UFES

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E DESPORTOS

GLEICIANE VELLOSO DOS SANTOS

MAICK ALMEIDA MOURA

PRÓPOLIS VERDE: INFLUÊNCIA SOB ADIPOSIDADE E SISTEMA CARDIOMETABÓLICO DE RATOS INDUZIDOS À OBESIDADE

VITÓRIA

2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

CENTRO DE EDUCAÇÃO FÍSICA E DESPORTOS BACHARELADO EM EDUCAÇÃO FÍSICA

Gleiciane Velloso dos Santos

Maick Almeida Moura

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Educação Física e Desportos, na Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Educação Física.

Orientadora: Prof.Dra. Márcia Regina Holanda da Cunha.

VITÓRIA 2022

GLEICIANE VELLOSO DOS SANTOS
MAICK ALMEIDA MOURA

PRÓPOLIS VERDE: INFLUÊNCIA SOB ADIPOSIDADE E SISTEMA CARDIOMETABÓLICO DE RATOS INDUZIDOS À OBESIDADE

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Educação Física e Desportos da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Educação Física.

Aprovado em 01 de março de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA

_____
Prof.Dra. Marcia Regina Holanda Cunha
Orientadora

_____
Prof.Dra. Luciana Carletti

_____
Prof. Dr Wender do Nascimento Rouver

DEDICATÓRIA

Dedico à minha família e aos meus amigos que sempre me apoiaram ao longo da trajetória.
Gleiciane Velloso

Dedico a minha família e a instituição que me deram apoio durante a graduação, principalmente a Professora Márcia que me ajudou muito durante a trajetória.
Maick Almeida

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus pela vida e por ter me mantido firme até aqui, sem Ele nada seria possível.

Agradeço a minha mãe e ao meu pai por sempre me apoiarem a buscar o melhor na minha vida, principalmente quando optei por fazer Educação Física.

Agradeço em especial a meu namorado por todas as palavras de incentivo, todo o esforço que fez e sei que foram muitos para que eu pudesse chegar aonde cheguei.

Obrigado a minha irmã e cunhado pelos momentos de apoio, conselhos e até mesmo por ouvir minhas reclamações.

Agradeço aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado, me ajudando a aliviar as tensões acumuladas ao longo das semanas e proporcionando muitos momentos de alegria.

Agradeço a minha dupla de pesquisa por ter aceitado a encarar essa batalha comigo, pelas diversas ajudas e colaboração na escrita deste trabalho, sem ele, o trabalho não seria tão rico de experiências vividas.

Agradeço à minha Orientadora, Professora Márcia Holanda Cunha por ter me aceitado como sua orientanda, por me ajudar em todos os momentos que precisei, por ser uma referência na área e me inspirar a buscar cada vez mais conhecimento.

Agradeço aos professores com quem tive aula durante toda graduação, pois ajudaram na base de minha formação, através dos conteúdos das disciplinas, de conversas em corredores, laboratórios e aulas práticas. Com vocês pude perceber que eu realmente gosto da Educação Física e é isso que pretendo seguir como carreira. Obrigada a todos!

Gleiciane Velloso

AGRADECIMENTOS

Agradeço as oportunidades que tive com professores excelentes da UFES e a chance de trabalhar e estudar nessa instituição que abre as portas a pessoas como eu.

Agradeço à minha orientadora que me deu várias oportunidades de crescimento na universidade e como tem me ajudado nessa jornada na graduação.

Agradeço meus pais que sempre me deram suporte e um teto sobre minha cabeça enquanto subo na vida.

Agradeço aos amigos de graduação, fomos parceiros até o fim, sempre dividindo conhecimento e ajudando uns aos outros.

Maick Almeida Moura

RESUMO

A Obesidade tem sido crescente nos últimos anos devido a falta de atividade física conciliada com uma dieta inadequada, rica em açúcar e alimentos ultraprocessados. A obesidade é considerada uma doença inflamatória pela ação do tecido adiposo ser secretor de citocinas pró-inflamatórias e inibir fatores anti inflamatórios e antioxidantes do organismo. A ingestão de própolis verde pode auxiliar através de seus fitoquímicos nos efeitos nocivos de uma dieta rica em açúcares e gorduras. A própolis verde é um produto apícola muito utilizado por seus efeitos anti- inflamatórios, associados por seu nível de Flavonoides e Polifenois presentes no produto. O Brasil é conhecido por ser um grande produtor e exportador de própolis verde pela riqueza de sua flora e fauna naturalmente diversa. A própolis é um alvo de interesse para as indústrias farmacêuticas. Apesar de alguns estudos já realizados e de medidas estabelecidas para o tratamento da obesidade, pouco se sabe dos efeitos do extrato de própolis, como papel antiinflamatório no desenvolvimento da obesidade. Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do tratamento com o extrato de própolis verde sobre as alterações vasculares, bioquímicos e metabólicos em animais submetidos a obesidade experimental pelo glutamato monossódico. Concluindo que com o tratamento de própolis no início da obesidade não houve toxicidade hepática e nem renal, níveis de colesterol, gorduras extravicerais foram diminuídas, evolução de peso abrupta foi atenuada e contratilidade de aórtica foi melhor sensibilizada nos grupos tratados.

Palavras-chave: inatividade física; obesidade; Própolis verde

ABSTRACT

Obesity is considered an inflammatory disease due to the action of adipose tissue secreting pro-inflammatory cytokines and inhibiting anti-inflammatory and antioxidant factors in the body. The intake of green propolis can help through its phytochemicals in the harmful effects of a diet rich in sugars and fats. Green propolis is a beekeeping product widely used for its anti-inflammatory effects, associated with its level of Flavonoids and Polyphenols present in the product. Brazil is known for being a major producer and exporter of green propolis due to the richness of its naturally diverse flora and fauna. Propolis is a target of interest for the pharmaceutical industries. Despite some studies already carried out and measures established for the treatment of obesity, little is known about the effects of propolis extract, as an anti-inflammatory role in the development of obesity. This work aimed to evaluate the effects of treatment with green propolis extract on vascular, biochemical and metabolic changes in animals subjected to experimental obesity by monosodium glutamate.Concluding that with the propolis treatment in the beginning of obesity there was no liver or kidney toxicity, better cholesterol levels, extraviral supplements were decreased, abrupt weight evolution was attenuated and aortic contractility in the treated groups.

Keywords: physical inactivity; obesity; green propolis

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 9
OBJETIVOS 13
METODOLOGIA 13
RESULTADOS 17
DISCUSSÃO 25
CONSIDERAÇÕES FINAIS 27
REFERÊNCIAS 28

INTRODUÇÃO

O crescimento da inatividade física entre a população é hoje uma das maiores preocupações dos profissionais de saúde no Brasil e no mundo. O aumento da inatividade física é um fator de risco, pois indivíduos inativos são mais propensos a doenças crônicas como obesidade, doenças cardiovasculares e diabetes.

