

## EFEITO HIPOLIPIDÊMICO SÉRICO E ANTIOXIDANTE HEPÁTICO DA SUPLEMENTAÇÃO DIETÉTICA COM FARINHAS DE BAGAÇO DE UVAS EM MODELO EXPERIMENTAL DE DISLIPIDEMIA

MARIANE ORTIZ DE CANTOS<sup>1</sup>; RAPHAELA CASSOL PICCOLI<sup>2</sup>; SOLANGE VEGA CUSTODIO<sup>3</sup>; REJANE GIACOMELLI TAVARES<sup>4</sup>; JEAN PIERRE OSES<sup>5</sup>; ROSELIA MARIA SPANEVELLO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – marianeortiz142@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – raphaelacassol@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – solangevegacustodio@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – tavares.rejane@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – jeanpierreoses@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – rspanevello@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

A dislipidemia é uma condição metabólica caracterizada pelo desequilíbrio nos níveis de lipídios, podendo incluir o aumento das concentrações de colesterol total (CT), triglicerídeos (TG) e lipoproteína de baixa densidade (LDL-C), além da redução do colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C) (TRAUTWEIN & MCKAY, 2020). Esta condição é amplamente diagnosticada globalmente e constitui um importante fator de risco para doenças cardiovasculares (DCV) (BEBERICH & HEGELE, 2022).

O estresse oxidativo (EO), definido como o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a capacidade endógena de neutralizá-las, está diretamente relacionado à dislipidemia e ao desenvolvimento de DCV. O excesso de ERO intensifica os danos oxidativos, levando à formação de produtos finais da lipoperoxidação, como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Níveis elevados de TBARS, por sua vez, estão associados ao desenvolvimento de placas aterogênicas e complicações cardiovasculares (MEDINA-VERA *et al.*, 2021).

A busca por novas alternativas terapêuticas com efeito antioxidante tem sido um foco crescente de pesquisa. Nesse cenário, as farinhas do bagaço de uvas (FBU) ganham destaque, oferecendo uma solução sustentável para o aproveitamento do bagaço e uma fonte rica de fitoquímicos (PEREIRA *et al.*, 2024). Com suas propriedades antioxidantes e anti hiperlipidêmicas já comprovadas, elas se mostram promissoras para o desenvolvimento de terapias adjuvantes alternativas a insultos metabólicos (ALAMZA-OLIVEROS *et al.*, 2021). No presente estudo, concentramos nossa atenção nas variedades 'Arinto' e 'Touriga Nacional', amplamente cultivadas na União Europeia, que são especialmente ricas em compostos fenólicos, como as proantocianidinas e as antocianinas, respectivamente (PEREIRA *et al.*, 2024). Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da FBU Arinto e Touriga Nacional sobre o perfil lipídico sérico e parâmetros de EO em fígado de ratos Wistar machos submetidos a um modelo de dislipidemia induzida por Tyloxapol.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1. Protocolo de indução experimental de dislipidemia e animais

As FBUs foram preparadas a partir da secagem e moagem dos BU, de acordo com PALMA *et al.* (2020), foram disponibilizados pela Adega Cooperativa Carmim, do município de Reguengos de Monsaraz, região do Alentejo, Portugal.

O protocolo de indução experimental de Dislipidemia contou com a administração do surfactante não-iônico Tyloxapol (300 mg/kg) por via intraperitoneal em dose única (RAMOS *et al.*, 2020) no 80º dia do período experimental. Foram utilizados 40 ratos Wistar machos adultos que foram separados aleatoriamente em 5 grupos: Grupo controle (CTL) (dieta padrão e solução salina), Grupo DIS (dieta padrão e Tyloxapol i.p.); Grupo DIS+ORL (dieta padrão, Tyloxapol i.p. e Orlistate (ORL) (50 mg/kg, i.g.)), Grupo DIS+Arinto, (dieta padrão + 10% FBU Arinto e Tyloxapol i.p.) e Grupo DIS+Touriga Nacional (dieta padrão + 10% FBU Touriga nacional e Tyloxapol i.p.). No 81º dia do período experimental os animais foram eutanasiados por aprofundamento anestésico, seguido de punção cardíaca e amostras de soro e fígado foram coletadas e utilizadas nas análises posteriores. Os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEUA 033578/2022-14).

## 2.2. *Análise de perfil lipídico sérico*

Foram realizadas dosagens séricas de CT, TG, e HDL-C através de método enzimático colorimétrico, utilizando kits comerciais fornecidos pela BioClin® (BioClin, MG, Brasil).

