

EFEITO DE METABÓLITOS DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE *Passiflora tenuifila* NO EFLUXO LIPÍDICO EM MACRÓFAGOS

Mariana Aparecida Redondano de Almeida¹

Isabella de Araújo Esteves Duarte¹

Danielle Ribeiro Santos²

Marisa Passarelli²

Orientadora: Profa. Neuza Mariko Aymoto Hassimotto¹

¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

²Faculdade de Medicina-UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

E-mail: marianaalmeida1105@usp.br

Objetivo

Foi observado em ensaio clínico que o consumo diário do maracujá nativo do Cerrado (*P. tenuifila*), promoveu o aumento na expressão gênica do ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1), importante no efluxo lipídico de macrófagos. Este efeito poderia estar associado a ação dos metabólitos formados pela degradação das proantocianidinas pela microbiota intestinal (Di Pede et al., 2022). Assim, o objetivo foi avaliar o efeito de metabólitos de fenólicos excretados na urina após a ingestão da *P. tenuifila* no efluxo lipídico em macrófagos.

Métodos e Procedimentos

O extrato de metabólitos fenólicos foi extraído separadamente da urina de quatro voluntários após ingestão (4-8h) de farinha de *P. tenuifila* (EPT) ou placebo-celulose (EPP) por SPE, e identificados por LC-qTOF-MS/MS. A concentração dos extratos foi normalizada com o ácido hipúrico. Macrófagos derivados de células indiferenciadas da medula óssea de camundongos C57BL/6 foram incubados em placas de cultura com 96 poços em concentração de $0,8 \times 10^6$ células/mL. Após confluência, foram incubados por 48h com DMEM (Low glucose) contendo 1 mg de albumina isenta de ácidos graxos (FAFA), e 50

µg de LDL acetilada/mL e 0,3 µCi de ¹⁴C-colesterol/mL. Após lavagem com tampão PBS com FAFA, as células foram tratadas, por 6 h, com meio DMEM adicionado de EPT ou EPP (5 µM e 15 µM em ácido hipúrico), ou padrões de compostos fenólicos (catequina, 5-(3,4-hidroxihidroxifenil)-γ-valerolactona-4'-sulfato e ácido hipúrico), nas duas concentrações. Após a lavagem com PBS/FAFA, as células foram incubadas novamente com os extratos/padrões na presença ou ausência de HDL, por 6 h. Os lípidos celulares foram extraídos do meio de cultura e a radioatividade determinada (Perkin Elmer, Turku, Finlândia) (MINANNI et al., 2021). A concentração protéica foi determinada pelo método de Lowry. Foram realizadas duas réplicas biológicas, em triplicata técnica. Os resultados foram expressos como média +/- DP, e submetidos a ANOVA e teste Tukey, usando o programa GraphPad Prism 8, considerando significância $p < 0,05$.

Resultados

No EPT e EPP foram identificados diversos metabólitos dos compostos fenólicos. O ácido hipúrico foi o metabólito majoritário em todos os extratos, entretanto, o perfil do EPT se diferenciou do EPP pela presença de outros metabólitos formados pela metabolização colônica das proantocianidinas, entre elas

flava-3-ol, derivados de gama-valerolactonas glicuronídeos e sulfato, além de ácidos benzóicos. Não se observou diferença significativa ($p < 0,05$) no efluxo lipídico dos macrófagos tratados com EPP e EPT quando comparado com o controle (sem metabólitos), mas observou-se diferença significativa entre os tratamentos com EPT e EPP, nas duas concentrações. Entre os padrões, foi observado aumento no efluxo lipídico quando os macrófagos foram tratado com o 5-(3,4-hidroxihidroxifenil)- γ -valerolactona-4'-sulfato, nas concentrações de 5 μ M e 15 μ M, mas não se observou diferença para a catequina e ácido hipúrico.

Conclusões

O 5-(3,4-hidroxihidroxifenil)- γ -valerolactona-4'-sulfato, composto formado pela metabolização colônica das proantocianidinas, foi capaz de promover um aumento no efluxo lipídico do colesterol, possivelmente por ativar vias que modulam o ABCA1, como PPAR- γ (IIO et. al, 2012), e sua baixa concentração no EPT pode explicar a ausência de efeito observada. Ainda, o ácido hipúrico parece não participar desse mecanismo uma vez que ele está presente em todos os extratos urinários.

Os autores declaram não haver conflito de interesses. Agradecimentos ao CNPq, FAPESP e Food Research Center.

Referências

Di PEDE G., et al. In Vitro Faecal Fermentation of Monomeric and Oligomeric Flavan-3-ols: Catabolic Pathways and Stoichiometry. *Mol Nutr Food Res.* 66(21):e2101090, 2022. DOI: 10.1002/mnfr.202101090

IIO, A., et. al. Hesperetin upregulates ABCA1 expression and promotes cholesterol efflux from THP-1 macrophages. *Journal of Natural Products*, v. 75, n. 4, p. 563–566, 2012. DOI:10.1021/np200696r.

MINANNI, C. et al. Persistent Effect of Advanced Glycated Albumin Driving Inflammation and Disturbances in Cholesterol

Efflux in Macrophages. *Nutrients*, v. 13, n. 10, p. 3633, 2021. DOI:10.3390/nu13103633.