Estudo recente, que foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), mostra que, no Brasil, a prevalência do excesso de peso aumentou de 42,6% em 2006 para 55,4% em 2019. Já a obesidade saltou de 11,8% para 20,3% no mesmo período. (GUIA, ASBRAN 2022).

A obesidade é uma doença crônica de origem multifatorial, envolvendo fatores psicológicos, comportamentais, sociais e genéticos. Suas características são o acúmulo corporal de gordura, desencadeado por um desequilíbrio energético, seja por excesso de ingestão calórica ou por baixa atividade física. Acredita-se que embora os fatores genéticos contribuam significativamente para o quadro de obesidade, os hábitos de vida ainda sejam os fatores preponderantes (PINHO et al., 2013).

A obesidade é considerada uma doença inflamatória pela ação do tecido adiposo ser secretor de citocinas pró-inflamatórias e inibir fatores anti inflamatórios e antioxidantes naturais do organismo. Na obesidade os adipócitos, que estão em grande quantidade, podem iniciar alterações celulares que promovem a inflamação, por meio de sua atividade endócrina, as adipocinas. Os adipócitos são a fonte de leptina, uma adipocina altamente expressa que têm efeitos na função nas células imunes. A leptina tem múltiplos efeitos pró-inflamatórios e aumenta de acordo com a quantidade de tecido adiposo. A leptina estimula a produção de citocinas como, IL-1, IL-6, IL-12 e fator de necrose tumoral alfa (TNFa) por células imunes inatas e aumenta a inflamação do sistema e a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Tuo Deng et. al 2016).

Em adultos com sobrepeso e obesidade, o aumento das adipocinas tem sido associado ao desenvolvimento concomitante de resistência à insulina, distúrbios metabólicos e o aumento do risco cardiovascular. Medidas da gordura corporal mostrou se correlacionar positivamente com os níveis séricos de proteínas

inflamatórias, e é interessante notar que marcadores de obesidade abdominal (por exemplo, circunferência da cintura) parecem estar mais fortemente associados a marcadores inflamatórios do que o IMC e gordura corporal total, o que indica maior impacto da obesidade central na inflamação (HEREDIA, 2012).

A obesidade leva a deficiências na função imunológica e comprometimento da imunocompetência, de modo que o corpo está mais vulnerável a doenças e infecções. A obesidade, que é um estado de desnutrição por excesso, também está relacionada à disfunção imunológica, após observações de taxas mais altas de infecções e cicatrização prejudicada em indivíduos obesos.

O excesso de gordura corporal é acompanhado por alterações na contagem de leucócitos, com contagens de leucócitos, neutrófilos, monócitos e linfócitos, mas menor proliferação induzida por mitógenos de células T e B . Além disso, outros estudos mostraram que a produção de anticorpos após a vacinação está diminuída em pacientes obesos (HEREDIA, 2012).

Estudos histológicos em ratos mostraram que a infiltração de macrófagos no tecido adiposo era maior em animais obesos do que em não obesos. Os macrófagos apareceram como agregados em forma de coroa, semelhantes aos observados em outras condições inflamatórias conhecidas, como artrite reumatóide, e cresceram com graus crescentes de obesidade. Esse achado levou à ideia de que os agregados de macrófagos poderiam explicar parcialmente o estado inflamatório relacionado à obesidade. (WEISBERG 2003).

A obesidade é uma doença que, quando não tratada, pode desenvolver diversos outros problemas no organismo que levam a complicações no sistema respiratório, doenças cardiovasculares e problemas nos ossos e músculos, além de alterações hormonais. É o excesso de peso provocado pelo acúmulo de gordura o responsável pela redução da capacidade respiratória, problemas musculoesqueléticos, como a osteoartrite, com maior desgaste articular e doenças metabólicas como o diabetes (ALVARENGA et. al.,2013)

Como a obesidade pode agravar diversas doenças, na pandemia do Covid 19 isso aumentou. É possível ver um aumento na taxa de hospitalização por SARS-CoV-2 nos jovens e isso por estar relacionado à crescente prevalência de obesidade nesta

população. Nesse sentido, a obesidade configura-se como um fator de risco independente de outras comorbidades (TAMARA et al., 2020) (SIQUEIRA et al., 2020).

De acordo com SHIN (2021)

> "Ao começarem a ficar mais em casa com o intuito de se proteger e proteger familiares da doença covid-19 e seus agravos, as pessoas tendem a ter medo da infecção e mudam seus hábitos e rotinas para o meio online por causa do lockdown, onde podem ter informações e compras do qual resolvam seus problemas diários sem sair de suas casas."

A taxa de pesquisa on-line no Google para meios de emagrecimento aumentou com a pandemia. Os métodos de emagrecimento baseado na medicina tradicional e uso de produtos naturais para emagrecer foram os mais pesquisados (GOMES, M. T 2021).

Com o aumento da procura por emagrecedores a própolis verde surge como produto natural que traria uma interação com o metabolismo de tal forma que pode diminuir a absorção de gordura (Ichi et al, 2009). Diante disso, para auxiliar na manutenção da perda de peso, alguns produtos naturais utilizados pela medicina tradicional são utilizados como forma de tratamento. Assim, o uso do própolis surge como uma solução para emagrecimento ou promoção da saúde e reversão do dano que a obesidade pode causar, necessário (Valizadeh E., 2016).

A própolis é um produto elaborado pelas abelhas com suas secreções, resinas de árvores, cera, pólen e fragmentos de vegetais. Sua composição química depende, portanto, da flora da região onde é produzida e da época do ano em que é coletada.

A própolis é uma matriz resinosa, sintetizada por abelhas a partir de brotos e exsudatos de plantas, e utilizada por estas para proteção das colmeias. Na sua composição, estão presentes mais de 200 substâncias, entre estas diversos compostos bioativos que estão associadas às suas propriedades terapêuticas (TIVERON, 2015; XAVIER, 2015).BANKOVA

Estudos de Bankova (2005), Alencar (et al. 2007), Silva (et al. 2007) indicam que:

> "No Brasil, algumas das principais fontes vegetais para elaboração de própolis são as espécies Dalbergia ecastophyllum (rabo- -de-bugio), Baccharis dracunculifolia (alecrim do campo), Araucaria angustifolia (pinheiro brasileiro)

> e Eucalyptus citriodora (eucalipto), com outras espécies visitadas em menor proporção."

A própolis em questão vem do arbusto alecrim-do-campo (Baccharis dracunculifolia), conhecida também como própolis verde, é produzida do broto dessa planta, que é endêmica em várias regiões do Brasil. Essa própolis é produzida, no sul, leste, centro e zona da mata de Minas Gerais, leste de São Paulo, norte do Paraná e em regiões serranas do Espírito Santo e Rio de Janeiro (BASTOS, 2001).

O Brasil é um grande produtor e exportador de própolis verde, um derivado apícola utilizado pela medicina tradicional por seus diversos efeitos, inclusive como anti-inflamatórios.

