

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Amanda da Silva Chaves

**ESTABELECIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE EM  
CAMUNDONGOS PARA ESTUDO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DE  
FÁRMACOS SINTÉTICOS E NATURAIS COM AÇÃO ANTI-OBESIDADE**

Rio de Janeiro

2016

Amanda da Silva Chaves

**ESTABELECIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE EM  
CAMUNDONGOS PARA ESTUDO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DE  
FÁRMACOS SINTÉTICOS E NATURAIS COM AÇÃO ANTI-OBESIDADE**

Trabalho de conclusão de curso apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Vigilância  
Sanitária do Instituto Nacional de Controle de  
Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo  
Cruz como requisito para obtenção do título de  
Especialista em Vigilância Sanitária

Tutor: Fabio Coelho Amendoeira

Preceptor: Fausto Klabund Ferraris

Rio de Janeiro

2016

Catálogo na fonte  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
Biblioteca

Chaves, Amanda da Silva

Estabelecimento de um modelo experimental de obesidade em camundongos para estudo da atividade farmacológica de fármacos sintéticos e naturais com ação antiobesidade / Amanda da Silva Chaves– Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2016.

54 f.: il., tab.

Trabalho de conclusão do curso (Especialista em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional em Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. 2016.

Preceptor: Angélica Castanheira de Oliveira e Lucia Helena Pinto Bastos.

Tutor: Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso

1. Obesidade. 2. Dieta. 3. Fármacos Antiobesidade. 4. Camellia sinensis. I. Título

Amanda da Silva Chaves

**ESTABELECIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE EM  
CAMUNDONGOS PARA ESTUDO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA DE  
FÁRMACOS SINTÉTICOS E NATURAIS COM AÇÃO ANTI-OBESIDADE**

Trabalho de conclusão de curso apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Vigilância  
Sanitária do Instituto Nacional de Controle de  
Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo  
Cruz como requisito para obtenção do título de  
especialista em Vigilância Sanitária

Tutor: Fabio Coelho Amendoeira

Preceptor: Fausto Klabund Ferraris

Aprovado em: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dra. Karla Menezes Rodrigues Peres da Costa (Doutora)  
Escola Nacional de Saúde Pública

---

Dr. Fabio Coelho Amendoeira (Doutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Dr. Fausto Klabund Ferraris (Doutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelo seu amor incondicional e por me ajudar em todos os momentos, sejam eles de alegria ou tristeza.

A minha Mãe que tem me dado todo amor e suporte que preciso.

A minha tia e madrinha que me apoia com carinho.

As minhas amigas Danielle, Michelle, Ana Clara, Juliana que mesmo quando furo compromisso com elas, sempre há um novo jeito de nos reencontrarmos.

A coordenação da Pós Graduação pela oportunidade de poder expandi meus conhecimentos e fazer parte desse grande grupo que é o Incqs.

Ao Ministério da Saúde pela bolsa de Residência.

Ao grupo LabFar – Dr. Fabio Amendoeira, Dr. Fausto Ferraris e aos queridos alunos que participaram da minha jornada na Residência Multiprofissional nos anos de 2014 a 2016, além dos doutores Renata Medeiros e Tiago Savignon, por tantos dias felizes com muito trabalho, risadas e aprendizado.

Com grandes poderes vêm grandes responsabilidades.

Stan Lee (Tio Ben)

## RESUMO

**Introdução:** A obesidade é definida como o acúmulo anormal ou excessivo de tecido adiposo gerando riscos à saúde, e está associada ao aparecimento de doenças como o diabetes mellitus tipo 2 (DM II), doença cardiovascular (DCV) e predisposição ao câncer. Sua prevalência tem aumentado de forma a ser considerada uma epidemia mundial, e de acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2008-2009 e dados do VIGITEL de 2014, o sobrepeso e a obesidade afligem mais de 12% dos homens e 18% das mulheres, se tornado um problema de saúde pública no Brasil. A sibutramina é uma monoamina representante das drogas moderadora de apetite. Seu mecanismo de ação age estimulando o SNC na recaptção da norepinefrina (NE) e serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), aumentando a concentração dessas substâncias e induzindo à saciedade. O chá verde é uma planta consumida em todo o mundo na forma de chá. Sua popularidade é dada pela presença de flavonoides e catequinas que possui ação anti-inflamatória, antialérgica, previne doenças cardiovasculares, além de ter ação no controle de peso corpóreo e no metabolismo de lipídeos. **Objetivos:** O presente estudo teve por objetivo estabelecer um modelo de obesidade induzida através de dieta hiperlipídica e avaliar a atividade farmacológica de fármaco moderador de apetite e fitoterápico com atividade emagrecedora. Trata-se de um estudo experimental, onde foram utilizados camundongos machos C57BL/6 em dois diferentes ensaios: um com 9 semanas onde os animais consumiram diferentes dietas para ganho de peso e o outro com duração de 4 semanas com dieta normal e administração de fármaco e fitoterápico nas doses de 10mg/kg/dia. Os animais tiveram seu consumo hídrico, alimentar e peso corporal avaliados semanalmente, e o peso dos órgãos e exames bioquímicos realizados após a finalização de cada ensaio. **Resultados:** Após 9 semanas de dieta hiperlipídica, os animais apresentaram um ganho significativo de massa corporal ( $52,95 \pm 12,19$  %), quando comparado ao grupo dieta normocalórica ( $3,89 \pm 0,13$  %), bem como no peso da gordura epididimal ( $3,62 \pm 0,458$  %). Com isso, durante o tratamento com a dieta normocalórica e a sibutramina e o chá verde nas doses de 10mg/kg/dia, o tratamento com a sibutramina foi capaz de induzir uma maior perda de peso corpóreo ( $17,81 \pm 0,35$  %) comparado aos animais que apenas realizaram a dieta padrão + salina ( $13,94 \pm 0,35$  %) e aos animais que fizeram o consumo de chá verde ( $15,24 \pm 0,28$  %). Nossos achados propõem que o estabelecimento de dieta hiperlipídica para o ganho de peso corporal em camundongos mostrou-se um modelo eficaz para o estudo da obesidade, podendo ser utilizado posteriormente em modelos e ensaios de controle de qualidade de fármacos antiobesidade de origem sintética ou origem natural.

Palavras-chave: Obesidade. Dieta. Sibutramina. Chá verde.

## ABSTRACT

**Introduction:** Obesity is defined as abnormal or excessive accumulation of adipose tissue causing health risks, and is linked to diseases like type 2 diabetes mellitus (DM II), cardiovascular disease (CVD) and cancer. Its prevalence has increased in order to be considered a global epidemic disease, and according to Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009 and VIGITEL data (2014), overweight and obesity has been affecting more than 12% of men and 18 % of women and became a public health problem in Brazil. Sibutramine is a monoamine representative of moderating drug appetite. Its mechanism of action works through stimulating the central nervous system in the reuptake of norepinephrine (NE) and serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT), increasing the concentration of these substances and inducing satiety. Green tea is a plant consumed across the world as tea. Its popularity is given by the presence of flavonoids and catechins that is known by its anti-inflammatory action, anti-allergic, besides prevents cardiovascular diseases, and controls body weight and lipid metabolism. **Aim:** This study aimed to establish an obesity model induced by high fat diet and evaluate the pharmacological activity of moderator of appetite drug and herbal weight loss activity. This is an experimental study, where were used male C57BL / 6 mice in two different assays: one with 9 weeks where the animals consumed different diets for weight gain and the other one in 4 weeks with normal diet and drug delivery and herbal at doses of 10mg / kg / day. The animals had their water consumption, food and body weight evaluated weekly, and organ weights and biochemical examinations after completion of each test. **Results:** After 9 weeks of high fat diet, the animals showed a significant gain in body mass ( $52.95 \pm 12.19\%$ ), compared to normocaloric diet group ( $3.89 \pm 0.13\%$ ) and the epididymal fat weight ( $3.62 \pm 0.458$ ). Thus, during treatment with normocaloric diet, sibutramine and green tea at doses of 10mg / kg / day, treatment with sibutramine was able to induce a greater loss of body weight ( $17.81 \pm 0.35\%$ ) compared to animals only underwent standard + saline ( $13.94 \pm 0.35\%$ ) and animals that consumed green tea ( $15.24 \pm 0.28\%$ ). Our findings suggest that the high fat diet development for body weight gain in mice proved to be an effective model for obesity study that can later be used as a model in quality control tests of anti-obesity synthetic or natural origin drugs.

Keywords: Obesity, diet, sibutramine, green tea.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Representação dos flavonoides presentes na infusão do chá verde -----	25
Tabela 1	Composição das dietas padrão e hiperlipídica em g/kg e kcal -----	32
Figura 1	Consumo de ração normocalórica e hiperlipídica em gramas durante 9 semanas de tratamento -----	34
Figura 2	Consumo hídrico entre os grupos de dieta normocalórica e hiperlipídica em mL, durante 9 semanas de tratamento -----	35
Figura 3	Delta de ganho de peso (%) dos animais durante 9 semanas de tratamento com dieta normocalórica e hiperlipídica -----	35
Figura 4	Peso relativo dos órgãos (fígado e gordura epididimal) em (%) dos animais durante 9 semanas de tratamento com consumo de dieta normocalórica e hiperlipídica -----	36
Tabela 2	Análise bioquímica dos animais com dieta padrão e dieta hiperlipídica -----	37
Figura 5	Consumo de ração entre os grupos controle (dieta normocalórica), obeso/dieta, obeso/sibutramina (10mg/kg) e chá verde (10mg/kg), durante 4 semanas de tratamento -----	38
Figura 6	Consumo hídrico entre os grupos controle (dieta normocalórica), obeso/dieta, obeso/sibutramina (10mg/kg) e chá verde (10mg/kg), durante 4 semanas de tratamento -----	39
Figura 7	Delta de perda de peso corpóreo entre os grupos controle (dieta normocalórica), obeso/dieta, obeso/sibutramina (10mg/kg) e chá verde (10mg/kg), durante 4 semanas de tratamento -----	40
Figura 8	Peso relativo em (%) dos órgãos dos grupos controle (dieta normocalórica), obeso/dieta, obeso/sibutramina (10mg/kg) e chá verde (10mg/kg), durante 4 semanas de tratamento -----	41
Tabela 3	Análise bioquímica dos animais com dieta padrão, obeso/dieta, obeso/dieta + sibutramina (10mg/kg/dia) e obeso/dieta + chá verde (10mg/kg/dia), durante 4 semanas de estudo -----	42

## LISTA DE SIGLAS

ACTH	hormônio adrenocoticotrófico
AMPc	monofosfato de adenosina cíclico
AP-1	ativador proteico-1
ARC	núcleo arqueado do hipotálamo
ASP	proteína estimuladora de acilação
ATP	adenosina trifosfato
C/EBP-alfa	fator de transcrição ativador de proteína ligadora alfa
CART	transcrito e regulado pela cocaína e anfetamina
CCK	colecistocinina
CG	galocatequina
COMT	catecol-O-metil-transferase
COX-2	enzima ciclo-oxigenase-2
CRH	hormônio liberador da corticotropina
CYP1A1	citocromo P450 1A1
CYP3A4	citocromo P450 3A4
DCNT	doenças crônicas não transmissíveis
EC	epicatequina
ECG	epicatequina-galato
EGC	epigalocatequina
EGCG	epigalocatequina-3-galato
EGFR	receptor do fator de crescimento epidérmico
ENDEF	estudo nacional da despesa familiar
ERGO	espécies reativas de oxigênio
GABA	ácido gama-amino butírico
GCG	galocatequina-3-galato
GH	hormônio do crescimento
HDL	lipoproteína de alta densidade
IL-6	interleucina 6

IMC	índice de massa corporal
iNOS	óxido nítrico sintase induzível
iTAM	tecido adiposo bege ou tecido adiposo induzido
JAK-STAT	rota janus quinase transdutores de sinal e ativadores de transcrição
LLP	lipoproteína lipase
MCP-1	proteína quimiotática de monócitos
NA	noradrenalina
NFκβ	fator nuclear kappa B
NMDA	receptor N-metil-D-aspartame
NO	óxido nítrico
NYP	neuropeptídeo Y
PAI-1	inibidor-1 do ativador do plasminogênio
PBEF	fator de estimulação de colônias de células pré β
PCR	proteína C reativa
PI3K	fosfoinositol-3-quinase
PNSN	pesquisa nacional sobre saúde e nutrição
POMC	neurotransmissor pró-opiomelanocortina
PPARγ	receptor ativador da proliferação de peroxissoma gama
PYY	peptídeo YY
RDC	resolução da diretoria colegiada
sICAM	molécula de adesão intracelular solúvel
SNC	sistema nervoso central
SOCS3	senalizador da supressão da citocina 3
SP-1	fator de transcrição proteína de especificidade-1
STAT-1α	fator de ativador de transcrição-1 e transdutor de sinal alfa
STAT-3	fator de ativador de transcrição-3 e transdutor de sinal
TAB	tecido adiposo branco
TAM	tecido adiposo marrom
TGA	triglicerídeos
TGFβ	fator de transformação do crescimento beta

