



EFEITO DA CIANIDINA-3-O-GLICOSÍDEO SOBRE A ABSORÇÃO DE TRIACILGLICERÓIS EM CAMUNDONGOS

Vitor Gomes Gonçalves (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Gustavo Henrique de Souza, Anacharis Babeto de Sá-Nakanishi (Orientador), e-mail: absnakanishi@uem.br.

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

Bioquímica - Metabolismo e Enzimologia

Palavras-chave: Antocianina, metabolismo, obesidade.

Resumo:

Nos últimos anos a obesidade tem se tornado um problema de saúde pública a nível mundial. Um trabalho recente, realizado por nosso grupo de pesquisa revelou que, o extrato hidroalcoólico da casca da *Myrciaria jaboticaba* foi capaz de inibir a atividade da lipase pancreática com uma IC₅₀ de 143,9ug/mL, e impediu a absorção de triacilgliceróis (TG) em camundongos, com IC₅₀ de 3,65 mg/Kg (CASTILHO et al., 2021). Em adição, este mesmo trabalho caracterizou o perfil de fenólicos do extrato, sendo o composto majoritário a antocianina cianidina 3-O-glucosídeo (C3G). Vários trabalhos tem relatado uma associação positiva entre C3G e a melhora do perfil lipídico em animais com dieta hiperlipídica e hipercalórica. Desse modo, este projeto teve como objetivo central realizar um estudo paralelo e comparativo dos efeitos da cianidina-3-O-glicosídeo com resultados do extrato da casca da jabuticaba sobre a absorção de triacilgliceróis em camundongos. Para isso, foram avaliados uma curva de concentração de C3G sobre a atividade da lipase pancreática, como também o efeito de várias doses de C3G sobre o teste de tolerância ao azeite de oliva como também ao ácido oleico em camundongos. C3G inibiu fracamente a lipase, mas atuou como forte inibidor da absorção de TG pelas células do epitélio intestinal. De maneira semelhante C3G, também inibiu fortemente o aparecimento de TG após administração de glicerol+ácido oleico. Desse modo, o conjunto de resultados nos leva a concluir que, o principal mecanismo envolvido sobre a inibição da absorção de TG não resulta da inibição da lipase, mas sim de um comprometimento no processo de transporte de ácidos graxos pelas células do epitélio intestinal.

Introdução

A obesidade é uma desordem metabólica com acúmulo excessivo de gordura corporal e relacionado a várias comorbidades, como por exemplo o diabete tipo 2 (GALLAGHER & LEROITH, 2015). Compostos naturais têm sido explorados como potenciais ferramentas seguras no tratamento da obesidade. Estudos já publicados e realizados pelo nosso grupo de pesquisa revelaram que o extrato da casca da jabuticaba, rico em cianidina-3-O-glicosídeo (C3G), inibiu a enzima lipase pancreática como também a absorção de triacilgliceróis em camundongos

(CASTILHO et al., 2021). Outros trabalhos revelaram que a C3G foi capaz de reduzir os níveis de triglicerídeos circulantes e melhora o quadro que caracteriza a síndrome metabólica de animais submetidos a dieta hiperlipídica e hipercalórica (BHASWANT et al., 2015).

Desse modo, o presente trabalho avaliou a ação da C3G sobre a atividade da lipase e da absorção de triacilgliceróis pelas células intestinais.

Materiais e Métodos

A Cianidina-3-O-glucosídeo (98% pura) foi adquirida pela Biopurify Phytochemicals Ltd (Chengdu, China) e o Orlistat de uma farmácia de manipulação local (Valdefarma®). Todos os reagentes utilizados foram de alto grau de pureza.

Ensaio *in vitro* do efeito de uma curva de concentração de C3G sobre a atividade da lipase pancreática foi determinada espectrofotometricamente (410nm), utilizando p-nitrofenil-palmitato como substrato.

Camundongos, linhagem Swiss, machos em jejum de 18h foram utilizados. C3G foi solubilizada em agua e administrada via gavagem nas doses de 0,2mg/Kg e 2,0mg/Kg. Controle receberam água nas mesmas condições. Orlistat (50mg/Kg) foi utilizado como droga inibidora padrão.

O efeito de uma curva de doses de C3G sobre a absorção intestinal de triglicerídeos foi avaliado por meio do teste de tolerância oral ao azeite de oliva (5mL/Kg). Triglicerídeos plasmáticos foi determinado com auxílio de um aparelho monitor de parâmetros séricos Accutrend Roche. O efeito de uma curva de doses de C3G sobre o transporte intestinal de triglicerídeos foi avaliado por meio do teste de tolerância oral ao ácido oleico. Ácido oleico (180µL) mais glicerol (20µL) foram administrados por via oral a todos os animais, e os níveis de triacilgliceróis foram quantificados ao longo de um intervalo de tempo de 6 horas conforme descrito por CASTILHO et al., 2021.

Resultados e Discussão

Primeiramente, foi realizado ensaios *in vitro* da atividade da lipase pancreática (Figura 1) na presença de uma curva de concentração de cianidina-3-O-glicosídeo até 412,5µM. A C3G inibiu de forma dose-dependente a lipase, e a maior concentração não foi possível inibir mais de 25% da lipase.

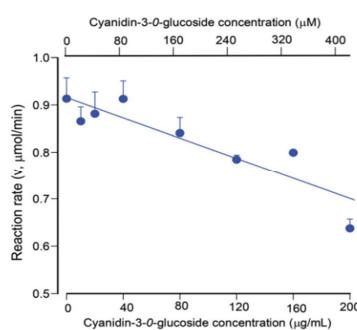


Figura 1- Inibição dose dependente da lipase pela cianidina3-O-glicosídeo. Cada ponto é a média de três determinações + erro padrão da média. A linha contínua foi calculada da relação $y = 0,916 - 0,000531x$ ($r = 0,91$; x corresponde ao concentração μM), obtido ajustando a equação que descreve o linha reta para os dados por meio de um procedimento de mínimos quadrados.