Segundo COSTA (et al., 2018); MOURA (et al., 2013):

> "A própolis verde, típica de algumas localidades da Região Sudeste do Brasil é a mais bem avaliada no mercado internacional, sugerindo que existe uma associação entre sua cor e sua composição química, sendo considerada pelos estudiosos rica em ácidos fenólicos, com maior potencial anti-inflamatório e antioxidante."

Estudos também indicam que o própolis pode reduzir significativamente concentrações de marcadores inflamatórios entre eles proteína C reativa (PCR) e fator de necrose tumoral (TNFa) (JALALI et al., 2020). Proteína que geralmente é aumentada quando existe algum tipo de processo inflamatório.

O trabalho surgiu através do crescente número de pessoas que procuram emagrecedores como meio de manutenção da perda de peso. Entre diversas pesquisas sobre substâncias emagrecedoras verificamos alguns produtos naturais, a própolis surgiu provocando grande interesse por suas substâncias e por ser um produto natural exportado pelo Brasil. A própolis verde é usada como componente nos processos de emagrecimento pelos seus efeitos anti-inflamatórios, efeitos associados ao nível de Flavonoides e Polifenois presentes no produto. (GOMES, K. 2018).

OBJETIVOS

Avaliar os efeitos do tratamento com o extrato de própolis verde sobre as alterações vasculares e bioquímicas em ratos submetidos a obesidade.

METODOLOGIA

a. Animais

Para este estudo foram utilizados filhotes (machos) de ratas Wistar gestantes provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo, aprovado pelo CEUA/UFES. Os animais foram mantidos em caixa de polipropileno, com controle de claro/escuro (12/12h), com livre acesso à água e à ração balanceada, com no máximo 5 ratos por caixa.. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as normas para pesquisa biomédica que determinam os cuidados para o uso do animal de laboratório em ensaios experimentais, como indicado pela Federação das Sociedades de Biologia Experimental.

b. Grupos Experimentais

Os grupos experimentais para esse estudo foram:

Ratos SAL (salina hipertônica);

Ratos SAL+ Própolis (salina hipertônica + própolis);

Ratos MSG (glutamato monossódico);

Ratos MSG + Própolis (glutamato monossódico + Própolis).

GRUPOS (Machos)	6ª SEMANA
SAL	N=8
SAL Própolis	N=8
MSG	N=8
MSG Propólis	N=8
TOTAL	**32**

c. Indução do modelo de obesidade

A obesidade foi induzida nos animais por administração subcutânea de uma solução de glutamato monossódico (MSG) na concentração de 4 mg/g (SC) durante a fase neonatal dos ratos (2° a 11° dia de vida). Este grupo foi denominado “GRUPO MSG”. Um grupo distinto de ratos, utilizados como controle, foi submetido ao mesmo procedimento, porém com injeções diárias de uma solução de salina hipertônica (1,25 %), denominado “GRUPO SAL”. Aos 21 dias de vida, totalizando 3 semanas de modelo de indução à obesidade, os animais foram desmamados, separados em grupos e foi introduzida a ração ad libitum.

d. Obtenção do Extrato e Forma de Tratamento

Para a obtenção do extrato da própolis, foram utilizadas 8 g da própolis verde bruta em 100 mL de álcool etílico a 70%. O material foi incubado em banho-maria estático a 50 °C por 30 minutos com agitação manual a cada 5 minutos. Em seguida, a solução permaneceu em maceração por 48 horas à temperatura ambiente, sendo submetidas a agitações manuais periódicas a cada 2 horas com o intuito de evitar precipitação das ceras e melhor extração dos componentes da própolis no álcool etílico a 70%. A amostra foi filtrada a vácuo e centrifugada a 3.500 rpm por 10 minutos, a 1 °C em centrífuga refrigerada. O sobrenadante foi levado para rota evaporação a 48 °C, a fim de evaporar todo o solvente, e concentrar o extrato hidroalcoólico de própolis. Para o tratamento, o extrato obtido conforme descrito acima, foi dissolvido em solução alcoólica (11%) para obtenção das frações aquosas e por meio de gavagem, foi administrada a dose diária do extrato de própolis (100 mg/kg) de rato, a partir da 3ª semana de vida do animal (3 vezes por semana) e os animais controle receberam o veículo para diluição do extrato (álcool, 11%), indo até a 6° semana de vida.

e. Determinação dos Dados Bioquímicos

Coleta de Sangue

Após jejum de 12 horas, os animais foram exangüinados por decapitação e o sangue de cada animal foi coletado em dois tubos de ensaio. Num tubo contendo fluoreto de sódio foi 0,5 mL de sangue para análise bioquímica plasmática da glicose. E finalmente, em um outro tubo contendo apenas gel foi coletado sangue para as aferições sorológicas dos demais exames bioquímicos. As amostras após centrifugadas foram congeladas (-80o C) no Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Experimental (LAFIBE), no CEFD-UFES para as devidas dosagens bioquímicas (Glicemia de jejum, colesterol total, triglicerídeos, uréia, creatinina, TGO, TGP).

f. Determinação do peso corporal

O peso corporal dos ratos tratados com MSG e seu respectivo controle(SAL) foram aferidos semanalmente a partir do 21° dia, durante todo o período de estudo (até 6 semanas). Para tanto, foi utilizada balança eletrônica Filizola, modelo MF-3.

g. Avaliação da reatividade vascular

Com o intuito em mensurar in vitro as respostas de tensão isométrica desenvolvida pelos anéis aórticos frente aos agonistas empregados no protocolo. Cada anel foi suspenso em um par de ganchos inoxidável, em uma cuba de fibra de vidro para órgão isolado, contendo 5 ml de solução nutriente de Krebs-Henseleit, mantida a uma temperatura de 36,5 C e aerada com mistura carbogênica (95% O2, 5% CO2). Um gancho encontrava-se fixado na parte inferior da cuba, enquanto o outro gancho foi conectado a um transdutor de força interligado a um sistema de aquisição de dados que estava acoplado a um computador para o registro da tensão isométrica desenvolvida pelo vaso. Os anéis de aorta permaneceram por um período de quarenta e cinco minutos para estabilização, sob uma tensão inicial de 1g, no qual se manteve ao longo de todo o experimento, com a troca da solução nutriente e ajuste da tensão quando necessário. E em seguida, administrou-se KCl (Cloreto de Sódio, 75mM) para comprovar a viabilidade das artérias. E traçaram-se as curvas concentração efeito à fenilefrina, na presença ou ausência dos inibidores enzimáticos: N-nitro-L-arginine

methyl ester (L- NAME - inibidor da síntese de óxido nítrico). A seguir serão detalhados os protocolos efetuados:

a) Avaliação da resposta vasoconstritora à fenilefrina dos animais submetidos a obesidade experimental: Após a retirada dos anéis de aorta, conforme metodologia anteriormente descrita, aguardamos um período de 45 min para a estabilização da preparação. Foi induzida uma contração com KCl (75 mM) em cada animal dos grupos estudados. A seguir, após a renovação da solução da cuba, foi feita uma curva concentração-resposta à fenilefrina (10-9 a 3X10-4 M), de maneira cumulativa, em concentrações crescentes. Antes e após o bloqueio com L-NAME (100 mM) nestes experimentos o endotélio foi mantido intacto.

