



**Aluna:** Betânia Paulina Silva

**Orientadora:** Dr<sup>a</sup> Adriana Souza Torsoni

## **EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE SILIMARINA DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE O METABOLISMO DA PROLE DE CAMUNDONGOS COM OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA**

### **RESUMO**

A obesidade é uma doença multifatorial, decorrente de um desbalanço entre o gasto e o consumo energético. A obesidade é capaz de afetar a qualidade de vida do indivíduo pois pode levar ao desenvolvimento de outras complicações metabólicas. Sabe-se que o período lactacional é considerado um estágio crítico do desenvolvimento, já que qualquer alteração neste momento, como obesidade materna e/ou ingestão de dieta rica em gordura pela mãe, podem ser responsáveis pelo desenvolvimento de distúrbios metabólicos na prole, desencadeados por fatores epigenéticos, que são alterações “em torno” do DNA capazes de induzir o que conhecemos como programação metabólica. Muitas dessas alterações afetam o metabolismo lipídico hepático, levando ao desenvolvimento de DHGNA. A Silimarina é um composto natural extraído do *Silybum Marianum*, que vem sendo utilizado como hepatoprotetor devido suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. O presente estudo buscou avaliar se a administração de Silimarina durante a lactação, em camundongos fêmeas com obesidade induzida por dieta, seria capaz de atenuar as alterações no metabolismo lipídico da prole decorrentes de uma exposição precoce a um ambiente obesogênico. Para isso, utilizamos camundongos fêmeas Swiss, que foram alimentadas com dieta controle ou dieta hiperlipídica (HFD) por 4 semanas para indução da obesidade, assim como durante a gestação e lactação. Durante a lactação, parte das fêmeas dos grupos controle e obesas recebeu Silimarina por via oral. A prole foi desmamada aos 21 e avaliada aos 28 dias de vida. Não observamos diferenças em relação ao peso e ingestão alimentar, nos níveis séricos de triglicérides e glicemia em jejum entre os grupos. A adiposidade e o colesterol sérico foram os mais afetados nas proles de mães obesas; que pode estar atribuído a uma desregulação metabólica. No entanto, não observamos diferenças significativas em nenhum parâmetro metabólico nos grupos em que as mães receberam Silimarina durante a lactação. No geral, os resultados sugerem que o veículo usado para administração da Silimarina (etanol) pode ter sido um viés que impossibilitou que os efeitos positivos associados a esse composto fossem observados na prole de mães obesas.

Palavras-chave: Obesidade, Metabolismo, Programação Metabólica, Silimarina.

### **INTRODUÇÃO**

A programação metabólica é um termo usado para designar o impacto sobre o metabolismo de um indivíduo que, durante os seus períodos críticos de desenvolvimento, como a gestação e a lactação, esteve propenso a desenvolver alterações metabólicas decorrentes de um ambiente adverso. Há alguns anos, estudos na literatura têm mostrado que a programação metabólica pode ser decorrente de alterações epigenéticas, as quais ocorrem em torno do DNA(epi), regulando a atividade do genoma, independente da sequência primária do DNA, e podem ter caráter hereditário. A epigenética faz o controle sobre os genes e regula os que devem estar ativos ou inativos por meio de três mecanismos, modificação de histonas, metilação do DNA, e o terceiro mecanismo baseado em RNA's não codificantes, como microRNAs. Sabe-se que tais mecanismos epigenéticos estão muito ativos na vida intrauterina e que podem ser alterados por fenômenos



ambientais (interação gene-ambiente), como a obesidade, sedentarismo, má alimentação, fumo e alcoolismo, impondo ao feto a necessidade de adaptar-se nesta condição, ativando ou inativando genes (Carrillo et al, 2018).

De fato, o consumo de dieta hiperlipídica durante o período gestacional e lactacional pode acarretar distúrbios no metabolismo da prole, como também pode acarretar uma maior expressão de genes codificadores de citocinas e adipocinas pró-inflamatórias, e que resultam em desregulação inflamatória e metabólica. Evidências certificam que alterações no ambiente intrauterino de mulheres obesas podem causar adaptações metabólicas nos fetos, com consequências imediatas ou tardias. Os recentes estudos tem demonstrado que a exposição ao ambiente nutricional sub-ótimo durante o desenvolvimento, como a excessiva ingestão de calorias ou deficiência materna de micronutrientes essenciais.