Ao comparar com os dados de inibição da lipase pelo extrato hidroalcoólico da casca da jabuticaba (CASTILHO et al., 2021), pode-se verificar que, por mais que a cianidina seja o composto majoritário do extrato, este fitoquímico não é o principal responsável pelo efeito inibitório da casca da jabuticaba.

Efeito de duas doses de C3G sobre absorção do TG estão representados na figura 2. A dose mais baixa (0,2mg/Kg), causou um aumento significativo de concentração de triglicerídeos plasmáticos 1 hora após administração do óleo. Porém, após o pico (1,5h) houve um rápido declínio com tendência a permanência abaixo do controle. A dose de 2,0 mg/Kg, por sua vez, claramente impediu o aparecimento de um pico de concentração de TG, mantendo-o sempre abaixo dos níveis do grupo controle. Quando estes dados foram analisados por meio da área sobre a curva (AUC) em relação a resposta às doses de C3G (painel B Da figura 2), a dose de 2,0mg/Kg apresentou uma clara redução da absorção de TG. Já na dose de 0,2mg/Kg, o efeito estimulatório parece predominar, embora não apresente diferença significativa.

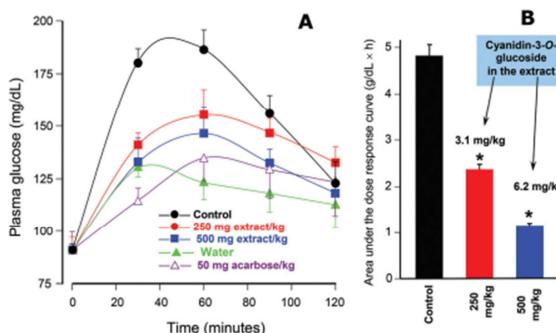


Figura 2- (A)Perfis de concentração plasmática de triglycerídeos após administração oral de azeite em camundongos: o efeito da cianidina-3-O-glicosídeo. A administração oral de azeite de oliva (5 mL kg⁻¹) foi feito imediatamente após a administração de C3G ou orlistat. Os triglycerídeos plasmáticos foram medidos conforme descrito em Materiais e métodos. Cada valor representa a média ± erro padrão médio de 3 animais. **(B)** Áreas sob as curvas obtidas após os diversos tratamentos com Extrato de *M. jaboticaba* ilustrado pelo painel (A) subtraído da área sob a curva obtida após a administração de água. Os asteriscos indicam significância estatística relativa à curva de controle ($p \leq 0,05$).

Estes resultados fortemente sugerem no mínimo um mecanismo adicional envolvido com a modificação da absorção do TG, pois a C3G atuou como fraco inibidor da lipase, mas forte inibidor da absorção de TG em doses que são consistentes com a concentração presente na casca da jabuticaba. Assim, a absorção de triglycerídeos pode estar sendo afetada por outro mecanismo além da atividade da lipase. Nesse sentido, foram realizados experimentos para avaliar a capacidade da C3G influenciar o processo de transporte de ácidos graxos (Tabela 1). Os dados foram expressos como a diferença entre os níveis basais e os níveis encontrados 90 minutos após a administração de ácido oleico e glicerol, com ou sem administração prévia da



cianidina-3-O-glicosídeo. Para ambas doses de C3G avaliada, foi observado um pequeno incremento nos níveis de trioleína, que foram muito abaixo da condição controle. Isto nos leva a acreditar que a C3G inibe fortemente o processo de absorção de ácidos graxos pelas células do epitélio intestinal.

Tabela 1. Aumentos de trioleína no plasma por 100 mL devido a cargas orais de ácido oleico e glicerol em camundongos. Asterisco (*) indica diferença significativa ($p<0,05$).

Cianidina-3-O-glucoside (mg kg ⁻¹)	Substratos	Trioleína no plasma após 90 minutos (mg dL ⁻¹)
-	ácido oléico (180µL) + glicerol (20 µL)	424,3 ± 28,8 (n = 4)
0,2	ácido oléico (180µL) + glicerol (20µL)	74,3 ± 50,0* (n = 3)
2,0	ácido oléico (180µL) + glicerol (20 µL)	43,0 ± 38,1* (n = 3)

Conclusões

Concluímos que, o principal mecanismo de inibição da absorção de TG pelas células do epitélio intestinal não está relacionado a inibição da lipase pancreática, mas sim a um ou mais passos envolvidos com transporte e que permitem a transformação do ácido graxo livre em TG no trato gastrointestinal. Devido as baixas doses ativas do extrato da jabuticaba e a alta concentração de C3G nesse extrato, é altamente favorável acreditar que esta antocianina seja uma das principais moléculas responsáveis pelo efeito antilipidêmico da casca da jabuticaba.

Agradecimentos

Ao programa PIBIC –UEM e ao Laboratório de Metabolismo Hepático da UEM (LMH).

Referências

BHASWANT, M. et al. **Cyanidin 3-glucoside improves diet-induced metabolic syndrome in rats**. Pharmacological Research, v. 102, p. 208–217, 1 dez. 2015.

CASTILHO, Pamela Alves et al. **Effects of a Myrciaria jaboticaba peel extract on starch and triglyceride absorption and the role of cyanidin-3-O-glucoside**. Food & Function, v. 12, n. 6, p. 2644-2659, 2021.

Gallagher, E.J., LeRoith, D. **Obesity and diabetes: the increased risk of câncer and cancer-related mortality**. Physiol. v. 95, n. 3, p. 727-748, 2015.