b) Avaliação da resposta vasodilatadora à acetilcolina dos animais submetidos a obesidade experimental: A função endotelial foi avaliada nos animais através do relaxamento induzido pela acetilcolina. Após a retirada dos anéis de aorta, conforme metodologia anteriormente descrita, aguardamos um período de 45 min para a estabilização da preparação. Logo, foi induzida uma contração com KCl (75 mM). Após a renovação da solução da cuba, os anéis de aorta foram pré- contraídos com fenilefrina, em uma concentração capaz de induzir aproximadamente 50% da resposta máxima induzida pelo KCl (75 mM). Uma vez obtido um platô, foram realizadas as curvas concentrações-respostas cumulativas, a acetilcolina (10-11 a 3x10-5 M).

h. Análise estatística

Os dados foram expressos como Média EPM. A análise estatística foi realizada através do método de Análise de Variância (ANOVA) com pos-hoc de Tukey. As significâncias estatísticas fixadas em $p<0,05$ e $p<0,01$.

RESULTADOS

a) **Avaliação de ganho de peso dos ratos tratados com glutamato monossódico para a indução de obesidade e o tratamento com própolis.**

A Figura 1 apresenta a evolução do ganho de peso dos animais utilizados no estudo durante as semanas de tratamento. Observamos um aumento progressivo do peso corporal em todos os grupos estudados ao longo das 4, 5 e 6 semanas de tratamento, conforme a Tabela 1. Todos os grupos de animais tiveram aumento significativo de peso corporal na 6 semana de tratamento, exceto o grupo que recebeu o extrato de própolis (MSG+PV).

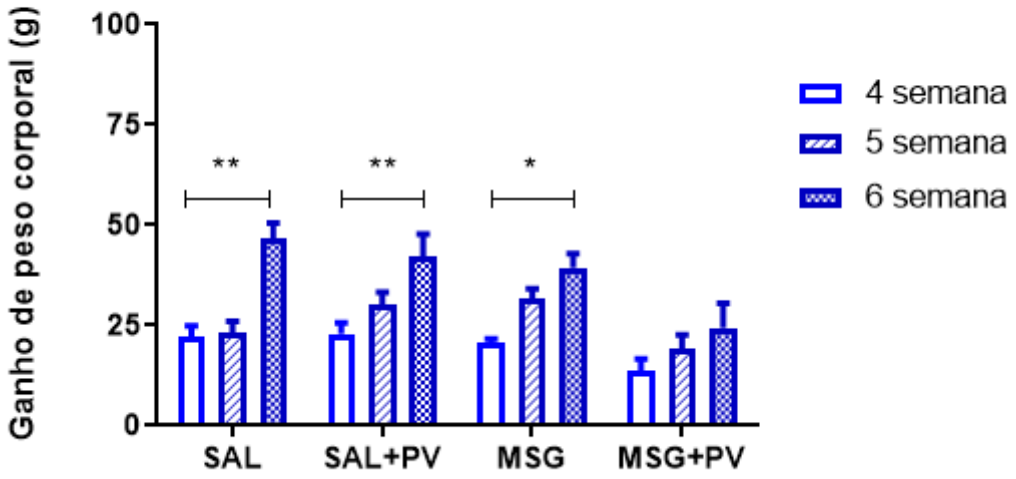

Figura 1 Representação gráfica dos do peso corporal total de ratos wistar machos induzidos à obesidade por Glutamato monossódico controle e obesos tratados com própolis verde ou álcool a 11%. ** Aumento brusco de peso entre 4° semana e 6 semana, * aumento de peso significativo entre semana 4 e 6.

	4 SEMANA			5 SEMANA			6 SEMANA		
Animais	**Média**	**SEM**	**N**	**Média**	**SEM**	**N**	**Média**	**SEM**	**N**
SAL	22.020	2.822	10	23.030	2.981	10	46.670	3.884	10
SAL+PV	22.090	2.792	10	30.030	3.292	10	42.004	5.748	10
MSG	20.550	1.197	10	31.550	2.679	10	39.480	3.358	10
MSG+PV	13.680	3.055	10	19.260	3.412	10	24.420	6.153	10

Tabela 1 : Valores do peso corporal de ratos tratados com glutamato monossódico (MSG), tratados com glutamato monossódico e própolis (MSG+PV), ratos controle (SAL) e ratos controle tratados com própolis (SAL+PV).

b) Avaliação da distribuição das gorduras intravisceral, gordura extravisceral e gordura total nos animais induzidos à obesidade e tratados com o extrato de própolis verde.

A figura 2 apresenta os valores médios das gorduras intravisceral (a) e extravisceral (b) assim como o peso das gorduras totais (c) nos dois grupos de animais induzidos à obesidade. Podemos observar que após o tratamento com o extrato de própolis verde, houve diminuição significativa das gorduras totais, acompanhado pela diminuição da gordura extravisceral ao compararmos com os animais induzidos à obesidade que receberam veículo (salina).

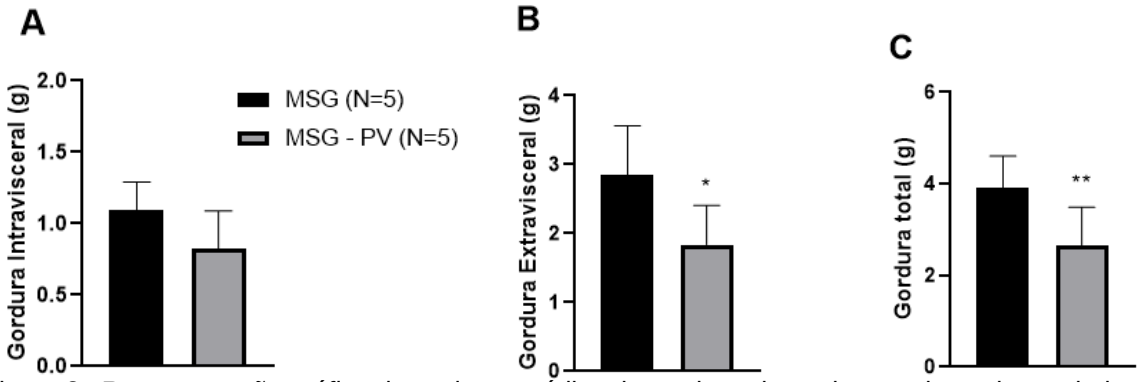

Figura 2. Representação gráfica dos valores médios da gordura visceral, extravisceral e total de ratos wistar induzidos à obesidade por Glutamato monossódico controle e obesos tratados com própolis verde,. ANOVA e pos-hoc Tukey. p<0,05. * Diminuição de gordura extra visceral quando comparado aos não tratados com própolis, ** Diminuição de gordura total quando comparado aos não tratados com própolis.

c) Avaliação da glicemia plasmática de ratos Wistar induzidos à obesidade, submetidos ao tratamento crônico com extrato de própolis verde.