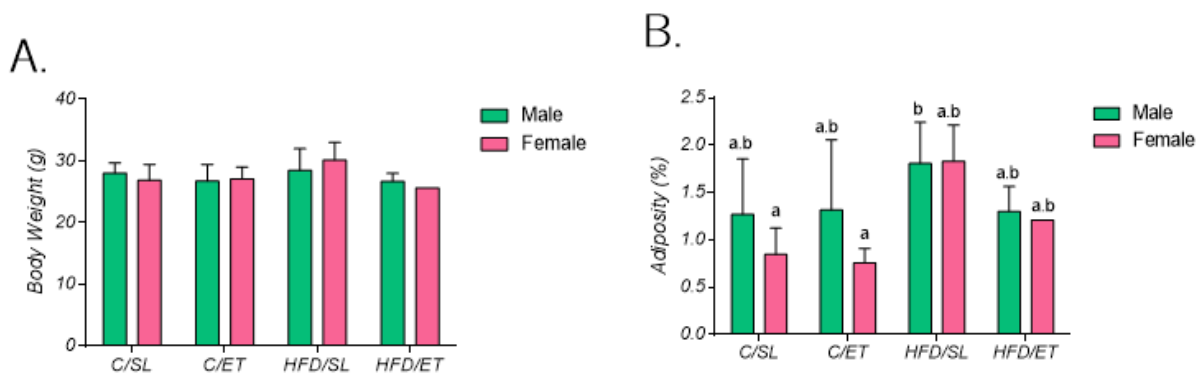
Intervenções nutricionais ou fitoterápicas que superem a possível programação metabólica diante os perigos que a prole está submetida em razão das mudanças no ambiente pré-natal e pós-natal, e as possíveis complicações que podem adquirir ao longo da vida, devido aos distúrbios da homeostase hepática, têm sido cada vez mais frequente. Dentro desse contexto, a Silimarina, um extrato do fruto *Silybum marianum*, ou cardo de leite, mostrou ser eficiente no tratamento de hepatopatias (cirrose, fibrose, hepatite crônica e doença hepática gordurosa não alcóolica) e/ou distúrbios no metabolismo, devido suas propriedades anti-oxidantes, anti-inflamatórias e anti-fibróticas. (Frederico et al., 2017).

A silimarina é um conjunto de compostos naturais, que consiste em sete flavonoglignanas e um flavanóide (taxifolina). Estudos de Karri et al. (2019) demonstraram que os flavanóides compõem a maioria dos fitoquímicos da planta e possuem efeito anti-obesogênico. Tais efeitos envolvem a modulação do perfil lipídico no sangue, regulação da produção lipídica de adipócitos e metabolismo lipídico no fígado.

Sabendo do potencial anti-inflamatório e hepatoprotetor da Silimarina, o objetivo do presente estudo foi verificar se a administração durante o período de lactação em camundongos com obesidade induzida por dieta, seria capaz de atenuar os distúrbios no metabolismo lipídico que a prole pode desenvolver ao longo da vida.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 28 dias de vida, observamos que não houve um aumento significativo do peso corporal da prole, quando comparado o grupo HFD aos demais grupos experimentais (Figura 1A). A prole de mães obesas apresenta uma tendência a um aumento na quantidade de tecido adiposo branco, porém, quando comparada à prole cujas mães foram tratadas com o veículo (etanol), não foi observada diferença estatística entre os grupos (Figura 1B).