TNF $\alpha$  fator de necrose tumoral alfa

VIGITEL  
telefônico vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
1.1 SOBREPESO E OBESIDADE – DEFINIÇÕES	13
1.2 OBESIDADE NO BRASIL	14
1.3 ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA OBESIDADE	15
1.4 ADIPOCINAS NO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE	17
1.4.1 Visfatina	17
1.4.2 Vaspina	17
1.4.3 Omentina	18
1.4.4 Proteína Estimuladora de Acilação	18
1.4.5 Leptina	18
1.4.6 Adiponectina	19
1.4.7 Resistina	20
1.4.8 Grelina	20
1.5 DIETA E OBESIDADE	21
1.6 MODELO ANIMAL	22
1.7 MEDICAMENTOS PARA O TRATAMENTO DA OBESIDADE	23
1.8 CHÁ VERDE	24
1.8.1 Chá verde, seus compostos e estudos na obesidade	26
1.9 VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ATRIBUIÇÕES E DEFINIÇÃO	29
<b>2 JUSTIFICATIVA</b>	<b>29</b>
<b>3 OBJETIVOS</b>	<b>30</b>
3.1 OBJETIVO GERAL	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
<b>4 METODOLOGIA</b>	<b>31</b>
4.1 ANIMAIS	31
4.2 DIETA	32
4.3 EXAMES BIOQUÍMICOS	33
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>34</b>

<b>6. DISCUSSÃO</b>	<b>43</b>
6.1 PESO CORPORAL	43
6.2 CONSUMO ALIMENTAR E HÍDRICO	44
6.3 GLICOSE, COLESTEROL E ALT	44
6.4 FÍGADO E MASSA ADIPOSITIVA VISCERAL	45
<b>7 CONCLUSÃO</b>	<b>46</b>
<b>8 REFERÊNCIAS</b>	<b>47</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 SOBREPESO E OBESIDADE - DEFINIÇÕES

A obesidade é definida como uma condição onde o acúmulo de tecido adiposo de forma anormal ou excessiva implica no surgimento de inflamação crônica gerando riscos à saúde, predispondo a morbidade e a mortalidade (WHO, 2015). Ela origina-se do desequilíbrio do balanço energético, onde as calorias ingeridas diariamente ultrapassam o gasto diário, tornando-se positivo; entretanto esse balanço energético positivo pode sofrer influência de fatores ambientais, comportamentais, psicológicos e genéticos (LEITE; ROCHA E BRANDÃO-NETO, 2009).

Indivíduos obesos diferem dos demais pela distribuição regional de gordura no corpo, que se localiza na região abdominal, também conhecida como gordura androide, muito comum em homens, porém quando é presente em mulheres, eleva o risco para o desenvolvimento de complicações metabólicas; em comparação, a obesidade ginoide que dá-se pelo acúmulo de tecido adiposo na área dos quadris, glúteos e região femoral. (WHO, 2015).

Embora o Índice de Massa Corporal (IMC) não seja o único indicador para avaliar a obesidade, outras medidas podem aprimorar o diagnóstico desta doença, como por exemplo, a circunferência da cintura, apesar do IMC ser um forte preditor de mortalidade (WHO, 2015). O IMC pode ser classificado em termos de sua gravidade, quando associada com outras doenças. Portanto, denomina-se obesidade de grau I quando a faixa de IMC está entre 30 a 34,9 kg/m<sup>2</sup>, obesidade de grau II quando a faixa de IMC encontra-se entre 35 e 39,9 kg/m<sup>2</sup>, e obesidade de grau III ou obesidade mórbida quando o IMC for maior que 40 kg/m<sup>2</sup> (WHO, 2000).

O IMC é calculado através do peso expresso em quilogramas divididos pelo quadrado da altura em metros, e por não ter a capacidade de diferenciar a gordura corporal atual da massa muscular, uma pessoa que possui uma composição corporal onde a musculatura seja majoritária como os *bodybuilders*, pode apresentar um IMC acima do normal mesmo a composição corporal não ser constituída por altas porcentagens de gordura corporal (OLIVEIRA, 2013).

## 1.2 A OBESIDADE NO BRASIL

A prevalência da obesidade vem aumentando tanto em países desenvolvidos quanto em países em desenvolvimento, e por isso tem sido considerada uma epidemia mundial, além de ter se tornado um problema de saúde pública no Brasil com gastos em cerca de 1,5 bilhões de Reais por ano, contudo, desse valor, 600 milhões são provenientes do Governo para o Sistema Único de Saúde (ANJOS, 2006 e LEITE; ROCHA E BRANDÃO-NETO, 2009).

Segundo dados da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, dentre os anos de 1975 e 1997, registrou-se no Brasil um aumento da prevalência de obesidade, principalmente, na região Nordeste do país e nas faixas da população com menor poder aquisitivo (OBESIDADE, 2014).

De acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) realizada em 2008-2009, a obesidade aflige 14,8% da população maior de 18 anos, sendo 12,5% homens e 16,9% mulheres em todo o país (BRASIL, 2010). A fim de analisar a evolução da população adulta brasileira, foram comparadas as estimativas sobre o perfil antropométrico-nutricional das POF de 2002-2003 e 2008-2009 com as estimativas do Estudo Nacional da Despesa Familiar (Endef) de 1974-1975 e a Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição (PNSN) realizada em 1989. Entre os anos de 1974 a 2009, a prevalência de obesidade aumentou em mais de quatro vezes nos homens (2,8% para 12,4%) e em mais de duas vezes nas mulheres (8% para 16,9%) (OLIVEIRA, 2013).

Segundo dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico, VIGITEL (2014), o sobrepeso e a obesidade vêm crescendo no país, onde 52,5% dos brasileiros em 2014 apresentam sobrepeso, e 17,9% da população com mais de 18 anos apresenta um quadro instalado de obesidade. O sobrepeso mostra-se maior entre os homens em cerca de 56,5%, já a obesidade mostra-se em maiores níveis entre as mulheres com 18,2%. A faixa etária onde há a maior prevalência de sobrepeso e obesidade é entre 35 e 64 anos de idade para ambos os sexos, sendo que quanto menor a escolaridade (até 8 anos de estudo), maior o índice de excesso de peso 22,7%.

Nos últimos nove anos, houve um aumento em 23% no ganho de peso da população brasileira, onde São Luis do Maranhão apresentou-se como a capital com o menor percentual de excesso de peso (46,4%) no país, enquanto Fortaleza, Porto Velho e Manaus seguem como as capitais com maior índice de excesso de peso em cerca de 56% da população brasileira. Florianópolis foi identificada com o menor índice de obesidade no país (14%) enquanto que a

cidade de Campo Grande apresentou índice de obesidade no município em cerca de 22% da população. Dentre os países pertencentes ao BRICS, o Brasil encontra-se na terceira posição (52,5%) como um dos países com maior índice de sobrepeso, e em última posição (17,9%) quando comparada a obesidade dentre os países participantes do Mercosul (VIGITEL, 2014).

### 1.3 ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA OBESIDADE

O excesso de peso é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Há diversos estudos mostrando que a obesidade está associada a um maior risco para o desenvolvimento de várias doenças metabólicas como o diabetes tipo II, doença cardiovascular, acidente vascular encefálico, câncer, doenças respiratórias, osteoartrite e doenças de coluna (OLIVEIRA, 2013).

A obesidade é considerada um processo patológico e inflamatório de causas multifatoriais e poligênica que favorecem a disfunção endotelial e o aumento de riscos metabólicos como a dislipidemia, hipertensão, o estresse oxidativo, a resistência insulínica e o estado pró-inflamatório em si (HERRERA & LINDGREN, 2010).

O acúmulo crônico de tecido adiposo leva ao estado pró-inflamatório o que favorece o desequilíbrio do estado redox levando ao estímulo do estresse oxidativo. O estresse oxidativo consiste no desbalanço entre oxidantes e antioxidantes a favor dos oxidantes, acarretando no rompimento da sinalização celular e controle molecular (KOPELMAN, 2000). Com isso, acredita-se que o quadro instalado de obesidade esteja relacionado com um quadro de inflamação, intensificando o estresse oxidativo e levando a produção de mediadores inflamatórios gerados pela ação dos radicais livres que contribuem para manter o estado pró-inflamatório, como a enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), proteína C reativa (PCR), fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ ), proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), a molécula de adesão intracelular solúvel (sICAM), angiotensinogênio, interleucina 6 (IL-6), o inibidor-1 do ativador do plasminogênio (PAI-1) fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), proporcionando a transcrição gênica dessas proteínas e modulando a resposta insulínica (FERRANTE, 2007). Sabe-se que o aumento da concentração plasmática de PAI-1, principal inibidor da fibrinólise, está associado com a presença de obesidade abdominal (BASTOS; ROGERO & ARÊAS, 2009).

O tecido adiposo é um tecido conjuntivo composto por diferentes tipos celulares como adipócitos, células endoteliais, macrófagos, células do estroma vascular, fibroblastos, pré-adipócitos e histiócitos. É o maior tecido de estocagem de energia na forma de triacilglicerol (TGA), e tem como funções: modelar a superfície corporal, participação no processo de isolamento térmico do organismo, preenchimento de espaços intersticiais, formação de coxins absorventes de choques, além de atuar como glândula endócrina (ROSEN & SPIEGELMAN, 2006; POULOS; HAUSMAN, D; HAUSMAN, G. 2010).

É dividido em três subtipos de tecido: tecido adiposo branco (TAB), tecido adiposo bege ou tecido adiposo marrom induzido (iTAM) e tecido adiposo marrom (TAM). O TAM é ricamente vascularizado associado a presença de mitocôndrias em seu citoplasma (adipócitos marrons) ricas em citocromo oxidase, além da presença de proteína desacopladora-1 (UCP-1) que estão associadas com a produção de calor através de gradientes eletroquímicos que leva a síntese de ATP, estimulando a atividade da cadeia respiratória (HARMS & SEALE, 2013). Em animais como ratos e camundongos, o TAM é localizado na área interescapular e nas axilas do animal, e em humanos está presente na região da traqueia próximo a tireoide, mediastino, paracervical e supraclavicular (VIJGEN *et al.*, 2011; LEE *et al.*, 2011).

A presença de UCP-1 também é encontrada em adipócitos do tecido adiposo branco (TAB), contudo, pela presença de ação termogênica, esse tecido é caracterizado como iTAM ou tecido adiposo marrom recrutável. Similar ao TAM encontrado em camundongos, o iTAM é definido por seu conteúdo lipídico com presença de mitocôndrias e a expressão de genes específicos como a UCP-1 e *Pgc1 $\alpha$*  (gene codificador do receptor de proliferação-ativada de peroxissoma- $\gamma$  coativador de 1- $\alpha$ ). Apesar de ser um tecido que exerce função de termogênese, os adipócitos do iTAM são provenientes de estágios embrionários diferentes. Além disso, ela expressa genes que respondem a ativadores agonistas de receptores  $\beta$ -adrenérgicos ou PPAR- $\gamma$  (HARMS & SEALE, 2013).

Em contrapartida, o adipócito maduro presente no TAB tem a capacidade de estocar energia na forma de TGA através dos processos de lipogênese e lipólise, ocupando cerca de 90% do seu citoplasma, restringindo ao núcleo uma fina camada na célula. O TAB é composto por células do sistema imune, tecido conjuntivo, tecido nervoso e vascular, e localiza-se nas regiões subcutânea e visceral. Apesar de ser reconhecido como um órgão de estoque, nos últimos anos, ele passou a ser considerado um tecido endócrino metabolicamente ativo com a

habilidade de expressar e secretar substâncias bioativas relacionadas ao processo metabólico, imune e neuroendócrino como as adipocinas ou adipocitocinas (FONSECA-ALANIZ, 2006).