A figura 3 apresenta os valores médios de glicemia plasmática dos grupos estudados após 3 semanas de tratamento com própolis verde. Observamos o aumento dos valores deste parâmetro nos animais controle (SAL+PV) quando comparados aos que ingeriram veículo (SAL). E que os valores dos animais induzidos à obesidade (MSG+PV) foram menores quando comparados aos animais do grupo controle (SAL+PV).

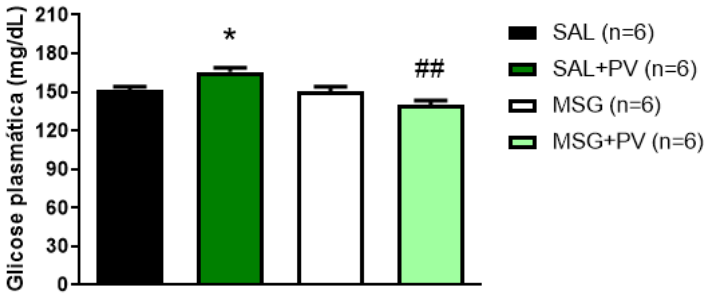

Figura 3. Representação gráfica dos valores médios da glicose plasmática de ratos wistar machos induzidos à obesidade por Glutamato monossódico controle e obesos tratados com própolis verde ou álcool a 11%. ANOVA e os-hoc Tukey. *p<0,05 vs SAL e #p<0,05 vs SAL+PV.## Diminuição de glicose plasmática do grupo obeso tratado (MSG+PV) em relação ao controle tratado (SAL+PV)

d) Avaliação do colesterol total plasmático de ratos Wistar induzidos à obesidade, submetidos ao tratamento crônico com extrato de própolis verde.

A figura 4 apresenta os valores médios de colesterol plasmático dos grupos estudados. Observamos que houve aumento significativo no colesterol plasmático dos animais obesos (MSG) que foi reduzida após o tratamento do extrato de própolis (MSG+PV). Houve redução dos níveis de colesterol dos animais controle (SAL+PV) após o tratamento com o extrato de própolis verde quando comparado ao ao grupo SAL.

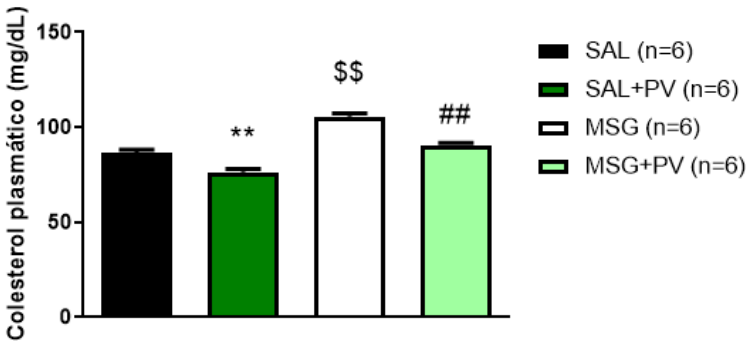

Figura 4. Representação gráfica dos resultados do colesterol plasmático de ratos wistar machos induzidos à obesidade por glutamato monossódico controle e obesos tratados com própolis verde ou álcool a 11%. ANOVA e Pos-hoc Tukey. ** p<0,01 vs SAL - ## p<0,01 vs MSG - $$ p<0,01 vs SAL
Diminuição de colesterol plasmático do grupo obeso tratado (MSG+PV) em relação ao grupo não tratado $$ (MSG). **Também houve Diminuição do grupo tratado controle (SAL+PV) em relação ao grupo controle não tratado (SAL).

e) Avaliação do TGO/AST e TGP/AST plasmático de ratos Wistar induzidos à obesidade, submetidos ao tratamento crônico com extrato de própolis verde (Baccharis dracunculifolia).

A figura 5 A e B apresentam os valores médios das enzimas hepáticas: TGO/AST e TGP/AST. Estas são enzimas presentes nas células do fígado (hepatócitos) e que são liberadas no sangue em consequência de lesão hepática de naturezas diversas. A elevação dessas enzimas é a anormalidade mais comumente encontrada em rotina de testes hepáticos, tornando-se, por isso, marcador útil para diagnóstico e monitoramento das doenças do fígado. Observamos na 5A que houve alteração nos valores do TGO/AST plasmático dos animais induzidos à obesidade (MSG) quando comparados aos valores do grupo controle (SAL)

Já a figura B mostra os valores médios da TGP/AST plasmática dos animais submetidos ao tratamento com extrato da própolis verde quando comparados aos valores do grupo controle, tanto para os animais obesos quanto para os animais controles.Não houve alteração deste parâmetro após o tratamento com própolis.

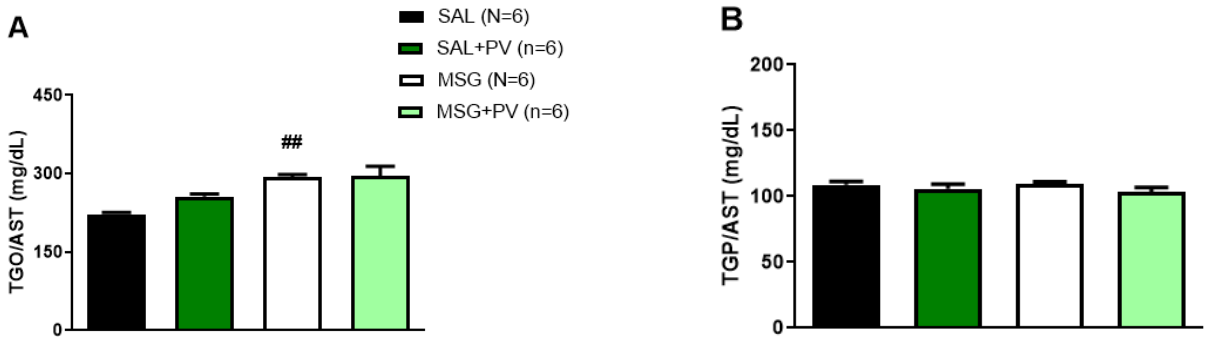

Figura 5A e 5B. Representação gráfica dos resultados do TGO/AST plasmático de ratos wistar machos induzidos à obesidade por glutamato monossódico controle e obesos tratados com própolis verde ou álcool a 11%. ANOVA e pos-hoc de Tukey. ##p<0,01. vs SAL

f) Avaliação da Creatinina e Uréia plasmática de ratos Wistar induzidos à obesidade, submetidos ao tratamento crônico com extrato de própolis verde.

