

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM VITAMINA D3 SOBRE O CATABOLISMO HEPÁTICO DO GLICOGÊNIO 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 subárea do conhecimento:** Ciências de Ciências Biológicas/Bioquímica.

**Palavras-chave:** Obesidade, colecalciferol, estresse oxidativo.

### RESUMO:

A obesidade está associada com aumento do estresse oxidativo, modificação da homeostase metabólica e recrutamento de mediadores inflamatórios que afetam diversos órgãos, como o fígado, que pode acumular lipídios e se tornar esteatótico. A obesidade tem sido associada com baixos níveis de vitamina D3 e, por isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação com este composto sobre o estresse oxidativo e os níveis hepáticos e plasmáticos de lipídios em ratos obesos. Ratos Wistar com 21 dias de idade foram divididos em 2 grupos: controles, que receberam dieta padrão e obesos, que receberam dieta hipercalórica. Aos 90 dias de idade, os animais foram tratados ou não com vitamina D3 por 40 dias na dose de 5.600 UI/semana e, posteriormente, avaliados para os conteúdos de lipídios e o estresse oxidativo hepático. Ratos obesos apresentaram maiores níveis de lipídios hepáticos e plasmáticos, assim como um aumentado estresse oxidativo hepático. A vitamina D3 diminuiu os níveis hepáticos e plasmáticos de lipídios e de melhorou alguns marcadores de estresse oxidativo hepático, como os níveis de glutathiona reduzida (GSH), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e espécies reativas de oxigênio (ROS). Estes resultados mostram que a suplementação com vitamina D3 pode ser uma possível alternativa para o tratamento da obesidade.

### INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica é um estado fisiológico que se caracteriza pelo aumento da obesidade abdominal, resistência à insulina, dislipidemia aterogênica (redução dos níveis de HDL associada ao aumento dos triglicerídeos), hipertensão e inflamação (GRUNDY et al., 2004). A obesidade, um dos fatores que compõe a síndrome metabólica, está associada com aumento do estresse oxidativo tecidual, modificação da homeostase metabólica e recrutamento de mediadores inflamatórios que afetam diversos órgãos, como o fígado, que pode acumular lipídios e se tornar esteatótico. A obesidade tem sido associada com baixos níveis de vitamina D3 e a suplementação de ratos obesos com esta vitamina promove redução dos depósitos de gordura no tecido adiposo (CORDEIRO et al., 2021). A vitamina D3, também

conhecida como colecalciferol, exerce papel como precursor hormonal. Após ser hidroxilada no fígado e nos rins, o colecalciferol é convertido na sua forma ativa, denominada 1,25-di-hidroxicolecalciferol (1,25-(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>). Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os impactos da suplementação com vitamina D<sub>3</sub> sobre as alterações hepáticas de ratos obesos. Especificamente, o presente estudo avaliou os efeitos da suplementação com vitamina D<sub>3</sub> sobre o perfil lipídico sérico e o conteúdo de lipídios e o estresse oxidativo no fígado de ratos com obesidade induzida por dieta hipercalórica do tipo cafeteria, ou Western Diet.

## MATERIAIS E MÉTODOS

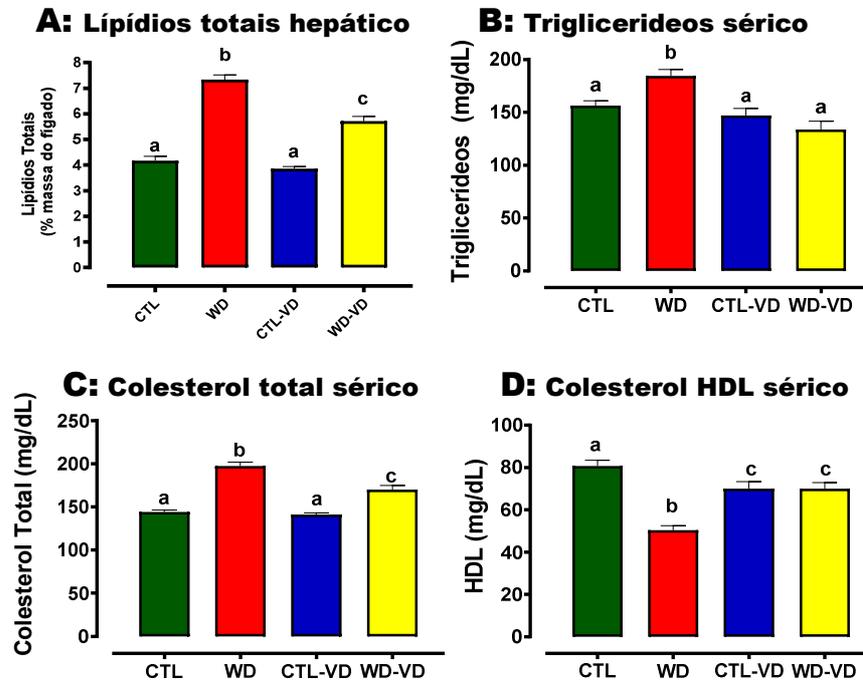
Ratos Wistar com 21 dias de idade foram divididos em 2 grupos: controles, que receberam dieta padrão e obesos, que receberam dieta hipercalórica. Aos 90 dias de idade, os animais foram tratados ou não com vitamina D<sub>3</sub> por 40 dias na dose de 5.600 UI/semana. Aos 131 dias, os animais em jejum de 12 h, anestesiados com tiopental (100 mg/kg i.p.), tiveram a cavidade abdominal exposta e o sangue coletado da veia cava. Na sequência, o fígado foi removido, clampeado em nitrogênio líquido e armazenado à -80°C para determinação do conteúdo lipídios e o estresse oxidativo. O soro foi separado do sangue por centrifugação e o perfil lipídico sérico determinado com kits comerciais. Os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (nº 5866200720).