#### 1.4 ADIPOCINAS NO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE

A primeira adipocina relatada foi a lipoproteína lipase (LLP) responsável pela hidrólise de triglicerídeos circulantes, e posteriormente, novas adipocinas foram descobertas e agrupadas em categorias funcionais distintas (LEITE; ROCHA e BRANDÃO-NETO, 2009). A visfatina, apelina, vaspina e a omentina são adipocinas há pouco tempo descobertas que também estão relacionadas com a obesidade, assim como a adiposina e algumas proteínas do sistema complemento C3 e fator B (GUIMARÃES *et al.*, 2007).

##### 1.4.1 Visfatina

A visfatina foi descoberta como um fator de estimulação de colônias de células pré- $\beta$  (PBEF) com função de fator de crescimento de estágio inicial de células B, tendo sua expressão majoritária por macrófagos. Tem a capacidade de minimizar a resistência insulínica, pois a visfatina e a insulina possuem afinidade pelo receptor de insulina, entretanto seus sítios de ligação são diferentes (ANTUNA-PUENTE, 2008). Seu nível plasmático não altera em períodos de jejum ou pós-prandiais, mantendo-se sempre em níveis inferiores aos da insulina plasmática e sua proporção dá-se a quantidade de TAB visceral (LEITE; ROCHA e BRANDÃO-NETO, 2009).

##### 1.4.2 Vaspina

A vaspina é uma adipocina membro da família serina protease inibidora expressa pelo TAB sendo estimulada com a instalação da obesidade em ratos e humanos. A vaspina é capaz de aumentar a resistência insulínica e a tolerância aos carboidratos quando injetada em camundongos submetidos à obesidade induzida por dieta (ANTUNA-PUENTE, 2008).

### 1.4.3 Omentina

A omentina é um peptídeo com 313 aminoácidos expressa, principalmente, através do TAB visceral, e pouco expressada pelo tecido adiposo subcutâneo. Está relacionada com a resistência insulínica e obesidade, assim como as variáveis IMC, leptina, circunferência abdominal e índice HOMA, contudo tem relação positiva com a adiponectina e o HDL, ou seja, conforme a perda de peso, maiores serão os níveis circulantes de omentina, melhorando a sensibilidade à insulina (LEITE; ROCHA e BRANDÃO-NETO, 2009).

### 1.4.4 Proteína Estimuladora de Acilação

A proteína estimuladora de acilação (ASP) é uma adipocina derivada da interação dos compostos do sistema complemento como C3, fator B e adipsina. Ela é um estimulante da síntese e acumulação de triacilglicerol, e acredita-se que ela está envolvida com a ativação do transporte de glicose e inibição de lipólise (GUIMARÃES et al., 2007).

### 1.4.5 Leptina

Após a descoberta de Friedman em 1994 da leptina, um hormônio produzido por adipócitos que agem a nível do sistema nervoso central (SNC) sobre o metabolismo energético, o tecido adiposo deixou de ser considerado um tecido de cuja função era estocar energia e proteger contra agressões mecânicas e passou a ser considerado, também, como um órgão endócrino (ZHANG, 1994).

A leptina possui nível circulante proporcional à adiposidade corporal, com regulação através do estado nutricional do indivíduo. Tem ação lenta, sendo liberado na corrente sanguínea, onde exerce efeito inibitório na ingestão alimentar e no aumento no gasto energético (FRIEDMAN, 2002), possui ação tireoidiana com ligação a termogênese e oxidação de ácidos graxos e captação de glicose, impedindo a acumulação de gordura nos tecidos. Em contrapartida, numa situação de jejum, os níveis de leptina caem, aumentando o apetite, deixando a termogênese limitada (WILASCO, 2010).

É composta por 167 aminoácidos, sendo 21 aminoácidos encontrados em seu peptídeo terminal. Sua estrutura a classifica como da família das citocinas, sendo produzida por adipócitos diferenciados, embora seja encontrada em outros tecidos (WILASCO, 2010). A leptina atravessa a barreira hematoencefálica, e no hipotálamo, age no núcleo arqueado do hipotálamo (ARC) que contém duas populações diferentes de neurônios responsivos que

expressam o neurotransmissor neuropeptídeo Y (NPY), com função orexígena, e os que expressam o neurotransmissor pró-opiomelanocortina (POMC) e transcrito e regulado pela cocaína e anfetamina (CART) com função anorexígena. Ela tem papel essencial sobre os sistemas imunológico, hematopoiético e cardiovascular (ROMERO & ZANESCO, 2006).

Ao contrário do encontrado em modelos murinos, a obesidade em humanos associa-se, frequentemente, a um quadro de resistência à leptina devido à perda de seu papel regulador, deixando de exercer a influência sobre o controle do apetite via hipotálamo; essa resistência leva a uma ativação reduzida da STAT-3. Dentre os seis receptores conhecidos da leptina (ob-Ra, ob-Rb, ob-Rc, ob-Rd, ob-Re e ob-Rf), o receptor ob-Rb é o que possui a forma longa, com um número maior de aminoácidos, sinalizando a via rota Janus Quinase-Transdutores de Sinal e Ativadores de Transcrição (JAK-STAT). Quando ocorre, a resistência a leptina, a exposição a ela induz a expressão do sinalizador da supressão da citocina-3 (SOCS3) que inibe a sinalização do receptor de leptina, inibindo a estimulação da mesma pela rota JAK-STAT (HOWARD et al., 2004; WILASCO, 2010).

Os níveis circulantes de leptina também podem ser reduzidos em situações de estresse como no jejum prolongado e atividade física intensa, comprovando a atuação do SNC a inibição da liberação de leptina pelos adipócitos. Em contrapartida, uma dieta rica em lipídeos eleva a expressão dos receptores de leptina, enfraquecendo a habilidade da mesma em regular a expressão do gene ob-Rb no ARC do cérebro (WILASCO, 2010).

#### 1.4.6 Adiponectina

A adiponectina, também produzida pelo tecido adiposo perivascular, tem ação parácrina e autócrina, destacando a regulação do metabolismo da glicose e dos lipídeos apresentando ação relaxante sobre os vasos, assim como o óxido nítrico (NO). Ela atua de forma protetora contra a hipertensão, além de possuir ação antiaterogênica na parede vascular com diminuição na expressão de moléculas de adesão e inibição da transformação dos macrófagos em células espumosas. Suas concentrações apresentam-se de forma inversa ao grau de obesidade, resistência à insulina e desenvolvimento do diabetes tipo II (SAMPAIO, 2011).

#### 1.4.7 Resistina

Com ação inversa à adiponectina, a resistina é uma adipocina pertencente à família de proteínas ricas em cisteína e está relacionada ao metabolismo da glicose e aos processos inflamatórios. É expressa no TAB e sua secreção tem relação direta à resistência insulínica (GUIMARÃES, 2007).

Segundo Giraldez (2014), o desbalanço de outras adipocinas e da resistina durante o desenvolvimento da obesidade favoreceria a produção de partículas de LDL pequenas e densas, mais susceptíveis à oxidação. Contudo, não foi estabelecida em indivíduos magros a presença de expressão gênica da resistina; e no tecido adiposo de indivíduos obesos, embora ela tenha sido identificada, não acharam correlação entre a sua expressão gênica e massa corporal, adiposidade e resistência à insulina. Apesar de existirem evidências indicando que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica, assim como mutações no gene da leptina estão associadas com elevadas concentrações circulantes de resistina (GUIMARÃES et al., 2007).

#### 1.4.8 Grelina

A grelina, hormônio com característica orexígena, é produzido pelas células do fundo e corpo do estômago e em menor quantidade pelas células do piloro, agindo diretamente sobre o aumento do apetite (CHEN *et al.*, 2009). Embora a grelina seja sintetizada periféricamente, ela apresenta receptores específicos no sistema nervoso central (SNC). Ela se liga ao seu receptor no núcleo arqueado, no hipotálamo, onde participa de processos neuroendócrinos controladores do apetite junto com a secreção do hormônio do crescimento (GH) (ROMERO & ZANESCO, 2006).

Kojima *et al.* (2001) identificaram e isolaram a partir de extratos gástricos de ratos e de humanos o ligante endógeno para o receptor do secretagogo do hormônio do crescimento (GHS-R), denominado grelina; estando este diretamente relacionado com o hormônio e secreção de GH. Está presente nas formas acilada e desacilada onde seu terceiro aminoácido, a serina, sofre acilação, embora a forma desacilada circule no plasma sanguíneo em quantidades maiores, compartilhando de algumas ações não endócrinas como o controle da proliferação celular e da adipogênese (WILASCO, 2010).

A produção de grelina no ARC induz a produção de uma pré-sinapse nos neurônios que expressam o NPY, para liberá-los estimulando, assim, a ingestão alimentar. Esses neurônios

produtores de grelina estimulam ao aumento das taxas de ácido gama-aminobutírico (GABA) que são capazes de modular uma pós-sinapse a fim de liberar a POMC e CART exercendo função anorexígena. Então, a estimulação de NPY através da grelina inibe a liberação de GABA, resultando na liberação dos neurônios que manifestam o hormônio liberador da corticotropina (CRH) que está relacionado com a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e de cortisol (FEIGHNER et al., 1999; SMITH et al. 2001).

A secreção de grelina é elevada em estado de jejum prolongado e imediatamente antes do horário das refeições habituais e diminui no período pós-prandial, sendo um sinal inicial para o aumento do apetite; além disso, ela interfere no peso corpóreo e na adiposidade (WILASCO, 2010).

## 1.5 DIETA E OBESIDADE

O consumo exagerado de energia proveniente de alimentos, na maioria das vezes, ricos em gorduras saturadas é uma das variáveis que contribuem para o desenvolvimento da obesidade. Dietas hiperlipídicas têm sido utilizadas há anos para o desenvolvimento da obesidade em modelo animal (HARIRI; GOUGEON & THIBAUT, 2010).

Estudos em humanos têm mostrado que dietas com mais de 30% das calorias provenientes de lipídeos podem facilmente induzir a obesidade. Corroborando com este achado, estudos epidemiológicos realizados nos Estados Unidos, Canadá e China mostraram que conforme o aumento no consumo de dietas ricas em lipídeos, maior era a incidência da evolução da obesidade (HARIRI & THIBAUT, 2010).

Em 1949, a obesidade foi induzida pela primeira vez em ratos através do consumo alimentar *ad libitum* de uma dieta semi-líquida palatável para os animais. Porém, foi somente em 1953 que Fenton & Dowling obtiveram sucesso com uma dieta sólida na proporção de 50% em lipídeos, dieta essa chamada de hiperlipídica, com a finalidade de induzir a obesidade (HARIRI & THIBAUT, 2010).

A composição da dieta rica em ácidos graxos é desencadeadora da regulação na composição corporal. Estudos em animais e em humanos também mostram que dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados e monoinsaturados são rapidamente metabolizados para geração de energia, em contrapartida, os ácidos graxos saturados são utilizados para a reserva de energia na forma de TGA no tecido adiposo (HARIRI; GOUGEON & THIBAUT, 2010). Com isso,

a dieta lipídica com a presença de ácidos graxos saturados tem um caráter mais obesogênica, quando comparado à dieta concentrada em lipídeos mono e poli-insaturados, mostrando que esta relação está associada à hipertrofia dos adipócitos (HARIRI & THIBAUT, 2010).

Em relação à saciedade dos lipídeos, os ácidos graxos poli-insaturados inibem o apetite de forma mais eficaz que os ácidos graxos monoinsaturados ou saturados, através da liberação de colecistocinina (CCK) e peptídeo YY (PYY) pelo intestino aliando-se a outros sinais liberados pelo organismo em sinal de saciedade. Esse fato deve-se ao sítio de absorção da gordura saturada de cadeia curta e média ser realizada via estômago, sendo transportados para o fígado via sistema porta, sem a dependência de carnitina para a micela internalizar na mitocôndria, portanto sendo oxidada e depositada nos adipócitos (HARIRI & THIBAUT, 2010).

Alimentos ricos em gordura são usualmente os preferidos por ratos e camundongos dentre aqueles alimentos que tem baixa concentração em lipídeos, e são consumidos em maiores quantidades que os demais alimentos com outros macronutrientes. Essa variedade na propriedade sensorial contribui para uma melhor palatabilidade para alimentos ricos em lipídeos, de acordo com a textura e sabor. A lipase lingual nos animais tem importante papel na função de identificar através das células receptoras do paladar a presença de ácidos graxos não esteroidais. Esses sinais são transmitidos ao cérebro levando a liberação de neurotransmissores como a dopamina e endorfina (HARIRI & THIBAUT, 2010).