A Figura 6 mostra os valores médios da creatinina plasmática dos grupos SAL (n=6), SAL+PV (n=6) , MSG(n=6), e MSG+PV(n=6). Observamos que não houve alteração significativa na creatinina plasmática dos animais submetidos ao tratamento com extrato da própolis verde quando comparados aos valores do grupo controle, tanto para os animais obesos quanto para os animais controles.

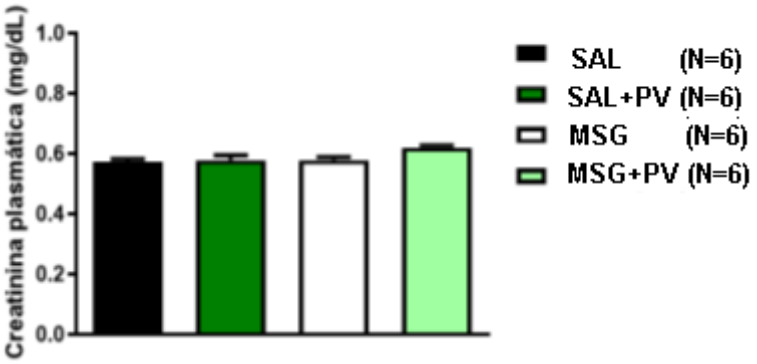

Figura 6. Representação gráfica dos resultados da creatinina plasmática de ratos wistar machos induzidos à obesidade por glutamato monossódico controle e obesos tratados com própolis verde ou álcool a 11%.

Concentração plasmática	SAL (N=5)	SAL+PV (N=5)	MSG (N=5)	MSG+PV (N=5)
Creatinina (mg/dL)	44,4±2,83	45,8±2,49	36,6±2,20	38,4±2,03
Uréia (mg/dL)	0,57±0,01	0,57±0,02	0,58±0,01	0,57±0,01

TABELA 2: Valores dos dados bioquímicos referentes à função renal dos ratos induzidos à obesidade por MSG e submetidos ao tratamento com o extrato de Própolis Verde.

e) Avaliação da resposta vascular à fenilefrina na aorta de ratos induzidos à obesidade com bloqueio de síntese de óxido nítrico (L-NAME) e após o tratamento com o extrato de própolis verde.

A resposta máxima (RMax) e a sensibilidade (pD2) à fenilefrina não foram alteradas entre os grupos estudados MSG e MSG+PV respectivamente. Tendo em vista uma possível participação do endotélio vascular na modulação da resposta constritora e a influência do óxido nítrico (NO) na resposta a fenilefrina, os anéis aórticos com o endotélio íntegro foram pré-incubados com L-NAME, inibidor da síntese de NO. antes da realização de doses crescentes cumulativas de fenilefrina. Observamos que após o pré-tratamento com L-NAME (100µM) não houve diferença significativa em relação à RMax, mas a sensibilidade à fenilefrina (pD2) foi significativamente maior no grupo tratado com o extrato de própolis após o bloqueio com o L-NAME quando comparado ao MSG+PV (Tabela 3).

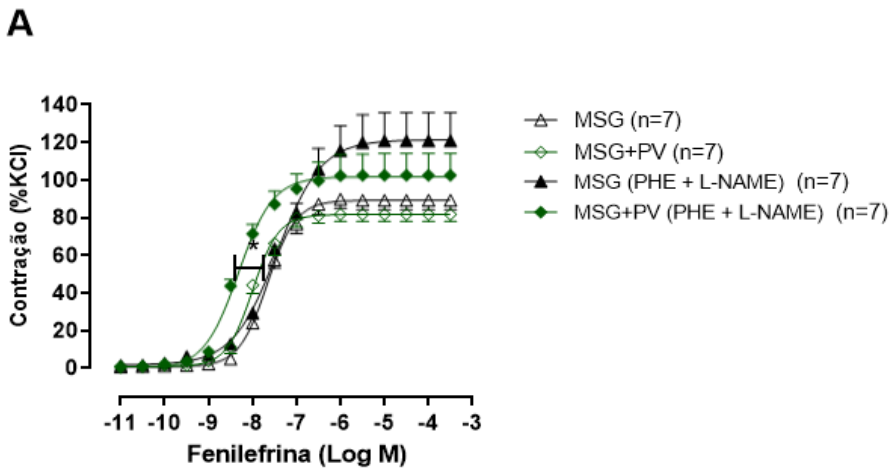

Figura 7 A: mostra a curva cumulativa induzida por doses crescentes pela fenilefrina em anéis de aorta de ratos induzidos à obesidade e tratados com o extrato de Própolis verde (100 mg/kg. 3x/semana/3 semanas) ou com veículo (álcool. 11%) cujo endotélio vascular permaneceu íntegro. * Sensibilidade à fenilefrina aumentada nos animais tratados e com síntese de NO bloqueada (MSG+PV(PHE+L-NAME)) contra animais obesos não tratados e com NO bloqueada (MSG(PHE+L-NAME)).

Animais	Média	SEM	N
MSG (Phe)	95.365	9.731	6
MSG (Phe-LN)	113.008	14.540	6
MSG+PV (Phe)	89.670	8.383	6
MSG+PV (Phe-LN)	102.643	9.340	6

Tabela 3 : Resposta máxima (RMax) e sensibilidade (pD2) induzidas por doses crescentes cumulativas à fenilefrina, obtidas de anéis de aorta torácica com o endotélio preservado. Dados expressos em média ± desvio padrão. Análise de variância (ANOVA) two way e pós-teste de Tukey. $p<0,05$ diferenças significativas em relação ao Controle

f) Avaliação da resposta vascular à acetilcolina na aorta de ratos induzidos à obesidade com bloqueio de síntese de óxido nítrico (L-NAME) e após o tratamento com o extrato de própolis verde.

- Em relação ao relaxamento induzido pela acetilcolina em aorta dos animais induzidos à obesidade e tratados com o extrato de própolis verde (Figura 7B),

observamos que a acetilcolina reduziu de maneira concentração dependente a contração dos anéis de aorta induzidas pela fenilefrina (10+ M). Observamos também, que não houve alteração significativa na resposta máxima (RMax) e a sensibilidade à acetilcolina (pD2) entre os grupos estudados, MSG e MSG+PV respectivamente (Tabela 4). Por outro lado, houve diferença significativa em relação resposta máxima (RMax) da curva dos animais tratados com o extrato de própolis (MSG+PV- L-NAME) após o bloqueio da síntese de NO (L-NAME) em relação ao seu controle (MSG- L NAME). A sensibilidade (pD2) das curvas não foi alteradas entre os grupos estudados MSG e MSG+PV respectivamente, antes e após o bloqueio com o inibidor da síntese do NO.