Alíquotas de fígado congelado tiveram os lipídios totais extraídos com uma mistura de clorofórmio:metanol (2:1) e quantificados por gravimetria. Para avaliar o estresse oxidativo, amostras de fígado congelado foram homogeneizadas em Dounce com tampão fosfato 0,1 M (pH 7,4). Uma alíquota do homogenato foi separada para determinar os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) por espectrofotometria (532 nm), e glutathiona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) por espectrofluorimetria ( $\lambda_{ex} = 350$  nm e  $\lambda_{em} = 420$  nm) com o-ftalaldeído. O restante do homogenato foi centrifugado 11.000g por 15 min e o sobrenadante utilizado para determinar os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) por espectrofluorimetria ( $\lambda_{ex} = 504$  nm e  $\lambda_{em} = 529$  nm) usando 2,7-diclorofluoresceína (DCFH) [BIAZON et al., 2016] e a atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase (SOD) por espectrofotometria. Os dados foram expressos como médias  $\pm$  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).

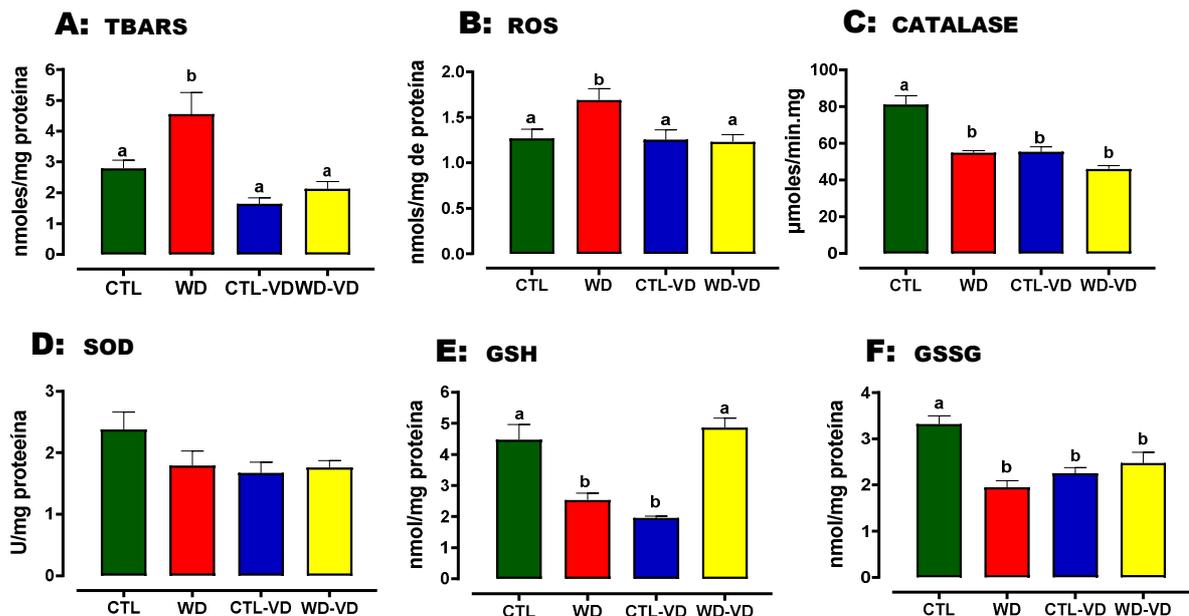
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra o conteúdo de lipídios totais no fígado e o perfil lipídico sérico. Os animais obesos (WD) apresentaram conteúdo hepático de lipídios 80% maior que os animais controles (CTL). O tratamento com vitamina D<sub>3</sub> não alterou estes valores nos animais controles (CTL-VD), mas reduziu os níveis de lipídios no fígado de animais obesos (WD-VD) em 25%. O conteúdo de triglicerídeos e colesterol total séricos foram respectivamente 20% e 37% maiores em WD (comparados com CTL)

e o tratamento com vitamina D3 reestabeleceu estes níveis para valores iguais ao CTL.