## 2.3. *Análise de parâmetros de estresse oxidativo em fígado*

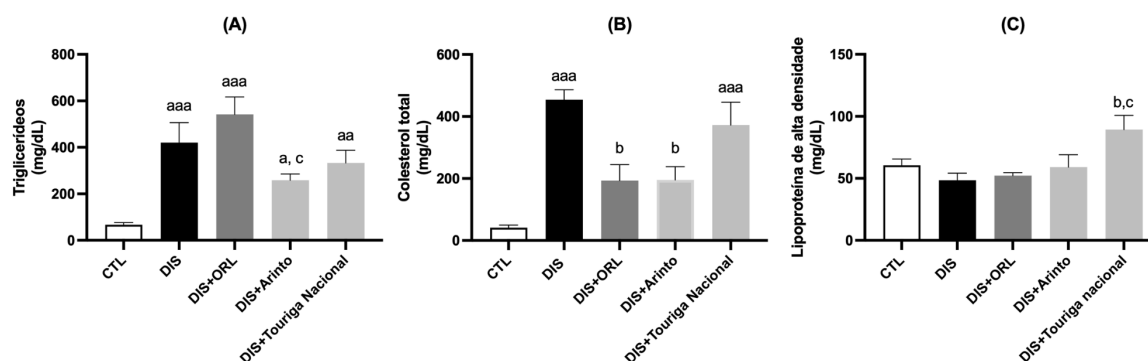
O tecido hepático foi homogeneizado em tampão fosfato de sódio 20 mM, contendo 140 mM de KCl (pH 7,4) e centrifugado a 3500 rpm por 5 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi utilizado para avaliar os níveis de EROs (ALI *et al.*, 1992), e TBARS (OHKAWA *et al.*, 1979).

## 2.4. *Análise estatística*

Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguida pelo teste *post hoc* de Tukey no software estatístico GraphPad Prism 10. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ . Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão.

# 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

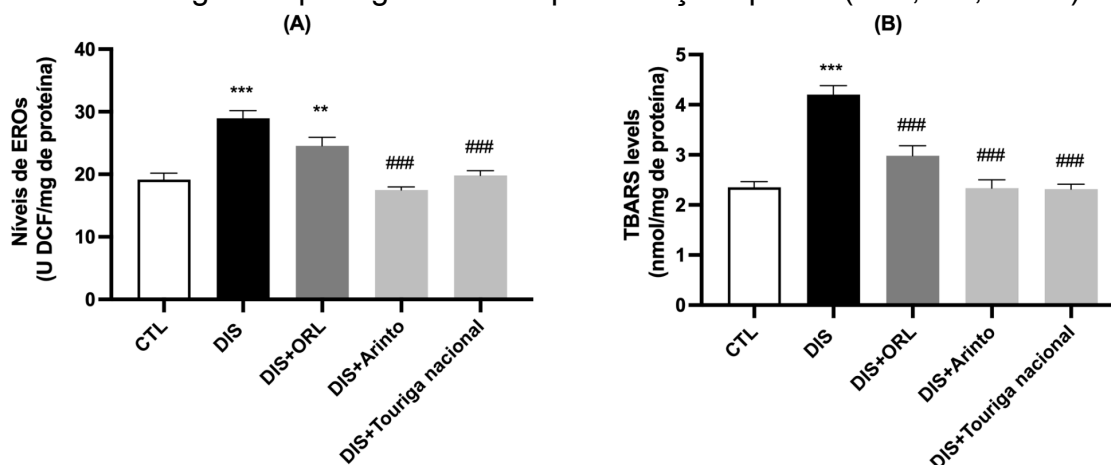
Os resultados referentes às análises bioquímicas séricas estão demonstrados na Figura 1. Inicialmente, foi possível observar que a administração aguda de Tyloxapol aumentou significativamente os níveis de TG nos grupos DIS, DIS+ORL, DIS+Arinto e DIS+Touriga Nacional ( $P < 0,001$ ,  $P < 0,001$ ,  $P < 0,05$  e  $P < 0,01$ , respectivamente) quando comparados ao grupo CTL (Fig. 1A). Por outro lado, o pré- tratamento com FBU Arinto demonstrou redução significativa deste parâmetro quando comparada ao grupo DIS+ORL ( $P < 0,05$ ). Ainda, o protocolo de indução experimental de dislipidemia causou um aumento significativo nos níveis de CT ( $P < 0,001$ ) no grupo DIS quando comparado ao grupo CTL, enquanto que os pré tratamentos com ORL e FBU Arinto foram capazes de proteger significativamente frente a este aumento ( $P < 0,05$ , ambos) (Fig. 1B). Por fim, o grupo DIS+Touriga Nacional apresentou um aumento significativo nos níveis de CT em comparação com o grupo CTL ( $P < 0,001$ ). Entretanto esse aumento se refletiu também em um aumento dos níveis de HDL-C em comparação com os grupos DIS e DIS+ORL, sugerindo um fator protetivo associado ao perfil de HDL ( $P < 0,05$ , ambos) (Fig. 1C).



**Figura 1:** Efeitos do tratamento com Orlistate e FBU Arinto ou Touriga nacional nos níveis séricos de TG (A), CT (B) e HDL-C (C) em ratos Wistar submetidos a um protocolo experimental de indução de Dislipidemia. Os dados são apresentados como média  $\pm$  erro padrão ( $n = 4-7$ ). aaa representa  $P < 0,001$ , aa representa  $P < 0,01$  e a representa  $P < 0,05$  em comparação com o grupo CTL. b representa  $P < 0,05$  em comparação com o grupo DIS e c representa  $P < 0,05$  em comparação com o grupo DIS+ORL. ANOVA de uma via seguida pelo teste *pos-hoc* de Tukey.