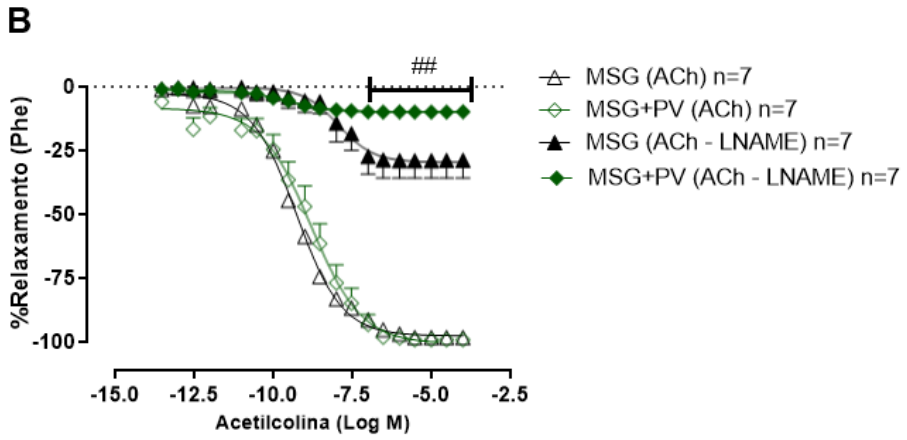

Figura 7B : Curva concentração-efeito induzida por doses crescentes de acetilcolina (10-11 a 3x10-5 M)obtidas em anéis de aorta com endotélio preservado (E+) e após o bloqueio da síntese óxido nítrico (L-NAME, 100µM) de ratos induzidos à obesidade e tratados com extrato de própolis verde (100 mg/kg, gavage) 3 vezes na semana durante 3 semanas. Dados expressos como média ± EPM. Análise de variância (ANOVA) two way e pós-teste de Tukey. ## Relaxamento do anel aórtico diminuída no grupo tratado e com síntese de NO bloqueada(MSG+PV(ach- LNAME)) em relação aos animais obesos não tratados também com sintese de NO bloqueada (MSG(ach-LNAME).

Animais	Média	SEM	N
MSG(ACh)	-9.092	0.218	7
MSG + PV(ACh-LN)	-8.373	0.294	7
MSG+PV(ACh)	-8.672	0.252	7
MSG+PV(ACh-LN)	-9.702	0.329	7

Tabela 4 : Resposta máxima (RMax) e sensibilidade (pD2) induzidas por doses crescentes cumulativas à acetilcolina, obtidas de anéis de aorta torácica com o endotélio preservado. Dados expressos em média ± desvio padrão. Análise de variância (ANOVA) two way e pós-teste de Tukey. #p<0,05 diferenças significativas em relação ao Controle.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostram que em relação ao peso corporal dos animais, houve aumento significativo deste parâmetro ao longo das três semanas de tratamento com o extrato de própolis entre os grupos estudados. Mas, ao observarmos o ganho de peso dos animais MSG+PV na sexta semana de tratamento, não houve aumento nestes animais, quando comparado com os outros grupos. Esta redução no ganho de peso foi apresentada com os dados que corroboram com estes resultados, pois a diferença no acúmulo de gordura dos MSG+PV foi menor após o tratamento com extrato de própolis, diminuindo a quantidade de gordura total e extra visceral em relação aos controles (KOYA-MIYATA,2009).

Importante ressaltar, que a dose utilizada neste estudo, 100 mg/kg, via oral não alterou os parâmetros de metabolização e excreção nos animais estudados. Observamos que não houve mudança significativa nos valores das enzimas hepáticas (TGO/AST e TGP/ALT) e nos parâmetros de excreção renal (creatinina e uréia plasmática) em relação aos controles, indicando que o uso do extrato de própolis foi seguro e não promoveu danos renais ou hepáticos (BATISTA et al.,2012).

Em relação aos dados bioquímicos observados neste estudo podemos ressaltar que o tratamento com o extrato de própolis diminuiu os valores plasmáticos do colesterol total nos animais obesos, indo de encontro com estudos como o de ALBOKHADAIM (2015), mostrando que em ratos tratados com própolis, marcadores de colesterol diminuíram principalmente LDL, sendo HDL ficando estável.

E em relação a glicemia plasmática o tratamento não promoveu redução destes valores nos animais obesos. Mas, por outro lado, houve um aumento deste parâmetro nos animais controle após o tratamento, indo contra estudos como o de H.U.FULIANG (2005) em que a glicemia dos animais diminuía com o uso da própolis.

Em relação aos parâmetros vasculares, nosso estudo mostra que os vasos sanguíneos dos animais tratados com Própolis Verde, foram estimulados por meio de doses crescentes de substâncias constritora (fenilefrina - via estimulação do receptor alfa-1) ou vasodilatadora (acetilcolina - via estimulação de receptores muscarínicos M3), antes e após o bloqueio da enzima da síntese de óxido nítrico (NO sintase), o L-NAME. Os nossos resultados mostram que avaliação da reatividade vascular após o

tratamento com própolis não promoveu alterações na respostas avaliadas, contração ou relaxamento, mas após o bloqueio da síntese da enzima NO-sintase observamos que houve aumento na sensibilidade da resposta contrátil à fenilefrina, com o deslocamento da curva para a esquerda. Quanto à resposta vasodilatadora, houve bloqueio total desta resposta apenas nos animais tratados com o própolis, sugerindo fortemente que a expressão do òxido nítrico, substância capaz de modular a resposta do músculo liso vascular, via estimulação de células endoteliais pode estar sendo influenciada pela ação do extrato de própolis.

Durante o processo inflamatório é desencadeado pela liberação de mediadores químicos originários dos tecidos lesados, do endotélio vascular e das células inflamatórias (RANKIN 1996; SERHAN; CHIANG, 2004). Dentre os principais mediadores do processo inflamatório identificados, encontram-se: aminas vasoativas (histaminas e serotonina), eicosanóides (metabólitos do ácido araquidônico - prostaglandinas e leucotrienos), fator agregação plaquetária (PAF), citocinas (interleucinas e TNFα), cininas (bradicinina) dentre outros (CZERMAK et al, 1998; OHISHI, 2000). Estudos demonstraram que a própolis verde do Brasil, oriunda da região sudeste, apresentou efeito neuroprotetor in vitro e in vivo contra o dano neuronal induzido por evento isquêmico inflamatório. Esse efeito foi claramente dependente da atividade antioxidante do extrato da própolis brasileira (SHIMAZAWA et al, 2005). Dados descritos na literatura utilizando-se da própolis obtida no sul do Brasil, mostram resultados com efeito anti inflamatório por mecanismo associado à redução da produção de prostaglandina E2 e da inibição da produção de óxido nítrico, resultando na resistência vascular. (PAULINO et l, 2005)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A própolis verde pode ser um possível agente efetivo para combater as consequências da obesidade principalmente se utilizada no início de seu desenvolvimento, podendo induzir efeitos positivos no combate às inflamações e seus agravos, possibilitando uma melhora da saúde geral e proteção cardiovascular. Foi levantado a hipótese que a própolis teria interação com o metabolismo de forma que diminuísse a absorção de gordura e no presente estudo foi verificado que os animais que receberam própolis tiveram uma diminuição no peso comparada ao grupo controle.