**Figura 1** – Efeitos da vitamina D3 sobre o conteúdo de lipídios totais no fígado (A), e os níveis séricos de triglicerídeos (B), colesterol total (C) e colesterol HDL (D). CTL: controles; WD: obesos; CTL-VD: controles tratados; WD-VD: obesos tratados. Os valores são a média ± EPM de 6 animais. Valores com letras sobrescritas diferentes são estatisticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).



**Figura 2** – Efeitos da vitamina D3 sobre o estresse oxidativo no fígado de ratos obesos. CTL: controles; WD: obesos; CTL-VD: controles tratados; WD-VD: obesos tratados; TBARS: substâncias

reativas ao ácido tiobarbitúrico; SOD: superóxido dismutase; GSH e GSSG: glutathiona reduzida e oxidada. Os valores são a média  $\pm$  EPM (n = 6). Valores com letras sobrescritas diferentes são diferentes (p<0.05).

O colesterol HDL foi 40% menor em WD se comparado ao CTL e o tratamento com vitamina D3 aumentou estes valores em 40%. A este respeito, a vitamina D3 tem sido reportada melhorar o perfil lipídico sérico por estimular a expressão de gene-2 induzido por insulina (Insig-2), que por sua vez inibe SREBP-2 e a síntese de colesterol (DIBABA, 2019).

A Figura 2 ilustra o estado oxidativo no fígado de ratos. Os níveis de TBARS e ROS foram respectivamente 60% e 33% maior no fígado de WD (comparados à CTL) e a vitamina D3 reestabeleceu os valores para os níveis de CTL. A atividade da SOD não foi alterada pela obesidade e pelo tratamento. A atividade da catalase foi diminuída pela obesidade, mas não modificada pelo tratamento. Os níveis de GSH e GSSG foram diminuídos no fígado de WD por cerca de 50%. A vitamina D3 aumentou os níveis de GSH para valores iguais ao CTL, mas não melhorou os níveis de GSSG. Isto deveria aumentar a razão GSH/GSSG, um marcador antioxidante que deve estar diminuindo o estresse oxidativo no fígado de ratos obesos tratados com vitamina D3.

## CONCLUSÕES

O tratamento de ratos obesos com vitamina D3 diminui o conteúdo de lipídios hepático e melhora o perfil sérico de triglicerídeos e colesterol. O tratamento também diminui o estresse oxidativo hepático de ratos obesos e a causa pode ser o aumento de GSH.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária e ao CNPq.

## REFERÊNCIAS

BIAZON, A. C. B.; WENDT, M. M. N.; CASTRO-GHIZONI, C. V.; SOARES, A. A.; SILVEIRA, S. S.; SÁ-NAKANISHI, A. B.; PERALTA, R. M.; BRACHT, A.; COMAR, J. The in vitro antioxidant capacities of hydroalcoholic extracts from roots and leaves of *Smallanthus sonchifolius* (Yacon) do not correlate with their in vivo antioxidant action in diabetic rats. **J. Biosci. Med.**, v. 4, p. 15-27, 2016. Doi: 10.4236/jbm.2016.42003

CORDEIRO, M. M.; BISCAIA, P. B.; BRUNOSKI, J.; RIBEIRO, R. A.; FRANCO, G. C. N.; SCOMPARIN, D. X. Vitamin D supplementation decreases visceral adiposity and normalizes leptinemia and circulating TNF- $\alpha$  levels in western diet-fed obese rats. **Life Sci.**, v. 278, p. 119550, 2021. Doi: 10.1016/j.lfs.2021.119550

GRUNDY, S. M.; BREWER, H. B. Jr; CLEEMAN, J. I.; SMITH, S. C. Jr; LENFANT, C. American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood

32º Encontro Anual de Iniciação Científica  
12º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



23 e 24 de Novembro de 2023

Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. **Circulation**, v. 109, p. 433-438, 2004. doi: 10.1161/01.CIR.0000111245.75752.C6