

## CONSUMO DE FARINHA DO BAGAÇO DE UVAS PREVINE A LIPOPEROXIDAÇÃO EM FÍGADO DE ANIMAIS SUBMETIDOS AO MODELO DE DIABETES MELLITUS TIPO 2

RAPHAELA CASSOL PICCOLI<sup>1</sup>; WILLIAM SANABRIA SIMÕES<sup>2</sup>; SOLANGE VEGA CUSTÓDIO<sup>3</sup>; KELEN CRISTIANE MACHADO GOULARTE<sup>4</sup>; FRANCIELI MORO STEFANELLO<sup>5</sup>; REJANE GIACOMELLI TAVARES<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [raphaelacassol@gmail.com](mailto:raphaelacassol@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [williamsimoest@gmail.com](mailto:williamsimoest@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [solangevegacustodio@gmail.com](mailto:solangevegacustodio@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [kelenqf@gmail.com](mailto:kelenqf@gmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [fmstefanello@gmail.com](mailto:fmstefanello@gmail.com)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – [tavares.rejane@gmail.com](mailto:tavares.rejane@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), que representa a maior parte dos casos de diabetes, tem aumentado em prevalência globalmente (AHMAD *et al.*, 2022). Essa condição crônica resulta da disfunção das células  $\beta$ -pancreáticas, levando à hiperglicemia persistente devido à deficiência parcial na secreção de insulina e resistência à insulina (RI) (IDF, 2021). A hiperglicemia persistente e as alterações lipídicas observadas em pacientes com DM2 podem desencadear o estresse oxidativo (EO) devido ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). O EO, caracterizado pelo desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, pode agravar a DM2 e causar danos em proteínas e lipídios (KHUTAMI *et al.*, 2022).

Portanto, a busca por alternativas terapêuticas com capacidade de modular o EO torna-se necessária para o tratamento da DM2, bem como prevenção de suas complicações. Nesse contexto, a farinha do bagaço de uva (FBU), obtida após processamento do bagaço (BU), tem sido estudada como possível alternativa, pois apresenta nutrientes, fibras solúveis e insolúveis, e compostos antioxidantes (AVERILLA *et al.*, 2019). No presente estudo, focamos nas variedades 'Arinto' e 'Touriga Nacional', amplamente cultivadas na União Europeia, que são conhecidas por suas características aromáticas e palatáveis devido à composição fenólica e de terpenóides (PEIXOTO *et al.*, 2018). Ademais, as FBU dessas castas apresentam significativa aceitação na avaliação sensorial como ingredientes em produtos de panificação (PALMA *et al.*, 2020).

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial antioxidante da FBU das castas 'Arinto' (FBUB) e 'Touriga Nacional' (FBUT) em fígado de ratos submetidos a um modelo experimental de DM2.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1. Protocolo experimental e animais

As FBUs foram preparadas a partir da secagem e moagem dos BU, de acordo com PALMA *et al.* (2020). Os BU foram disponibilizados pela Adeia Cooperativa Carmim, do município de Reguengos de Monsaraz, região do Alentejo, Portugal. O protocolo de indução experimental de DM2 foi baseado na oferta de dieta hiperlipídica (DHL) durante 28 dias associado com injeção intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) (35mg/kg) em dose única no 21º dia (SRINIVASAN *et al.*, 2005). Foram utilizados 40 ratos Wistar machos adultos que foram separados aleatoriamente em 5 grupos: Grupo CT (dieta padrão + água), Grupo DM2 (DHL +

STZ + água); Grupo Met (DHL + STZ + Metformina (Met) (250mg/kg)), Grupo FBUB, (DHL + 10% FBUB + STZ + água) e Grupo FBUT (DHL+ 10% FBUT+ STZ + água). A água e a Met foram administrados por via intragástrica uma vez ao dia durante todo período experimental. Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEUA 033578/2022-14).

## 2.2. Avaliação de marcadores de estresse oxidativo

O tecido hepático foi homogeneizado em tampão fosfato de sódio 20 mM, contendo 140 mM de KCl (pH 7,4) e centrifugado a 3500 rpm por 5 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi utilizado para avaliar os níveis de ERO (ALI *et al.*, 1992), conteúdo tiólico total (AKSENOV & MARKESBERY, 2001), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (OHKAWA *et al.*, 1979) e nitritos (STUER & NATHAN, 1989).

## 2.3. Análise estatística

A análise dos dados foi efetuada no programa estatístico GraphPad Prism 8.0.1 por ANOVA de uma via, seguida do Teste *post hoc* de Tukey, considerando  $P < 0.05$  como diferença significativa. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão (S.E.M).