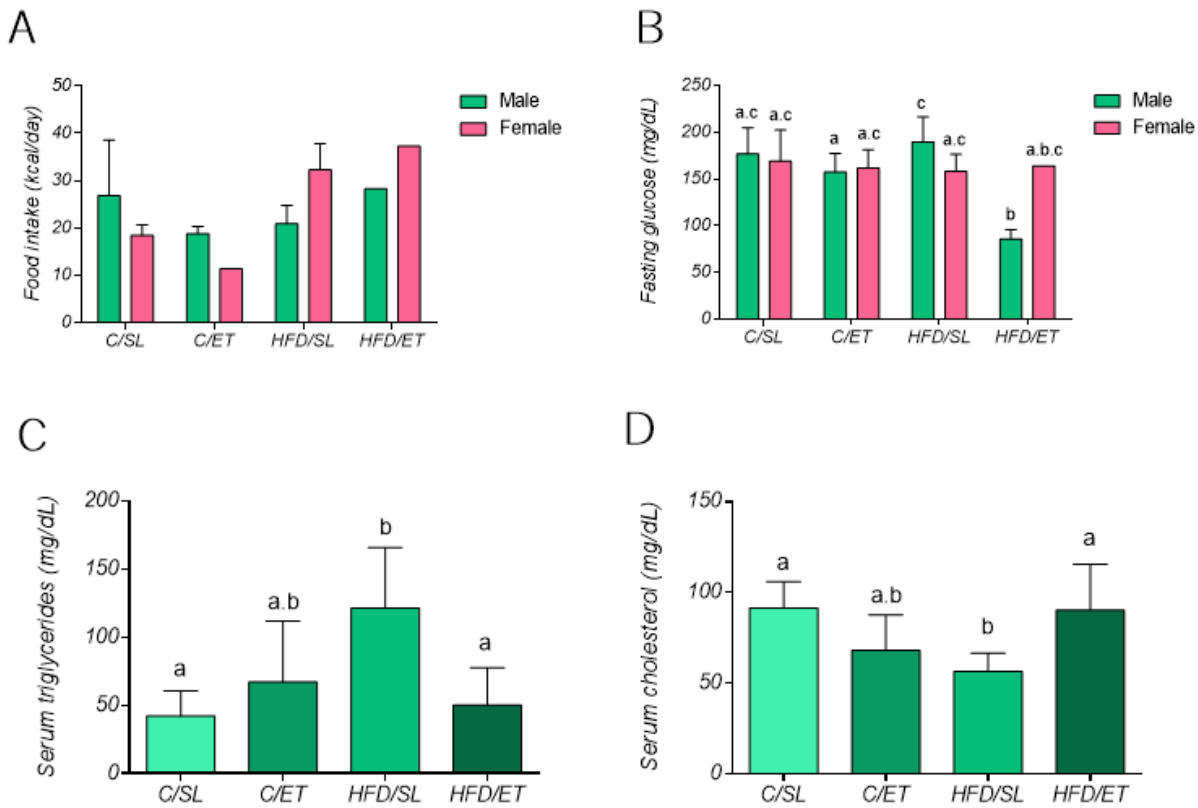


**Figura 1. Parâmetros murinométricos das proles macho e fêmea com obesidade induzida por dieta hiperlipídica, tratados com silimarina durante a lactação.**

Em estudos realizados por nosso grupo, a prole jovem de mães obesas apresentava maior peso corpóreo do que a prole de mães controles aos 28 dias de vida (Fante, 2016; Lemes, 2018); portanto, ainda não se sabe se ingestão alimentar normocalórica após o desmame favoreceu a inalteração do peso corpóreo, apesar dos resultados relativos à ingestão alimentar e a adiposidade estarem aumentados nos grupos HFD, e serem fatores associados à elevação do peso corpóreo. Mas sabe-se que a prole submetida a sobrecarga lipídica materna na vida pré-natal e durante a lactação apresenta regulação negativa dos genes relacionados à  $\beta$  oxidação hepática e regulação positiva dos genes envolvidos na síntese lipídica. Além disso, apresentam uma resposta mais deletéria quando exposta a uma HFD na vida adulta (de Paula Simino, 2017).

Quanto à ingestão alimentar, a prole de mães obesas não apresentou estatisticamente um maior consumo calórico e glicemia de jejum, comparada à prole de mães controle (Figura 2A e B). Estudos de Chang (2018) demonstram que a silimarina é capaz de promover o aumento dos níveis séricos de GLP-1 da prole de camundongos alimentados com HFD, dado que este hormônio é capaz de regular o sistema nervoso central, inibindo o esvaziamento gástrico e estimulando o hipotálamo para que o indivíduo sinta uma sensação de saciedade, reduzindo o apetite e controlando o peso corporal. Além disso, a modulação da secreção de GLP-1 é considerada eficaz no tratamento do diabetes tipo 2 (regula a glicemia e melhora a tolerância à glicose) e obesidade. Contudo, a inalteração da ingestão calórica entre os grupos pode ser uma explicação para o que vimos neste estudo.

Em relação à glicemia de jejum, não se observou diferença estatística se comparado ao grupo controle e HFD, mas sim entre os grupos HFD e HFD/SL (Figura 2B). A ausência de diferença significativa entre todos os grupos, provavelmente seja decorrente da utilização de etanol em alta concentração para diluição da silimarina e administração como veículo, dado que, esta substância pode prejudicar diretamente a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina na prole, por meio do leite materno (Zhen et al., 2015).