## 1.6 MODELO ANIMAL

O camundongo tornou-se um importante modelo experimental para os estudos genéticos desde o início do século XX. Esse animal pertence à ordem Rodentia, nome proveniente do latim *rodere*, que significa roer, está inserido na família Muridae, gênero *Mus*, espécie *Mus musculus*, e devido ao seu tamanho pequeno, o camundongo é muito susceptível a mudanças nas diferentes condições ambientais. Possuem suas origens evolutivas na Índia, contudo estão presentes em todo o mundo (OLIVEIRA, 2013).

A linhagem C57BL/6 é uma linhagem *inbred*, também chamados de isogênicos por terem por definição que são iguais geneticamente. São obtidos a partir de cruzamentos entre irmãos da mesma geração por, pelo menos, 20 gerações consecutivas em pares monogâmicos permanentes. Esta linhagem apresenta animais de vida longa e com baixa especificidade a

tumores. Entretanto, possuem alta suscetibilidade à obesidade induzida por dieta, alta incidência de microftalmia e outras anormalidades oculares, além de preferência por álcool e narcóticos, tornando o seu uso importante para o desenvolvimento de estudos (OLIVEIRA, 2013).

## 1.7 MEDICAMENTOS PARA O TRATAMENTO DA OBESIDADE

Atualmente, existem inúmeros métodos e tratamentos para a obesidade que envolvem dieta, exercício, cirurgias e, frequentemente, farmacoterapia (MASHIKO *et al.*, 2008). O Brasil é um dos países que lideram o mercado mundial em consumo de anorexígenos. Segundo Andriolo *et al.* (2012), em 2009 o país vendeu mais de 3 toneladas de anfepramona, 1,8 toneladas de sibutramina, 1 tonelada de femproporex e 2 quilos de mazindol.

A anfepramona, também conhecida como dietilpropiona, foi lançada no mercado mundial em 1958 com o objetivo de ser um medicamento supressor de apetite, porém sem os efeitos da estimulação a nível de SNC. Seus efeitos parecem ser mediados pela ação de neurônios dopaminérgicos (BRASIL, 2011).

O femproporex é um anorexígeno com estimulação central e simpaticomimético que possui efeitos similares a dextroanfetamina. Ele aumenta a liberação de neurotransmissores e inibe a recaptação de dopamina no hipotálamo lateral, centro da alimentação (BRASIL, 2011).

O mazindol é um supressor do apetite tricíclico, sendo considerado um imidazoisoindol, que possui ação equivalente aos antidepressivos, inibindo a recaptação da serotonina e norepinefrina, além de inibir a dopamina. Possui atividade na inibição dos neurônios sensitivos a glicose, levando a inibição de secreção gástrica, auxiliando na supressão do apetite (BRASIL, 2011).

A sibutramina é uma das drogas mais utilizadas por indivíduos que visam a perda de peso. É identificada como uma mistura racêmica dos enantiômeros do cloridrato de N-(1-(4-cloro-fenil-ciclobutil)-3-metilbutil)-N,N dietilamina; é uma amina terciária que pertence à classe dos derivados de cicloalquilaminas, inicialmente sintetizados como agentes antidepressivos (MALUF & PONTAROLO, 2010). Sua fórmula empírica é  $C_{17}H_{29}Cl_2NO$ , com peso molecular de 334,33. Apresenta-se na forma de um pó cristalino de cor branca e levemente amarelada, com solubilidade de 2,9 mg/ml em água e pH 5,2 (DEFÁVERI *et al.*, 2012).

Sua efetividade na perda de peso está na capacidade de inibição da serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), desempenhando função via SNC no controle da liberação de alguns hormônios, regulação do ciclo circadiano, do sono e apetite e receptação neuronal de noradrenalina (OBERHOLZER; SCHOOR & BESTER, 2015).

Em humanos, a sibutramina é rapidamente absorvida através do sistema digestório seguida da administração oral (BAE *et al.*, 2011), onde a biodisponibilidade do produto chega a cerca de 77%. Ela é metabolizada pelo fígado, e é metilada nos metabólitos farmacologicamente ativos M1 e demetilada a M2 através do CYP3A4. M1 e M2 sofrem hidroxilação e conjugação a glicuronídeo para formar metabólitos inativos M5 e M6 que são excretados pela urina. Sua ação farmacológica está atribuída aos metabólitos M1 e M2 que são capazes de inibir a recaptação de monoamina *in vitro* de forma mais eficaz, quando comparados a própria sibutramina (BAE *et al.*, 2008).

No Brasil, a sibutramina é comercializada na forma farmacêutica de cápsulas nas dosagens de 10 a 15 mg sob os nomes comerciais de Reductil® (Abbott), Plenty® (Mendley) e cloridrato de sibutramina monoidratado® (Mendley) (DEFÁVERI *et al.*, 2012).

Apesar de ser um fármaco aprovado pela ANVISA, atualmente não há ensaios de controle de qualidade de matérias-primas ou das formas farmacêuticas desta droga (RDC nº 41, de 05 de agosto de 2014), que dispõem sobre a obrigação da utilização da substância nos testes e ensaios de controle de qualidade de insumos e especialidades farmacêuticas, em conformidade com a Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2014).

## 1.8 CHÁ VERDE

*Camellia sinensis* (L.) Kuntze é uma planta herbácea que pertence à família das Theaceae (EUROPEAN UNION, 2013) cujo produto de fermentação conhecido como chá verde é largamente consumido pelo mundo inteiro, perdendo somente para a água. Sua popularidade é atribuída a presença de compostos biologicamente ativos como flavonoides, catequinas, polifenóis alcaloides, vitaminas e sais minerais (SCHMITZ *et al.*, 2005) que contribuem para a prevenção de doenças cardiovasculares e diferentes tipos de câncer, apresentando ação anti-inflamatória, antialérgica, prevenção de doenças neurológicas, exercendo função no metabolismo de lipídeos, com principal atribuição no controle de peso corporal e feito hipoglicemiante (ABOURASHED; ROBERSON & ELSHARKAWY, 2014).

Os principais flavonoides presentes nas folhas do chá verde são a quercetina, kaempferol, myricetina, apigenina e luteonina. Os principais polifenóis são o ácido clorogênico, ácido gálico e a teogalina, além de possuir mais de 19 aminoácidos que juntos com as catequinas formam os principais componentes químicos terapêuticos da *Camellia sinensis*, sendo conhecidos como potentes antioxidantes, capturando radicais livres (EUROPEAN UNION, 2013).

Catequinas são compostos coloridos, solúveis em água que doam ao chá o sabor adstringente e amargo (SHIXIAN *et al.*, 2006). Estão presentes no chá verde nas formas de: epigallocatequina-3-gallato (EGCG), galocatequina-3-gallato (GCG), epigallocatequina (EGC), epicatequina-gallato (ECG), epicatequina (EC), catequina-3-gallato (CG) e galocatequina (GC). Elas correspondem a, aproximadamente, 26,7% dos compostos presentes no chá verde, das quais 11% são constituídos de EGCG, 10% de EGC, 2% de ECG, 2,5% de EC e 15% dos demais polifenóis (UEDA *et al.*, 2010).

Quadro 1. Representação dos flavonoides presentes na infusão do chá verde

Flavonoides presentes na infusão de chá verde.	Concentração (mg/100g)
Catequina	2,85
Epicatequina (EC)	8,66
Epicatequina-gallato (ECG)	21,96
Epigallocatequina (EGC)	16,72
Epigallocatequina-3-gallato (EGCG)	88,32
Teaflavinas	0,07
Tearrubiginas	1,08

Adaptado de Hernandez-Figueroa, Rodriguez-Rodriguez e Sanches-Muniz (2004).

O chá verde é produzido a partir das folhas frescas da planta que sofrem uma rápida inativação da enzima polifenol oxidase, mantendo seu teor de polifenóis preservado. A concentração da catequina no chá varia de acordo com a preparação do mesmo. Contudo, a proporção de uma grama de folhas para cada 100ml de água sob fervura por 3 minutos, contem cerca de 35 a 45 mg/100ml de catequinas (VALENZUELA, 2004). Estudos mostraram que os níveis de catequina presentes no plasma humano podem atingir seu pico de duas a quatro horas após a ingestão do chá, e que cerca de 70 a 80% das catequinas ingeridas passam para a

circulação, sendo que 90% está na forma metilada, sulfatada ou conjugada com ácido glicurônico no fígado. A EGCG é excretada através da bile, enquanto que a EGC e CE são excretadas via bile e urina (SENGER; SCHWANKE & GOTTLIEB, 2010).

#### 1.8.1 Chá-verde, seus compostos e estudos na obesidade

A propriedade antioxidante do chá verde está relacionada a estrutura química das catequinas, sendo potencializada pela presença de radicais ligados aos anéis A, B e D e aos grupos de hidroxila, dando a elas a capacidade de capturarem as espécies reativas de oxigênio (ERGO) como o superóxido, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila, transferindo seus elétrons para eles, estabilizando-as e formando um radical menos reativo (SENGER; SCHWANKE & GOTTLIEB, 2010).

Dentre as diversas catequinas presentes no chá verde, a EGCG é a mais abundante, correspondendo em até 59% do total de catequinas (SENGER; SCHWANKE & GOTTLIEB, 2010), e está relacionada com a atenuação da expressão do receptor ativador da proliferação de peroxissoma (PPAR- $\gamma$ ) e CCAAT/ enhancer ligadora de proteína (C/EBP- $\alpha$ ) pela expressão dos sinais extracelulares reguladores de quinases, sinalizando o caminho que estimula ao aumento dos adipócitos. É capaz de inibir a absorção de lipídios dietéticos pela formação de complexos com gorduras e enzimas, interferindo no processo de interesterificação, emulsificação, hidrólise e solubilização. (KIM, 2008).

A fim de verificar se a principal catequina presente no chá verde, a EGCG promoveria a inibição da adipogênese e induziria a apoptose em adipócitos, Lin et al. (2005) incubaram pré-adipócitos maduros por diferentes tempos e concentrações de EGCG. Os resultados mostraram que a catequina foi capaz de inibir a adipogênese e causou a apoptose em células adiposas maduras e a regulação na expressão das adipocinas (WU et al., 2005; LIU et al., 2006).

Esses achados foram sustentados por estudos *in vitro* que demonstraram a EGCG ser capaz de aumentar o consumo de oxigênio pelo tecido adiposo marrom (WANG *et al.*, 2009), regulando a atividade e a expressão de várias enzimas, incluindo a acetil-CoA carboxilase (KU *et al.*, 2014), glicerol-3-fosfato desidrogenase, lipase pancreática, lipo-oxigenase, lipase-hormônio sensível, monofosfato de adenosina (AMP) ativada, inibindo a diferenciação adipogênica em pré-adipócitos em adipócitos maduros (KU *et al.*, 2012), além de regular a secreção de adipocina e a captação de glicose pelos adipócitos. Os efeitos antiobesogênicos da EGCG podem ser explicados pela habilidade de induzir mudanças em tecidos e proteínas

(caspase-3, transportadores de ácidos graxos, p53, transportadores de glicose-sódio dependente etc).

A EGCG é bioativada após sua conjugação com a cisteína na forma 2'-cisteinil-EGCG e 2''-cisteinil-EGCG. Esses metabólitos tem a capacidade de prevenir a liberação do ácido araquidônico e a produção de NO sinalizando uma ação anti-inflamatória e atividade antioxidante (AFZAL; SAFER & MENON, 2015). Com isso, alguns mecanismos de ação da EGCG na prevenção da progressão de cânceres já foram descritos.

Dentre eles, a ativação do fosfoinositol-3-quinase (PI3K) na via sinalizadora de câncer é conhecida por se ligar a EGCG com a PI3K por competição, inibindo e competindo pelo sítio de ligação do ATP no controle de multiplicação das células cancerígenas, designando ao EGCG a atividade anticancerígena. A EGCG também inibe proteínas específicas com expressão alterada em sinalização como o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e multiplicação celular nos estágios de G0 e G1 com aumento no estágio G2M (AFZAL; SAFER & MENON, 2015).