# 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

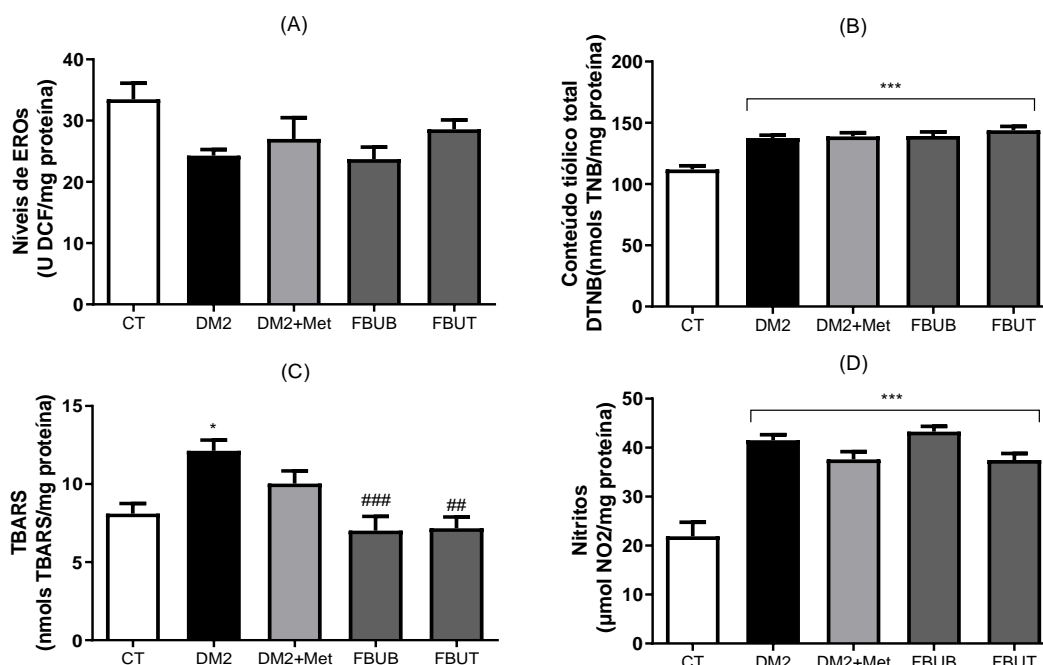
Ao analisarmos os níveis de ERO, é possível observar que nenhuma alteração significativa foi encontrada ( $P > 0,05$ ) (Figura 1A). Em relação aos níveis de conteúdo tiólico total, pode-se observar um aumento significativo deste nos grupos diabéticos (DM2, DM2+Met, FBUB e FBUT) ( $P < 0,001$ ) (Figura 1B). De maneira a corroborar com o presente estudo, SOUZA *et al.* (2019) observaram que a suplementação dietética de FBU foi capaz de prevenir os danos hepáticos, devido à redução da produção excessiva de ERO e à melhoria da atividade do sistema de defesa antioxidante enzimática e não-enzimático em um modelo de dano hepático.

Na Figura 1C é possível observar que a administração de DHL+STZ levou a um aumento significativo na concentração de TBARS no grupo DM2, ( $P < 0,01$ ) no entanto, o tratamento com FBUB ou FBUT foram capazes de reverter tal alteração, prevenindo a lipoperoxidação ( $P < 0,001$  e  $P < 0,01$ , respectivamente) (Figura 1C). Esses resultados estão de acordo com o estudo realizado por SCHMATZ *et al.* (2012), onde o tratamento com resveratrol em animais induzidos ao DM2 com administração de STZ foi capaz de impedir o aumento da peroxidação lipídica causado pelo modelo experimental e, desta forma, proteger as membranas e tecidos sensíveis à lipoperoxidação. De acordo com a literatura, a peroxidação lipídica pode ser influenciada pela disponibilidade de lipídios periféricos, de forma que a capacidade antihiperlipidêmica dos constituintes fenólicos da uva possam contribuir para tal efeito (GONÇALVES *et al.*, 2018).

Ademais, em relação aos níveis de nitritos, é possível observar um aumento significativo destes nos grupos diabéticos (DM2, DM2+Met, FBUB e FBUT), indicando uma possível disfunção no equilíbrio *redox* associado ao óxido nítrico (ON), o qual não foi mitigado pelos tratamentos com Met, FBUB ou FBUT ( $P > 0,001$ ) (Figura 1D). Resultados semelhantes aos do presente estudo foram descritos por BELVIRANLI *et al.* (2012), que demonstrou que a suplementação com extrato de semente de uva aumentou os níveis hepáticos de ON em grupos com DM2. O ON exerce papéis diversos em diferentes contextos biológicos e pode ter efeitos pró-

apoptóticos ou anti-apoptóticos. O STZ, por sua vez, atua como doador de ON, o que pode contribuir para o seu mecanismo de ação, desempenhando um papel mediador na destruição das células  $\beta$  (WANG *et al.*, 2022).