**Figura 2. Ingestão alimentar e parâmetros bioquímicos séricos de proles macho e fêmea de camundongos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica, tratados com silimarina durante a lactação.**

De acordo com Janvier (2002), o álcool tem efeitos negativos para o bebê por meio do leite materno. O álcool, mesmo consumido de forma moderada, promove potenciais efeitos adversos em lactentes, como mudanças nos padrões de sono, diminuição da ingestão de leite, hipoglicemia, além de alterações epigenéticas, segundo Cantacorps et al (2019).

Sabendo que a silimarina é capaz de regular a glicose sérica, melhorando a atividade das células  $\beta$  pancreáticas e aumentando a sensibilidade à insulina no fígado e em células musculares, como também, modulando a captação de glicose nos adipócitos por bloqueio do transportador de glicose (Fanxing et al, 2018; Pasquali et al, 2019), acreditamos que a concentração de etanol utilizada para diluição da silimarina possa ter prejudicado a homeostase glicêmica da prole, provavelmente anulando o efeito da silimarina.

O conteúdo sérico de triacilglicerol apresentou-se alto na prole de mães obesas, e de modo mais evidente no grupo tratado com silimarina (HFD/SL) (Figura 2C), o que demonstra que a administração de silimarina não foi capaz de promover benefícios no perfil lipídico da prole. De acordo com os estudos que abordam a ação da silimarina sobre o metabolismo do triacilglicerol, sabe-se que a silibina antagoniza parcialmente o aumento de lipídios e triglicerídeos induzido por CCL4 no fígado de ratos, e provavelmente ativa a  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos (Vengeroovskii et al, 1987 apud Skottová e Krecman 1998). Petronelli et



al. (1981) *apud* Skottová e Krecman (1998) acreditam que a silimarina é capaz de atenuar a síntese de triacilglicerol no fígado.

Finalmente, os níveis séricos de colesterol encontraram-se reduzidos na prole de mães obesas tratadas com silimarina, em relação aos grupos C/SL e HFD/ET (Figura 2D). Supõe-se que a silibina, um dos componentes ativos da silimarina, inibiu a incorporação de precursores de colesterol, o acetato e o mavalonato (Schiewer e Rauen, 1977 *apud* Skottová e Krecman, 1998). Nassuato et al (1983) *apud* Skottová e Krecman (1998), propuseram que a silibina poderia diminuir a síntese de novo colesterol, demonstrando a inibição *in vitro*, dependente da dose, da 3-hidroxi-3methylglutaril coenzima A (HMG-CoA), enzima chave da síntese de colesterol, através do dihemisuccinato de silibina.

Outros estudos realizados *in vitro*, juntamente com estudos em seres humanos, ratos e camundongos com dieta hiperlipídica para induzir obesidade, avaliaram se a silimarina poderia melhorar os parâmetros de resistência à insulina, hiperlipidemia e esteatose hepática. Observaram então que a silimarina (SM) modulou a homeostase glicêmica, reduziu a produção de óxido nítrico induzido pela interleucina IL-1 $\beta$ , melhorou a resistência à insulina na dieta, dislipidemia, inflamação e restaurou as células beta pancreáticas. Relataram também que a silibina, o principal componente ativo da SM, é de grande importância para o tratamento da síndrome metabólica.

No entanto, Gillessen (2020) afirma que embora a silimarina possa apoiar a funcionalidade hepática, mesmo nos estágios mais avançados da doença hepática gordurosa, para obter o máximo benefício, o tratamento com silimarina deve ser iniciado o mais cedo possível em pacientes com doença hepática gordurosa (DHGNA) ou DILI quando o potencial regenerativo do fígado ainda é alto e, quando a remoção do estresse oxidativo, a causa da citotoxicidade, pode alcançar os melhores resultados.

## CONCLUSÃO

O tratamento com silimarina no período da lactação não foi capaz de reverter as alterações epigenéticas e adaptações metabólicas que a prole herdou devido às modificações no ambiente intrauterino de camundongos com obesidade induzida por dieta. A prole de mães que receberam HFD e silimarina não apresentou resultados semelhantes à prole de mães que receberam dieta controle, o que pode ser observado diante da análise da adiposidade, parâmetros bioquímicos séricos (triglicérides e colesterol) e glicemia de jejum. Acreditamos que os resultados sejam decorrentes do agente solubilizador da silimarina escolhido no estudo (etanol), visto que a silimarina é insolúvel em água e o álcool pode ter causado alterações na saúde e metabolismo da prole.