REFERÊNCIAS

ALBOKHADAIM, Ibrahim. Influence of dietary supplementation of propolis on hematology, biochemistry and lipid profile of rats fed high cholesterol diet. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research, v. 2, n. 1, p. 56-63, 2015.

ALENCAR, S. M. et al. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. Journal of Ethnopharmacology, Lausanne, v. 113, n. 2, p. 278-283, 2007.

ALVARENGA, Marle dos Santos et al . Disordered eating among Brazilian female college students. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro , v. 29, n. 5, May 2013 .

BASTOS, E.M.A.F. Origem botânica e indicadores de qualidade da “própolis verde” produzida no Estado de Minas Gerais. 2001. 137p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Ribeirão Preto.

BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. Journal of Ethnopharmacology, Lausanne, v. 100, n. 1/2, p. 114-117, 2005.

COSTA, P. et al. Artepillin C, drupanin, aromadendrin-4′-O-methyl-ether and kaempferide from Brazilian green propolis promote gastroprotective action by diversified mode of action. Journal of Ethnopharmacology, v. 226, p. 82, 2018.

CZERMAK, B. J.; FRIEDL, H. P.; WARD, P. A. Complement, cytokines, and adhesion molecule expression in inflammatory reactions. Proc. Assoc. Am. Physicians. n. 110, p. 306-312,1998.

DENG, Tuo et al. Obesity, inflammation, and cancer. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease, v. 11, p. 421-449, 2016.

Gomes, Karina. "Efeitos Da Ingestão De Extrato Aquoso De Própolis (Apis Mellifera) Sobre A Via Da Inflamação No Tecido Adiposo Branco E Processo De Browning Em

Camundongos Tornados Obesos Tratados Com Dieta Hiperlipídica E Hipercalórica." (2018).

GOMES, Miria Torres et al. “Dr. Google, preciso perder peso”–Pesquisas de brasileiros na internet associadas à perda de peso durante a pandemia do COVID-19: uma análise retrospectiva dos dados do Google Trends. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e49101421647-e49101421647, 2021.

JALALI, M. et al. Effect of Propolis supplementation on serum CRP and TNF-α levels in adults: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. Complementary Therapies in Medicine, v. 50, p. 102380, 2020.

MOURA O.K.A. et al. Atividade antimicrobiana e quantificação de Flavonoides e Fenóis totais em diferentes extratos de Própolis.Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, v. 33, p.211, 2013.

“No Dia Mundial da Obesidade, pesquisadores do Brasil e Chile fazem grande alerta.” ASBRAN, 04 de março de 2022 .https://www.asbran.org.br/noticias/no-dia-mundial-da-obesidade-pesquisadores-do-brasil-e-chile-fazem-grande-alerta .

OHISHI, S. Evaluation of time course and inter-relationship of inflammatory mediators in experimental inflammatory reaction. Yakugaku Zasshi. n. 120, p. 455- 462, 2000.

PAULINO, Niraldo et al. Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato padronizado de própolis P1 e de seu principal constituinte ativo, Artepillin C. 2005.

PINHO, Claudia Porto Sabino et al . Prevalência e fatores associados à obesidade abdominal em indivíduos na faixa etária de 25 a 59 anos do Estado de Pernambuco, Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro , v. 29, n. 2, Feb. 2013 .

RANKIN, J. A. et al. Phenotypic and physiologic characterization of transgenic mice expressing interleukin 4 in the lung: lymphocytic and eosinophilic inflammation without airway hyperreactivity. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. n. 93, p. 7821-7825, 1996.

SERHAN, C. N.; CHIANG, N. Novel endogenous small molecules as the checkpoint controllers in inflammation and resolution: entree for resoleomics. Rheum. Dis. Clin. North Am. n. 30, p. 69-95, 2004.

SHIMAZAWA, M. et al. Neuroprotection by Brazilian Green Propolis against In vitro and In vivo Ischemic Neuronal Damage. Evid. Based Complement. Alternat. Med. n. 2, p. 201-207, 2005.

SILVA, B. B. et al. Chemical composition and botanical origin of red propolis, a new type of Brazilian propolis. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, New York, v. 5, n. 3, p. 313-316, 2007.

TIVERON, A.P. Caracterização e identificação de compostos com atividade antioxidante de própolis orgânica brasileira. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

XAVIER, J.A. Avaliação da capacidade antioxidante e perfil químico de própolis do Nordeste da Bahia. 2015. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia) - Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2015.

Batista, L. L. V., Campesatto, E. A., Assis, M. L. B., Barbosa, A. P. F., Grillo, L. A. M., & Dornelas, C. B. (2012). Estudo comparativo do uso tópico de própolis verde e vermelha na reparação de feridas em ratos. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, 39(6), 515-520.

S. Koya-Miyata, N. Arai, A. Mizote, Y. Taniguchi, S. Ushio, K. Iwaki, S. Fukuda

Propolis prevents diet-induced hyperlipidemia and mitigates weight gain in diet-induced obesity in mice. Biol Pharm Bull, 32 (12) (2009), pp. 2022-2028, 10.1248/bpb.32.2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global status report on noncommunicable diseases 2014. World Health Organization, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHOa). Global action plan on physical activity 2018–2030: more active people for a healthier world. World Health Organization, 2018.

Pietiläinen, K. H., Kaprio, J., Borg, P., Plasqui, G., Yki-Ja¨ rvinen, H., Kujala, U. M., et al. (2008). Physical inactivity and obesity: a vicious circle. Obesity, 16(2), 409–414.

de Heredia FP, Gomez-Martinez S, Marcos A: Obesity, inflammation and the immune system. Proc Nutr Soc. 2012, 71: 332-338.

Weisberg SP, McCann D, Desai M et al. (2003) Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. J Clin Invest 112, 1796–1808.

Satomi KOYA-MIYATA,* Norie ARAI, Akiko MIZOTE, Yoshifumi TANIGUCHI, Shimpei USHIO, Kanso IWAKI, and Shigeharu FUKUDA.

Propolis Prevents Diet-Induced Hyperlipidemia and Mitigates Weight Gain in Diet-Induced Obesity in Mice .Biomedical Institute, Research Center, Hayashibara Biochemical Laboratories, Inc. 2009.

Valizadeh E., Ghalichi F., Ostadrahimi A. Traditional herbal medicine for weight management: A review Department of Science Nutrition, Nutrition Research Center, Tabriz University of Medical Sciences (TUOMS), Tabriz, Iran.

Antimicrobial activity of two brazilian commercial propolis extractsHealth Sciences Program sponsored by University of Brasilia, DF, Brazil 2006.

H.U.Fuliang, H.R.Hepburn, Hongzhuan Xuan, Minli Chenc, S.Daya, S.E.Radloff Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with diabetes mellitus, 2004.

I Ichi, H Hori, Y Takashima, N Adachi, R Kataoka, K Okihara, K Hashimoto, S Kojo The beneficial effect of propolis on fat accumulation and lipid metabolism in rats fed a high- fat diet Journal of food science 74 (5), H127-H131, 2009.