A EGCG tem efeito citotóxico em células cancerígenas do cólon com ação na inibição de DNA metil-transferases e de histonas diacetilases. Extratos do chá verde tem demonstrado proteção dopaminérgica e prevenção da depleção do *striatum* contra sintomas da doença de Parkinson que induzem a produção desta neurotoxina, protegendo a mitocôndria contra a toxicidade amiloide, além de melhorar a função do receptor N-metil-D-aspartame (NMDA) nos neurônios (AFZAL; SAFER & MENON, 2015).

Foi observado um efeito inibitório na expressão do TNF- $\alpha$  mediado pelo NF- $\kappa\beta$  e pelo ativador proteico 1 (AP-1). Além disso, outros efeitos anti-inflamatórios como a pré-inibição das enzimas da ciclo-oxigenase 2 (COX-2) e lipo-oxigenase do metabolismo de ácido araquidônico, assim como a inibição da formação de tromboxanos e 12-ácido-hidroxiheptadecatrienoico foram designados como ação do chá verde (SENGER; SCHWANKE & GOTTLIEB, 2010).

Segundo Bartels & Miller (2003), o consumo diário de chá obtido a partir de 65g de folhas por 5 anos pode acarretar em disfunção hepática, problemas gastrointestinais e irritação gástrica, assim como na diminuição do apetite, insônia, nervosismo, hipertensão e taquicardia. Essas altas doses estão correlacionadas com a presença de cafeína nas folhas, com isso, é importante haver cautela no uso do chá. Sharma *et al.* (2008), demonstrou que o uso do chá verde deve ser concomitante com o consumo alimentar, evitando a ingestão em horários de

jejum, e o extrato consumido em doses acima do máximo recomendado (100 a 750 mg/dia) pode levar ao aparecimento de causas adversas, sendo tóxica ao organismo.

Estudos em humanos tem se mostrado bastante positivos acerca do papel da epigallocatequina-3-gallato, do chá verde em relação ao controle de peso corporal e perda de peso. Segundo Johnson, Bryant e Huntley (2012), o consumo de chá verde com cafeína foi capaz de diminuir, significativamente, o peso corporal e o IMC de adultos obesos quando comparado somente com o grupo controle de cafeína, porém sem mostrar eficácia na medida antropométrica circunferência de quadril. De acordo com Huang *et al.* (2014), a suplementação por mais de 3 meses com extrato do chá verde é capaz de baixar os níveis de colesterol plasmático em pacientes obesos com IMC na faixa de  $32,8\text{kg/m}^2$ , em comparação ao grupo controle, associado a uma dieta com restrição calórica. Após 90 dias de suplementação com 300mg de chá verde livre de cafeína associado a uma dieta de restrição calórica, houve uma notável redução na perda de peso em cerca de 9kg com redução de IMC em 7% no grupo tratado em relação ao grupo controle.

Senger; Schwanke & Gottlieb em (2010) mostraram que a modulação de enzimas hepáticas de Fase I e Fase II, e da família citocromo P450 (CYP 1 e 2), após o consumo de chá verde, apresentaram suas atividades aumentadas através da incubação dos microsomos hepáticos ou citossólicos. Essas enzimas são capazes de diminuir o risco de câncer, além de aumentar a atividade enzimática CYP1A1, sugerindo, então a ação do chá verde como modulador hepático (SENGER; SCHWANKE & GOTTLIEB, 2010).

Apesar da presença de outras catequinas no chá verde, somente a EGCG mostrou-se eficaz na inibição da expressão de genes envolvidos na resposta inflamatória, processo esse dado pela indução da iNOS e a IRF-1. A incubação de células com EGCG leva ao decréscimo da fosforilação da transcrição do fator STAT-1 $\alpha$  da qual a ativação é necessária para a transcrição destes genes, enquanto os outros fatores como NF- $\kappa\beta$ , SP-1 e AP-1 não são moduladas (TEDESCHI; SUZUKI & MENEGAZZI, 2002).

Esses autores indicam que a interação entre as catequinas e a cafeína presente nas folhas do chá verde liberam, através de via simpática, a noradrenalina (NA) responsável pelo efeito de termogênese no TAM. A ação das catequinas e da cafeína ocorrem em diferentes pontos de controle do ciclo da NA e no AMP cíclico mediadas por efeitos sinérgicos, tendo então, a EGCG a capacidade de inibir o COMT (catecol-O-metil-transferase), uma enzima que degrada NA, portanto prolongando a ação simpática da mesma (WOLFRAM; WANG & THIELECKE,

2006). O COMT está presente em vários tecidos, ligados a membranas em sua forma solúvel. Como sua principal função é eliminar os compostos da NA, diminuindo a metilação hidrofílica e promovendo a sulfatação / glucoronidação, que geralmente é necessária para a efetiva eliminação do organismo (SHIXIAN *et al.*, 2006), ele modula a ação da NA, exercendo efeito termogênico, através da prolongação da ação de NA.

## 1.9 VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ATRIBUIÇÕES E DEFINIÇÃO

A Vigilância Sanitária é por definição "um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde" (BRASIL, 1990).

As ações atribuídas a Vigilância Sanitária englobam variadas categorias de objetos com diversos órgãos e instituições. É uma das mais antigas práticas de Saúde Pública do mundo associadas ao processo de regulação, monitoramento e fiscalização de produtos e serviços, com caráter multidisciplinar, com a capacidade de intervir nas relações sociais de produção-consumo a fim de realizar a prevenção, diminuição ou eliminação de riscos ou danos à saúde, seja ela individual ou coletiva. (COSTA, 1999; ROZENFELD, 2012).

## 2 JUSTIFICATIVA

Devido à alta prevalência da obesidade no mundo, e particularmente, no Brasil, campanhas de controle da obesidade tem sido boa aliada ao combate à doença. Diante disso, houve um grande interesse pelas indústrias farmacêuticas na produção de medicamentos ou drogas auxiliaadoras no tratamento da obesidade para aqueles indivíduos que não conseguiam alcançar resultados com dieta e atividade física (BORSATO *et al.*, 2008).

Com isso, com o alto custo de medicamentos industrializados, bem como pela necessidade de prescrição médica, a população tem buscado cada vez mais tratamentos alternativos, principalmente, a base de formulações fitoterápicas. Dentre as terapias alternativas, os fitoterápicos destacam-se, pois possibilitam o emagrecimento através do aumento da termogênese, associada ou não a absorção de gordura dietética (PINTO, 2013).

A má qualidade de um produto fitoterápico ou droga vegetal pode comprometer a sua eficácia, levando a possíveis riscos à saúde do consumidor. E o concomitante aumento no consumo de medicamentos moderadores de apetite, como a sibutramina tem levantado a questão da sua eficácia, pureza da matéria prima e a necessidade de garantir a qualidade do produto antes de chegar ao consumidor.

Com isso, o Brasil tem se preocupado em estabelecer diretrizes que objetivam o uso de plantas medicinais ou de medicamentos que atuam no controle da obesidade dentro de requisitos de segurança, considerando a política de medicamentos estabelecida com o uso racional de medicamentos (BRASIL, 1998).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Este trabalho tem como objetivo estabelecer um modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica, que mimetizasse características observadas em humanos.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estabelecer um modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica em animais;
- Avaliar por meio de ensaio farmacológico o uso do medicamento sibutramina, moderador de apetite liberado pela ANVISA, como redutor de peso corporal;
- Avaliar por meio de ensaio farmacológico a planta medicinal comercializada em forma de cápsulas, o chá verde que segundo a literatura, possui atividade na redução de peso corporal.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 45 camundongos machos da linhagem C57BL/6, saudáveis, com 7 semanas de vida (20 a 25g), obtidos do Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL) da Fundação Oswaldo Cruz. Após uma semana de adaptação, os animais foram divididos em dois grupos com dietas distintas para consumo.

Na primeira fase do estudo, n=15 animais consumiram uma dieta padrão, também chamada de normocalórica, e n=30 animais consumiram uma dieta hiperlipídica para ganho de peso. O tratamento com as dietas normocalórica e hiperlipídica tiveram a duração de 9 semanas. Após essas 9 semanas de consumo de ração, alguns animais foram selecionados para seguirem adiante na segunda fase do estudo, e aqueles que sobraram foram sacrificados para posterior análise bioquímica e peso de órgãos.

Na segunda fase do estudo n=27 animais foram selecionados para continuar na fase do tratamento, e eles foram subdivididos em três grupos de n=7 animais, e um grupo composto por n=6 animais. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, e os novos grupos foram denominados: dieta normocalórica ou padrão (controle negativo); dieta hiperlipídica – dieta padrão (controle positivo) + salina; dieta hiperlipídica – dieta padrão + chá verde (10mg/kg) e dieta hiperlipídica – dieta padrão + sibutramina (10mg/kg), por 4 semanas de tratamento.

O protocolo experimental dessa pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Fundação Oswaldo Cruz, sob licença de número P17/13-5. Os animais tinham água e alimentação *ad libitum*, com ciclo claro/escuro de 12 horas e temperatura de  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante todo o experimento. Durante a primeira fase do estudo, o consumo de ração e água foram avaliados três vezes na semana, e o peso corporal dos animais, verificado uma vez por semana. E na segunda fase do estudo, o consumo de água, consumo de ração e peso corporal foram avaliados uma vez na semana, e a administração de chá verde e da droga na dose de 10mg/kg cada, por gavagem orogástrica, foram administrados diariamente, exceto nos finais de semana.

## 4.2 DIETA

Dois tipos de dietas foram utilizados neste estudo: uma dieta padrão ou normocalórica, e uma dieta hiperlipídica para aumento de peso corporal, durante 9 semanas. As dietas foram adquiridas comercialmente pela PragSoluções (Jaú – SP, Brasil), cujas composições dietéticas encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Composição das dietas padrão e hiperlipídica em g/kg e kcal.

<b>Ingredientes</b>	<b>Dieta padrão</b>		<b>Dieta hiperlipídica</b>	
Amido de Milho	415g	1660	143g	572
Caseína	200g	800	200g	800
Amido dextrinizado	70g	280	70g	280
Sacarose	80g	320	80g	320
Óleo de soja	70g	630	50g	450
Celulose microcristalina	50g	0	50g	0
Mix mineral AIN 93G	34,90g	0	35g	0
Mix vitamina AIN 93	10g	40	10g	40
L cistina	3g	12	3g	12
Bitartarato de colina	0,61g	0	2,5g	0
Farelo de soja	64,5g	258	54,5g	218
BHT	0,014g	0	0,05g	0
Banha	0g	0	302g	2.718,00
<b>Total</b>	<b>998,024 g</b>	<b>4000 kcal</b>	<b>1000,5 g</b>	<b>5.410,00 kcal</b>

Dieta padrão: 565g de carboidratos (56,5%); 264,5g de proteína (26,45%) e 70g de lipídeos (15,75%).

Dieta hiperlipídica: 293g de carboidratos (21,66%); 254,5g de proteínas (18,81%) e 352g de lipídeos (58%)

### 4.3 EXAMES BIOQUÍMICOS

Ao final da primeira (n=18) e segunda (n=27) fase dos experimentos, os animais foram anestesiados com tiopental sódico na dose de 10mg/kg via intraperitoneal (v.i), e o sangue foi coletado através de pulsão cardíaca para realização de análise bioquímica. As alíquotas de sangue foram armazenadas em mini tubos hemo com gel separador ativador de coágulo e enviados ao CECAL para posterior análise. A partir dessas amostras foram avaliados os níveis séricos de colesterol total (CT), glicose (GLI), uréia, creatinina, ácido úrico, albumina, aspartato-aminotransferase (AST), alanina-aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina e gama GT (GGT).

Após a coleta de sangue, foram retirados os coxins adiposos epididimais e os fígados dos animais para posterior pesagem em balança analítica. Os órgãos foram mergulhados em solução salina, sendo o excesso de solução retirado pelo uso de papel filtro, e imediatamente, pesados.

### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram representados através da média  $\pm$  desvio padrão e a comparação entre dois grupos foi feita por meio do teste t-Student, e a fim de comparar dois ou mais grupos, foi realizado o teste estatístico Análise de Variância (one-way ANOVA) com teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Foi considerado significativo  $p \leq 0.05$ .

## 5 RESULTADOS

Durante a primeira fase do estudo, foi possível observar que o grupo que consumiu a dieta normocalórica teve um consumo alimentar e hídrico estatisticamente significativo (Figuras 1 e 2) em comparação ao grupo que recebeu dieta hiperlipídica durante as 9 semanas de estudo. O consumo alimentar da dieta hiperlipídica foi reduzido, quando comparado ao grupo dieta normocalórica devido ao poder de saciedade produzido pela alta ingestão lipídeos nos animais. O consumo de lipídeos na dieta tem a capacidade de inibir o rápido esvaziamento gástrico pela atividade em esfíncter pilórico, em consequência da liberação da enzima colecistoquinina (CCK).

