<0,05.

Agradecimentos

CNPq e Fundação Araucária de Apoio à Pesquisa do Estado do Paraná.

Referências

- DIBABA, D. T. Effect of vitamin D supplementation on serum lipid profiles: a systematic review and meta-analysis. **Nutrition reviews**, v. 77, n. 12, p. 890-902, 2019.
- MAEDA JÚNIOR, A. S., CONSTANTIN, J., UTSUNOMIYA, K. S., GILGLIONI, E. H., GASPARIN, F. R. S., CARREÑO, F. O., & CONSTANTIN, R. P. Cafeteria diet feeding in young rats leads to hepatic steatosis and increased gluconeogenesis under fatty acids and glucagon influence. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1571, 2018.
- VRANIĆ, L., MIKOLAŠEVIĆ, I., & MILIĆ, S. Vitamin D deficiency: consequence or cause of obesity?. **Medicina**, v. 55, n. 9, p. 541, 2019.