Embora seja a bioatividade mais notável das FBU, as propriedades antioxidantes de seus compostos fenólicos ainda não são completamente compreendidas. Essas propriedades desempenham um papel fundamental na primeira linha de defesa contra os danos causados pelo excesso de radicais livres, proporcionando proteção às estruturas celulares contra danos oxidativos e, assim, reduzindo o risco de doenças associadas ao EO (PEIXOTO *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2019). Considerando que o BU, uma mistura complexa rica em conteúdo de fibras e compostos fenólicos, foi capaz de evitar alterações relacionadas com o EO em tecido hepático diabético, especulamos que a ingestão regular deste subproduto da indústria vinícola, na forma de FBU, pode ser considerada um adjuvante na terapia de pacientes com doenças metabólicas.



**Figura 1:** Efeitos do tratamento com farinha do bagaço de uva 'Arinto' ou 'Touriga Nacional' nos níveis hepáticos de espécies reativas de oxigênio (A), conteúdo tiólico total (B), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (C) e nitritos (D) em ratos submetidos a um protocolo de indução experimental de DM2. Os dados estão representados como média  $\pm$  E.P. (n =4-7). \*\*\* representa  $P < 0,001$ , e \* representa  $P < 0,05$  quando comparado ao grupo CT. ### representa  $P < 0,001$ , ## representa  $P < 0,01$  quando comparado ao grupo DM2. CT, controle; DM2, Diabetes *Mellitus* tipo 2; EROs, espécies reativas de oxigênio, FBUB, farinha do bagaço de uva 'Arinto', FBUT, farinha do bagaço de uva 'Touriga Nacional', Met, metformina, TBARS, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

#### 4. CONCLUSÕES

Em virtude do exposto, pode-se inferir que a administração de FBU das castas 'Arinto' e 'Touriga Nacional' em animais submetidos ao modelo de DM2, através do uso combinado de DHL+STZ, demonstrou eficácia na prevenção da lipoperoxidação no tecido hepático. Sendo assim, embora apresentem promissores efeitos antioxidantes, é pertinente propor estudos complementares para validar os efeitos deste subproduto na prevenção de DM2 e suas complicações.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, E. *et al.* Type 2 diabetes. **Lancet**. v.400, n. 10365, p.1803-1820, 2022.
- AKSENOV, M.Y.; MARKESBERY, W.R. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. **Neuroscience Letters**, v. 302, p. 141-145, 2001.
- ALI, F.; LEBEL, P.; BONDY, C. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**. v.13, n.1, p. 637-648, 1992.
- AVERILLA, J. N. *et al.* Potential health benefits of phenolic compounds in grape processing by-products. **Food Science and Biotechnology**. v.28, n.6, p.1607-1615, 2019.
- BELVIRANLI, M. *et al.* Oxidative stress and anti-oxidant status in diabetic rat liver: Effect of plant polyphenols. **Archives of Physiology and Biochemistry**. v. 118, n.5, p. 237-243, 2012.
- GONÇALVES, L. K. *et al.* Grape Juice Consumption with or without High Fat Diet during Pregnancy Reduced the Weight Gain and Improved Lipid Profile and Oxidative Stress Levels in Liver and Serum from Wistar Rats. **Beverages**. v.4, n.4, p.1-14.
- IDF. **DIABETES ATLAS 10th Edition 2021**. International Diabetes Federation. Disponível em: <<https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDFAtlas10thEdition2021.pdf>>. Acessado em: 10 set. 2023.
- KHUTAMI, C. *et al.* The Effects of Antioxidants from Natural Products on Obesity, Dyslipidemia, Diabetes and Their Molecular Signaling Mechanism. **International Journal of Molecular Sciences**. v.23, n.4, p.1-23, 2022.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, p. 351-358, 1979.
- PALMA, M.L. *et al.* Preliminary sensory evaluation of salty crackers with grape pomace flour. **Biomedical and Biopharmaceutical Research**. v.17, n.1, p. 33-43, 2020.
- PEIXOTO, C. M. *et al.* Grape pomace as a source of phenolic compounds and diverse bioactive properties. **Food Chemistry**, v. 253, p.132-138, 2018.
- SRINIVASAN, B. *et al.* Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. **Pharmacological Research**, v. 52, p. 313-320, 2005.
- STUEHR, D.J.; NATHAN, C.F. Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. **Journal of Experimental Medicine**, v. 169, p. 1543-1555, 1989.
- SCHMATZ, R. *et al.* Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. **Biochimie**. v. 94, n.2, p. 374-383, 2012.
- WANG, Q. *et al.* Capsaicin Alleviates Vascular Endothelial Dysfunction and Cardiomyopathy via TRPV1/eNOS Pathway in Diabetic Rats. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 12, p.1-11, 2022.