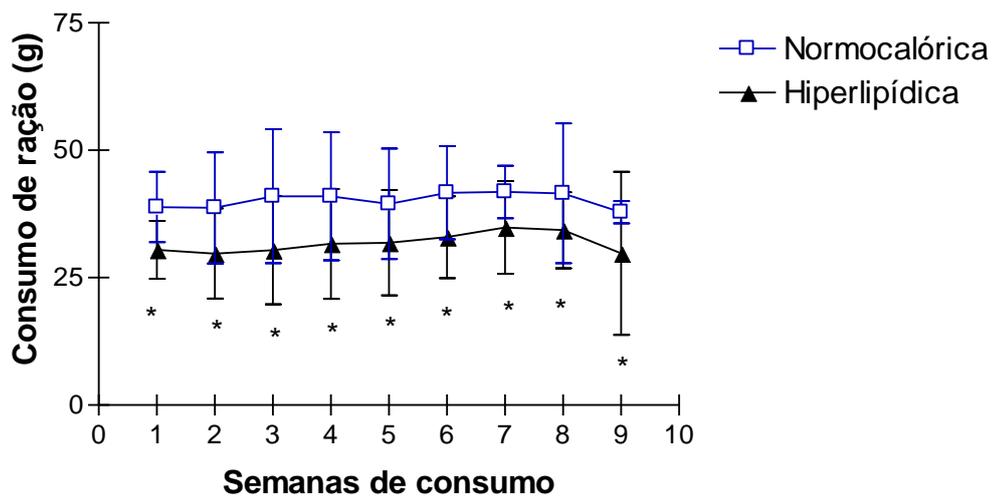


Figura 1: Consumo de ração normocalórica (n=15) e hiperlipídica (n=30) em (g) durante 9 semanas. Dos resultados foram obtidos a média  $\pm$  desvio padrão, e o teste t-Student, onde  $p < 0.0001$ .

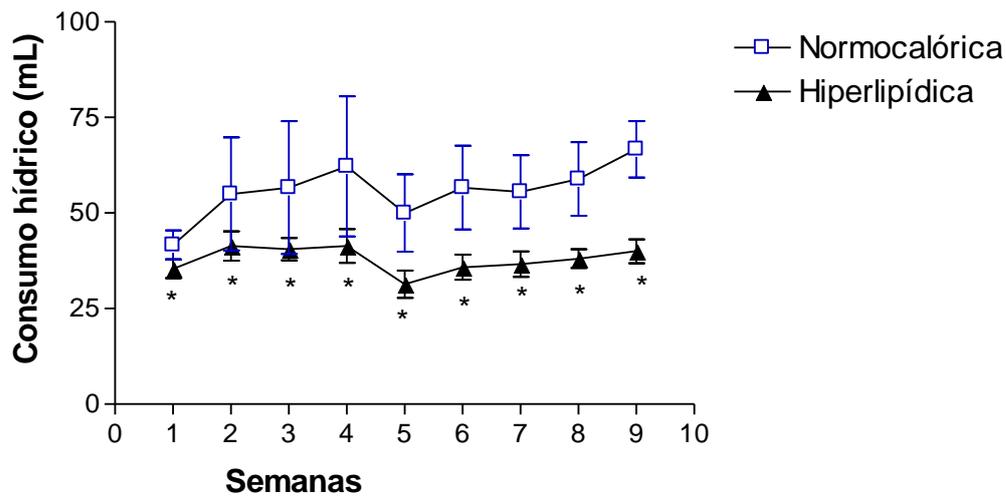


Figura 2: Consumo hídrico entre os grupos de dieta normocalórica (n=15) e hiperlipídica (n=30) em (mL) durante 9 semanas. Dos resultados foram obtidos a média  $\pm$  desvio padrão, e o teste t-Student, onde  $p < 0.0001$ .

Apesar de não apresentar diferença estatística entre grupos durante todo o estudo na primeira fase, o grupo que consumiu a dieta hiperlipídica passou a apresentar, a partir da oitava semana de consumo da dieta, uma ligeira diferença, porém não significativa, do ganho de peso corporal quando comparado ao grupo dieta normocalórica (Figura 3).

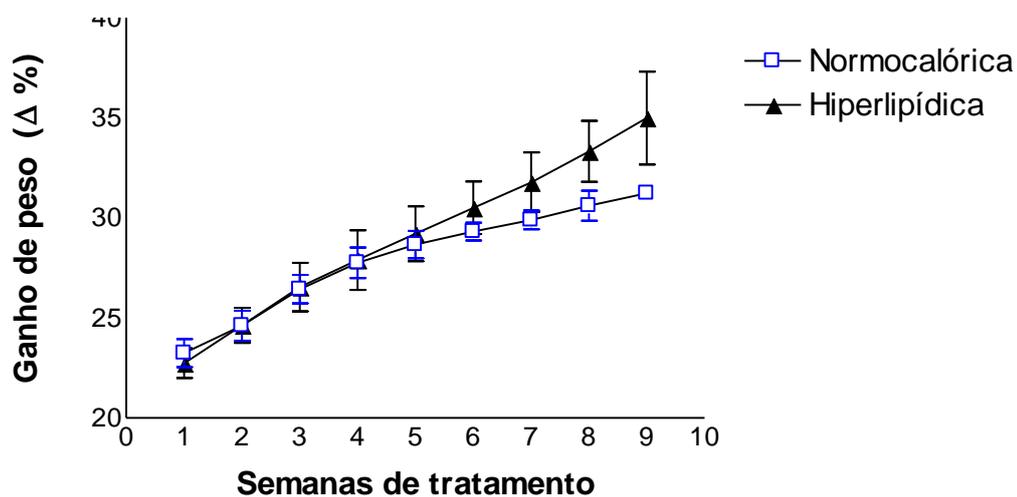


Figura 3: Delta de ganho de peso (%) dos animais durante 9 semanas com dieta normocalórica (n=15) e hiperlipídica (n=30). Os resultados foram obtidos através da média  $\pm$  desvio padrão e a comparação entre grupos foi feita através do teste t-Student, onde  $p > 0.05$ .

Este resultado mostra o peso relativo dos órgãos dos animais (Figura 3) que participaram da primeira fase do estudo, onde houve o consumo de dietas normocalórica e hiperlipídica. Apesar de não existir significância estatística entre grupos, é possível observar que os animais que consumiram a dieta hiperlipídica apresentaram um maior volume de massa adiposa epididimal, que representa uma faixa da gordura visceral, quando comparado ao grupo dieta normocalórica. Esse dado é correlacionado com o ganho de peso dos animais durante as 9 semanas de consumo alimentar (Figura 1), onde a partir da sexta semana de dieta, os animais do grupo dieta hiperlipídica passaram a apresentar uma ligeira diferença que vai se prolongando até a última semana de dieta, quando comparado ao grupo que consumiu uma dieta normocalórica.

Em relação ao peso relativo dos fígados dos animais entre grupos, o consumo de dieta rica em lipídios não mostrou diferença significativa em relação aos animais que consumiram uma dieta normocalórica.

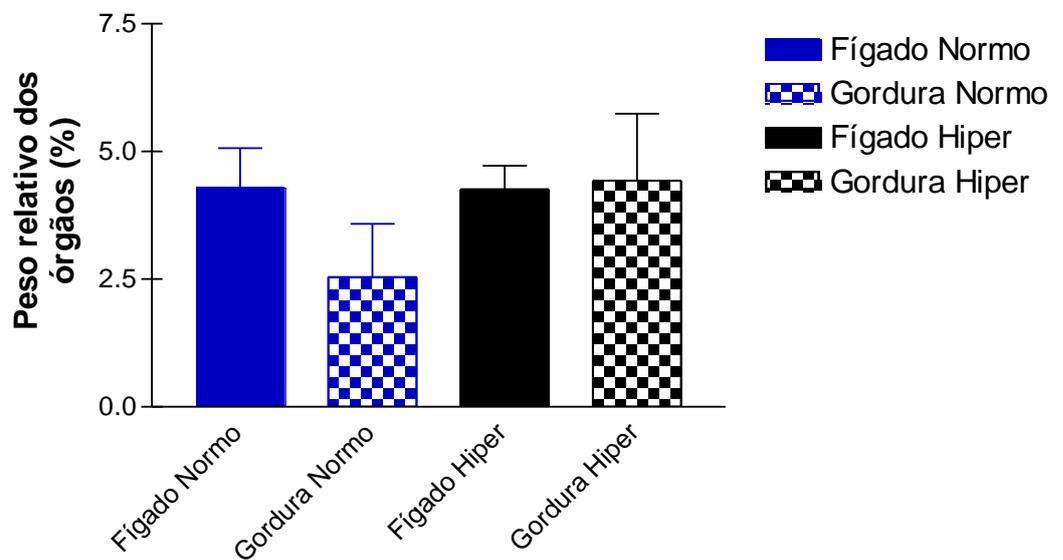


Figura 4: Peso relativo dos órgãos (fígado e gordura epididimal) em (%) dos animais durante 9 semanas de consumo alimentar com dietas normocalórica (n=15) e hiperlipídica (n=30). Os resultados foram obtidos através da média  $\pm$  desvio padrão e one-way ANOVA, teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, onde  $p > 0.05$ , não sendo significativo.

Com relação a análise bioquímica, não houve diferença estatística significativa entre grupos em nenhum dos parâmetros avaliados (Tabela 2), embora exista uma tendência para o aumento da glicose no grupo dieta normocalórica, e conseqüentemente, aumento na taxas de colesterol no grupo dieta hiperlipídica, devido a composição da dieta dos animais ser composta por 58% de lipídeos saturados. Apesar da ligeira acentuação do colesterol no grupo dieta hiperlipídica ( $110,10 \pm 46,62$ ), a transaminase ALT ( $57,30 \pm 26,30$ ) apresenta-se um pouco elevada em relação ao grupo dieta normocalórica ( $49,87 \pm 22,66$ ). Por ser um indicador sensível de dano hepático, a desordem nesta enzima não estabelece um diagnóstico, porém indica que o órgão associado à sua produção, o fígado, está com elevações no nível de gordura, associando este a dieta alimentar.

Tabela 2: Análise bioquímica dos animais com dieta padrão e dieta hiperlipídica.

<b>Análise bioquímica</b>	Dieta padrão	Dieta hiperlipídica
<i>GLICOSE (mg/dL)</i>	$163,0 \pm 70,78$	$141,70 \pm 56,93$
<i>Uréia (mg/dL)</i>	$46,43 \pm 20,04$	$46,69 \pm 18,40$
<i>Creatinina (mg/dL)</i>	$0,087 \pm 0,035$	$0,09 \pm 0,03$
<i>Ácido úrico (mg/dL)</i>	$2,150 \pm 0,935$	$2,40 \pm 2,48$
<i>Albumina (mg/dL)</i>	$1,437 \pm 0,590$	$1,58 \pm 0,56$
<i>AST (U/L)</i>	$135,25 \pm 99,20$	$128,20 \pm 67,76$
<i>ALT (U/L)</i>	$49,87 \pm 22,66$	$57,30 \pm 26,30$
<i>Fosfatase alcalina (U/L)</i>	$54,50 \pm 28,08$	$55,90 \pm 21,68$
<i>GGT (U/L)</i>	$4,375 \pm 1,767$	$4,50 \pm 1,58$
<i>Colesterol (mg/dL)</i>	$78,87 \pm 39,99$	$110,10 \pm 46,62$

Dos valores obtidos entre grupos foram realizadas as médias  $\pm$  desvio padrão entre as análises, e realizado o teste t-Student, onde os valores encontrados apresentaram  $p \geq 0,05$ .

Após as nove semanas de ganho de peso, os animais foram subdivididos em novos grupos identificados como: dieta normocalórica, obeso/dieta, obeso/sibutramina e obeso/chá verde. O consumo de ração e consumo hídrico entre os grupos não apresentou significância estatística durante as 4 semanas de tratamento (Figura 5 e 6). Apesar dos animais obeso/sibutramina apresentarem uma ingesta alimentar relativamente menor, quando comparada aos demais grupos, e do medicamento ter função de inibição do apetite via SNC nos animais, ele não apresentou significância estatística quando comparado ao grupo obeso – dieta e obeso – dieta + chá verde. O mesmo se aplica ao consumo hídrico entre as semanas de tratamento, onde por todo o experimento, o consumo hídrico entre grupos manteve-se homogêneo, não apresentando diferença entre grupos.