Os efeitos benéficos das FBU no perfil lipídico podem ser atribuídos à presença de compostos polifenólicos, como quercetina-3-O-glicuronídeo e catequina, encontrados em ambas as castas estudadas. Estes fitoquímicos atuam através de diversos mecanismos, incluindo a expressão de genes envolvidos na síntese lipídica, como a 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (HMGCR). Além disso, as fibras alimentares presentes nas FBU também contribuem para a redução da absorção intestinal de TG dietético (MEDINA-VERA *et al.*, 2021; ALMANZA-OLIVEROS *et al.*, 2024).

A avaliação de parâmetros de EO demonstrou que a exposição ao Tyloxapol levou a um aumento significativo nos níveis de EROS ( $P < 0,001$ ). No entanto, os pré-tratamentos com Orlistate, FBU Arinto e FBU Touriga Nacional foram capazes de proteger contra o aumento dos níveis de ROS induzido pelo protocolo experimental ( $P < 0,001$ , todos). Além disso, a indução experimental de dislipidemia aumentou significativamente os níveis de TBARS ( $P < 0,001$ ). Da mesma forma, os pré-tratamentos com Orlistate, FBU Arinto e FBU Touriga Nacional conseguiram proteger contra a peroxidação lipídica ( $P < 0,001$ , todos).



**Figura 2:** Efeitos do tratamento com Orlistate ou FBU 'Arinto' ou 'Touriga Nacional' nos níveis hepáticos de ROS (A) e TBARS (B) em ratos submetidos a um protocolo de indução experimental de Dislipidemia. Os dados estão

representados como média  $\pm$  erro padrão. (n =4-7). \*\*\* representa  $P < 0,001$ . e \* representa  $P < 0,05$  quando comparado ao CTL. ### representa  $P < 0,001$ , ## representa  $P < 0,01$  quando comparado ao grupo DIS. ANOVA de uma via seguida pelo teste *pos-hoc* de Tukey.

Os efeitos antioxidantes observados com a administração de FBU são cruciais para o manejo da dislipidemia, uma vez que o EO é uma das principais causas de danos ao endotélio vascular, contribuindo para a disfunção endotelial e o desenvolvimento da aterosclerose (TRAUTWEIN & MCKAY, 2020). Nesse contexto, os polifenóis dietéticos promovem mecanismos de defesa ao ativar o fator nuclear eritróide 2 relacionado ao fator nuclear 2 (Nrf2), o que leva à indução do sistema antioxidante enzimático endógeno. Além disso, esses compostos doam elétrons aos radicais livres, neutralizando-os e reduzindo os danos oxidativos às macromoléculas biológicas, o que pode atenuar a progressão da dislipidemia e os danos cardiovasculares (ALAMZA-OLIVEROS *et al.*, 2021; MEDINA-VERA *et al.*, 2021; PEREIRA *et al.*, 2024).

#### 4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a administração de FBU das variedades 'Arinto' e 'Touriga Nacional' demonstrou efeitos modulatórios tanto no perfil lipídico quanto na redução do EO, interrompendo o ciclo de retroalimentação entre dislipidemia e danos oxidativos. Embora esse subproduto apresente potencial terapêutico promissor para o tratamento e/ou prevenção de doenças metabólicas, são necessários estudos adicionais para confirmar seus efeitos na prevenção da dislipidemia e suas complicações.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAMZA-OLIVEROS, A. *et al.* Grape Pomace—Advances in Its Bioactivity, Health Benefits, and Food Applications. **Foods**, v.13, n.4, 2021.
- ALI, S. *et al.* Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**, v. 13, p. 637- 648, 1992.
- BERBERICH, A.J.; HEGELE, R.A. A Modern Approach to Dyslipidemia. **Endocrine Reviews**. V. 43, n.4, p. 611–653, 2022.
- MEDINA-VERA, I. Dietary Strategies by Foods with Antioxidant Effect on Nutritional Management of Dyslipidemias: A Systematic Review. **Antioxidants**. v.10, n.2, 2021.
- 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.
- PEREIRA, P. *et al.* Exploring the Benefits of Nutritional and Chemical Characteristics of Touriga Nacional and Arinto Varieties (*Vitis vinifera* L.). **Foods**. v.13, n.10, 2024.
- RAMOS, V.P. *et al.* Hypolipidemic and anti-inflammatory properties of phenolic rich *Butia odorata* fruit extract: potential involvement of paraoxonase activity, **Biomarkers**, v.25, n.5, p.417-424, 2020.
- TRAUTWEIN, E.A.; MCKAY, S. The Role of Specific Components of a Plant-Based Diet in Management of Dyslipidemia and the Impact on Cardiovascular Risk. **Nutrients**. v.12, p.1-21, 2020.