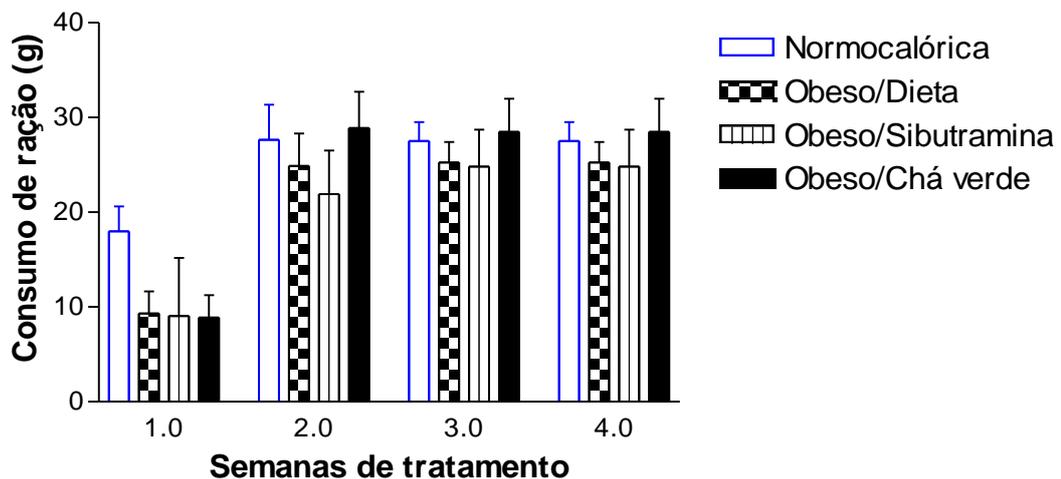


Figura 5: Consumo de ração entre os grupos controle (dieta normocalórica) (n=6), obeso/dieta (n=7), obeso/sibutramina (10mg/kg) (n=7) e chá verde (10mg/kg) (n=7), durante 4 semanas de tratamento. Dos resultados obtidos foram realizados média  $\pm$  desvio padrão, e teste t-Student, onde não houve diferença estatística entre grupos,  $p > 0.05$ .

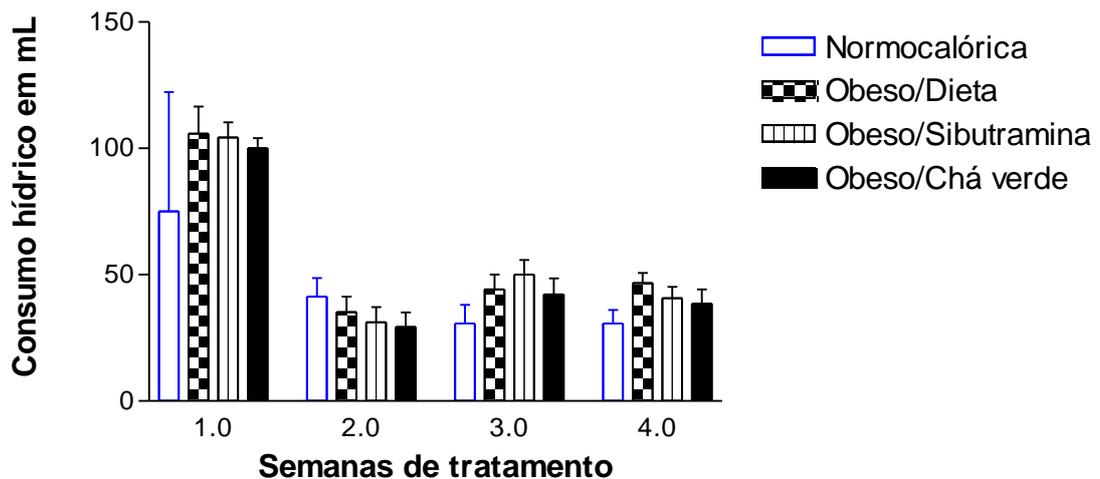


Figura 6: Consumo hídrico entre os grupos controle (dieta normocalórica) (n=6), obeso/dieta (n=7), obeso/sibutramina (10mg/kg) (n=7) e chá verde (10mg/kg) (n=7), durante 4 semanas de tratamento. Dos resultados obtidos, foram realizados a média  $\pm$  desvio padrão e teste t-Student, onde  $p > 0.05$  para todos os grupos.

Durante o primeiro ensaio com as dietas normocalórica e hiperlipídica, os animais apresentaram um ganho de peso esperado a partir da 6<sup>a</sup> semana de tratamento (Figura 3). A partir da segunda fase do estudo, os animais foram subdivididos em quatro grupos onde todos passaram a consumir uma dieta normocalórica, a fim de mimetizar um padrão de dieta normal a que um humano se submeteria. Os grupos obeso/dieta, obeso/sibutramina e obeso/chá verde receberam, diariamente 10mg/kg de sibutramina e chá verde por via oral durante 4 semanas. O grupo dieta normocalórica manteve um delta de perda de peso corpóreo entre ( $3,89 \pm 0,13$  %), o grupo obeso/dieta teve um percentual de perda de peso ( $13,94 \pm 0,35$ %) e os grupos sibutramina e chá verde apresentaram ( $17,81 \pm 0,35$ %) e ( $15,24 \pm 0,28$ %) de perda de peso, respectivamente (Figura 7).

Os animais do grupo obeso/dieta e chá verde obtiveram uma perda de peso representativa até a segunda semana de tratamento, entretanto, da segunda semana até a quarta, os animais pararam de perder peso. Acredita-se que os animais do grupo obeso/dieta - chá verde pararam de perder peso corporal devido ao sabor e odor da erva, bem característico o que pode ter levado a um certo estresse aos animais.

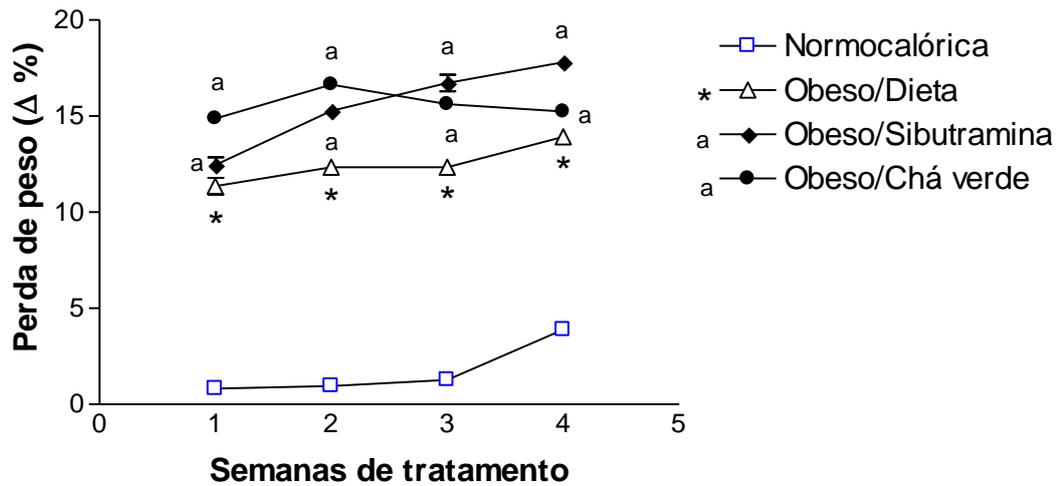


Figura 7: Delta de perda de peso corpóreo entre os grupos controle (dieta normocalórica) (n=6), obeso/dieta (n=7), obeso/sibutramina (10mg/kg) (n=7) e chá verde (10mg/kg) (n=7), durante 4 semanas de tratamento. Dos resultados obtidos, foram realizados a média  $\pm$  desvio padrão e teste t-Student entre grupos, onde houve significância estatística entre os grupos controle e obeso/dieta ( $P < 0.0001$ ), obeso/dieta – obeso/sibutramina ( $P = 0.024$ ) e obeso/dieta – obeso/chá verde ( $P = 0.01$ ).

Em relação ao peso relativo dos órgãos dos animais que participaram da segunda fase do estudo, tanto a gordura epididimal quanto o peso do fígado entre grupos não apresentou significância estatística entre eles. Acredita-se que essa diferença não ocorreu devido ao ganho de peso corporal de determinado grupo de tratamento, como o grupo obeso/dieta – chá verde, quando comparado ao grupo obeso/dieta.

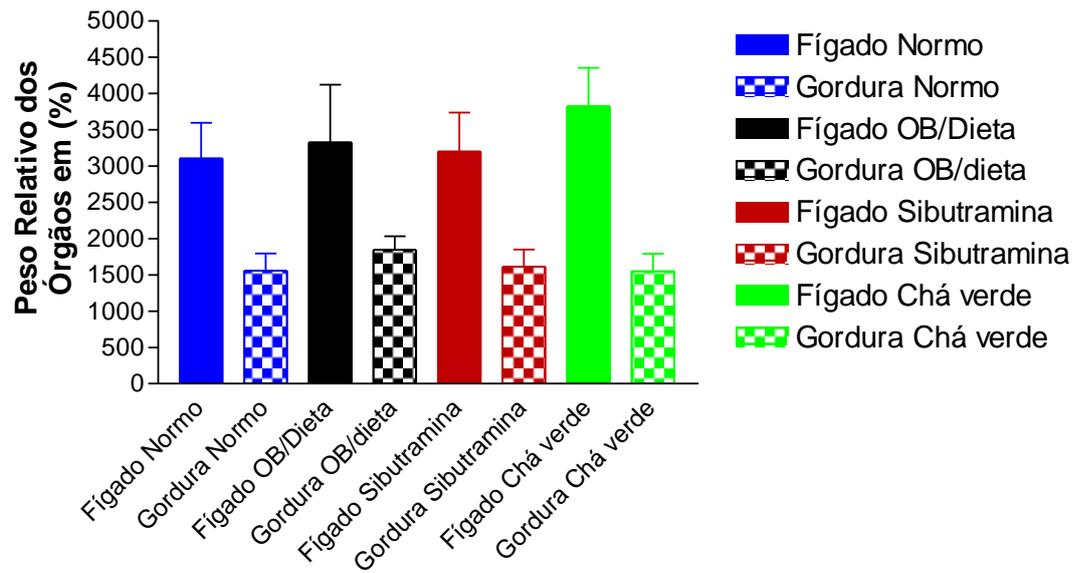


Figura 8: Peso relativo em (%) de órgãos dos grupos controle (dieta normocalórica), obeso/dieta, obeso/sibutramina (10mg/kg) e chá verde (10mg/kg), durante 4 semanas de tratamento. Dos resultados foram obtidos a média  $\pm$  desvio padrão e one-way ANOVA, teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, onde  $p > 0.05$ , não sendo significativo.

TABELA 3: Análise bioquímica dos animais com dieta padrão, obeso–dieta padrão, obeso–dieta padrão + sibutramina (10mg/kg/dia) e obeso – dieta padrão + chá verde (10mg/kg/dia), durante 4 semanas de estudo.

<i>Análise bioquímica</i>	Dieta padrão	Obeso – dieta padrão	Obeso – dieta padrão + sibutramina	Obeso – dieta padrão + Chá verde
<i>GLICOSE (mg/dL)</i>	122 ± 42,97	123,16 ± 32,57	123,16 ± 39,52	124,28 ± 29,52
<i>Creatinina (mg/dL)</i>	0,166 ± 0,081	0,2 ± 0,02	0,18 ± 0,04	0,21 ± 0,03
<i>Ácido úrico (mg/dL)</i>	2,93 ± 0,42	2,71 ± 0,47	2,51 ± 0,38	2,8 ± 0,54
<i>Albumina (mg/dL)</i>	1,56 ± 0,12	1,58 ± 0,13	1,51 ± 0,13	1,55 ± 0,12
<i>AST (U/L)</i>	83 ± 39,94	54,83 ± 20,90	86,5 ± 32,63	90 ± 59,39
<i>ALT (U/L)</i>	43,5 ± 19,94	32,16 ± 9,45	45,5 ± 14,34	39,57 ± 10,21
<i>Colesterol (mg/dL)</i>	57,16 ± 14,94	59,66 ± 16,08	56,33 ± 12,42	52,74 ± 26,42

Dos valores obtidos entre grupos foram realizadas as médias ± desvio padrão entre as análises, e realizado o teste t-Student, onde os valores encontrados apresentaram  $P \geq 0.05$ .

Com relação a análise bioquímica dos grupos pertencentes a segunda fase do estudo, não houve significância estatística entre grupos em nenhum dos parâmetros avaliados, assim como nos grupos presentes na Tabela 2. Entretanto, o grupo obeso/dieta+ chá verde apresentou um ligeiro aumento na transaminase hepática AST que está relacionada com a produção de energética, sendo encontrada no citoplasma de inúmeras células do fígado, coração, músculos esqueléticos, rins, pâncreas e até hemácias. Sua presença alterada isolada não apresenta correlação com lesão hepatocelular, porém uma causa plausível para o aumento relativo dessa transaminase é a presença do quadro de obesidade nos animais.

## 6 DISCUSSÃO

Nosso trabalho mostra que para o controle efetivo da obesidade é necessária uma gama de fatores que correlacionados possam contribuir para a positividade do objetivo na perda de peso. Com isso, é importante salientar que o controle da dieta é um dos fatores primordiais para que isso aconteça. Demais tratamentos com drogas moderadoras de apetite e fitoterápicos com propriedades emagrecedores tem se tornado bons aliados na ajuda da perda e controle de peso corpóreo.

### 6.1 PESO CORPORAL

Há anos que o chá verde tem sido relatado em estudos acerca da sua importância no controle do peso corpóreo. Corroborando com achados de Bose et al. (2008), os animais após 16 semanas de tratamento com dietas hipolípídica, hiperlipídica e hiperlipídica com a epigalocatequina-3-gallato, componente principal do chá verde não mostrou diferença significativa entre grupos, entretanto os animais que fizeram o consumo de ração hiperlipídica obtiveram um maior ganho de peso em comparação aos demais animais durante todo o tratamento. Com isso, Klaus et al. (2005), mostrou que animais tratados com a catequina do chá verde EGCG por 30 dias em diferentes concentrações apresentaram, mesmo com o consumo de dieta hiperlipídica, um ganho de peso corpóreo menor quando comparado ao grupo controle com dieta hiperlipídica, e com isso, o ganho de massa gorda foi menor entre os grupos.

Em nosso estudo, os animais apresentaram um ganho de peso corporal, porém não significativo, em relação ao grupo dieta normocalórica, a partir da oitava semana de consumo alimentar. Entretanto, o fato de não haver diferença significativa no ganho de peso corporal dos animais deve se ao curto tempo de consumo da dieta, quando comparado com outros estudos em que animais realizam o consumo de dieta hiperlipídica para ganho de peso com o mínimo de dezesseis semanas de estudo.

## 6.2 CONSUMO ALIMENTAR E HÍDRICO

Segundo Bose et al. (2008), camundongos tratados por 16 semanas não apresentaram diferença significativa, tanto no primeiro quanto no segundo ensaios, no consumo alimentar entre grupos, apesar dos animais pertencentes ao grupo dieta hiperlipídica apresentarem um maior ganho de peso em comparação ao grupo controle a partir da terceira semana de tratamento. Em contrapartida, nossos achados mostram que houve durante a 1<sup>o</sup> fase do tratamento diferença significativa no consumo de ração (Figura 1) entre os grupos, e esse achado afirma a capacidade de controle através do sistema nervoso entérico na regulação da saciedade pela diferença do consumo de macronutrientes, entretanto, o mesmo não se mantém durante a 2<sup>o</sup> fase do tratamento.

Chen et al. (2011), camundongos da linhagem C57BL/6J, alimentados com ração hiperlipídica em 60% de lipídeos por mais de 10 semanas de tratamento não apresentaram diferença no consumo alimentar durante a intervenção quando comparados a outros grupos. De acordo com Mashiko et al. (2008), o tratamento com sibutramina na dose de 10mg/kg dia em camundongos da linhagem C57BL/6J suprimiu, potencialmente, o consumo alimentar, o que acarretou numa maior perda de peso quando comparada com outros grupos no tempo de tratamento. Todavia, com o estabelecimento do consumo alimentar, os animais exibiram um equilíbrio na perda de peso a partir da segunda semana de tratamento quando comparado a primeira (MASHIKO, 2008).

Em nosso estudo, (Figura 7) os animais tratados com sibutramina na dose de 10mg/kg/dia via oral exibiram uma perda de peso linear até o último dia de tratamento, sendo significativo quando comparado ao grupo obeso que estava somente com dieta normocalórica + salina (10 mg/kg/dia).

## 6.3 GLICOSE, COLESTEROL E ALT

Diferentemente do encontrado em nossos achados, animais que consumiram dieta hiperlipídica mostraram elevados níveis de glicose plasmática, colesterol e ALT quando comparados com animais alimentados com a dieta hipolipídica (BOSE et al. 2008 e SANTAMARINA et al. 2015). Com a elevação nos níveis de ALT, pode-se relatar um aumento significativo no tamanho do fígado através de análises histopatológicas indicando a deposição de gotículas de gordura em microvesículas hepáticas, que está relacionado a esteatose hepática

e ao consumo da dieta rica em lipídeos. Podemos relatar que nos dois ensaios realizados (Tabelas 2 e 3), não houve diferença entre grupos nos níveis de glicose plasmática, colesterol e ALT, apesar de no 1º ensaio, o grupo dieta hiperlipídica expor um considerável aumento no nível de ALT, quando comparado ao grupo dieta normocalórica. Conforme nossos achados, Klaus et al. (2005), relataram que não houve diferença estatística entre grupos quando a glicose plasmática foi avaliada, mostrando que mesmo em diferentes concentrações da catequina do chá verde, mesmo com o consumo de dieta hiperlipídica, o chá verde não foi capaz de diminuir/controlar a glicose sanguínea e o colesterol dos animais tratados.

#### 6.4 FÍGADO E MASSA ADIPOSITIVA VISCERAL

Segundo Chen et al. (2011), animais do grupo dieta hiperlipídica apresentaram um maior percentual de massa adiposa visceral (mesentérica, epididimal e retro peritoneal) quando comparado ao grupo controle com consumo de dieta hipolipídica. Com isso, apesar da associação de dieta hiperlipídica, altos níveis de ALT e aumento na deposição de gordura no fígado, não houve diferença significativa entre o fígado do grupo dieta hiperlipídica e dieta hipolipídica. Entretanto, o grupo tratado com chá verde na forma de EGCG obteve um menor peso do órgão, quando comparado com o grupo dieta hiperlipídica.

Bose et al. (2008), sugeriram a análise de percentual de gordura a partir do ensaio de absorptometria de raio X de dupla energia (dexa), e mostraram que o grupo tratado com a catequina do chá verde apresentou um reduzido depósito de gordura visceral mesentérica e retroperitoneal relacionado aos demais grupos. Esse estudo mostra que apesar de dois ensaios em tempos diferentes e de tratamentos diferentes, não houve diferença significativa entre grupos tanto no primeiro quanto no segundo ensaios em relação ao peso relativo do fígado e da gordura epididimal dos animais. O fato do chá verde contribuir para a redução de gordura visceral está descrito em literatura, porém necessita-se de mais estudos que possam comprovar sua atividade *in vivo*; é dada pela ação de apoptose nos adipócitos prevenindo sua diferenciação e inibindo enzimas lipolíticas como a PPAR- $\gamma$  e a C/EBP- $\alpha$  (CHEN, OSAKI e SHIMOTOYODOME, 2015).

## 7 CONCLUSÃO

Nossos achados mostram que foi possível estabelecer um modelo experimental de obesidade nos animais que consumiram uma dieta rica em lipídeos durante a primeira fase do ensaio. Na segunda fase do estudo, pode-se perceber que o controle da dieta nos animais obesos foi capaz de levar a uma perda de peso significativa no grupo obeso – dieta, e associado a dieta padrão ao uso da sibutramina, a perda de peso no grupo apresentou-se mais acentuada.

Animais obesos nutridos com dieta padrão associada ao consumo de chá verde apresentaram uma pequena perda de peso quando comparado ao grupo obeso – dieta padrão. A importância do chá verde está associada com a diminuição de gordura corporal visceral sem comprometer o consumo alimentar, e com isso travar uma associação com perda de gordura corporal e perda de massa magra. Em contrapartida, apesar de uma perda de peso significativamente maior entre os animais que foram tratados com a sibutramina, os animais apresentaram uma acentuada perda de peso na primeira semana devido a ativação a nível de SNC da inibição do apetite. O modelo proposto é confiável para o estudo farmacológico de fármacos sintéticos e naturais.

## 8 REFERÊNCIAS

ABOURASHED, E.A.; ROBERSON, C.L.A & ELSHARKAWY, N. Content variation of catechin markers, total phenolics and caffeine in green tea dietary supplements. *Journal of Dietary Supplements*. p.1-14, 2014.

AFZAL, M.; SAFER, A.M.; MENON, M. Green tea polyphenols and their potential role in health and disease. *Inflammopharmacology*. v.23, p.151-161, 2015.

ANDRIOLO, D. S. M. et al. Investigation on the occurrence of anorexigens, benzodiazepines and antidepressants in the weight-reducer phytotherapy formulations. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. v. 71, n. 1, p. 148-52, 2012.

ANJOS, L. A. *Obesidade e saúde pública*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.

ANTUNA-PUENTE, B. et al., Adipokines: The missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes & Metabolism*. v.34, p. 2-11, 2008.

BAE, S.K. et al. Cytochrome PP450 2B6 catalyzes the formation of pharmacologically active sibutramine (N-{1-[1-(4-chlorophenyl) cyclobutil]-3-methylbutyl}-N,N-dimethylamine) metabolites in human liver microsomes. *Drug metabolism and Disposition*. v.38, p.1679-88, 2008.

BARTELS, C.L. & MILLER, S.J. Dietary supplements marketed for weight loss. *Nutr. Clin Pract*. v.18, p.156-69, 2003.

BASTOS, D. H. M; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo*. v.53, n. 5, 2009.

BOSE, M. et al. The major green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, inhibits obesity, metabolic syndrome, and fatty liver disease in high-fat-fed mice. *The Journal of Nutrition*. p. 1677-83, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Avaliação de Eficácia e Segurança dos Medicamentos Inibidores do Apetite*. Brasília, 2011.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (Brasil). Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE; 2010.

BRASIL. Lei n 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Diário Oficial da União, 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria GM no 3.916, de 30 de outubro de 1998. Aprova a Política Nacional de Medicamentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Sec. n.215-E, p. 18, 10 nov., 1998.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N 41 de 05 de agosto de 2014. Dispõe sobre oficialização de novo lote de substância química de referência da farmacopéia brasileira. Brasília. Diário Oficial da União, 2014.

BRASIL. Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico. 2014.

CANCELLO, R. e CLÉMENT, K. Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG*. v.113, n.10, p.1141-7, 2006.

CAVE, M. C. et al., Obesity, inflammation, and the potential application of pharmaconutrition *Nutr. Clin. Pract.* v.23, n.1, p.16-34, 2008.

CHEN, C. Y. et al., Ghrelin gene products and the regulation of food intake and gut motility. *Pharmacological Reviews*. v.61, n.4, p.430-481, dez. 2009.

CHEN, S., OSAKI, N., SHIMOTOYODOME, A. Green tea catechins enhance norepinephrine-induced lipolysis via a protein kinase A-dependent pathway in adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. v. 461, p. 1-7, 2015.

CHEN, Y. K. et al. Effects of green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate on a newly developed high-fat/western-style diet-induced obesity and metabolic syndrome in mice. *Journal of Agric. Food and Chemistry*. n. 21, v. 59, p. 11862-11871, 2011.

COSTA, E.A. A Vigilância Sanitária e a Saúde do Consumidor. In: Rouquayrol, M.Z. & Almeida Filho, N.A. **Epidemiologia e Saúde**. 5ª edição, Rio de Janeiro: MEEDSI-editora Médico Científica. p.327-352, 1999.

DEFÁVERI, M. A. S. et al. Quality evaluation of sibutramine hydrochloride capsules compounded in pharmacies. **Disc. Scientia**. Santa Maria. v.13, n.1, p. 71-83, 2012.

**EUROPEAN UNION**. Assessment report on *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, non fermentatum folium. Committee on Herbal Medicinal Products. nov., 2013.

FEIGHNER, S. D. et al., Receptor for motilin identified in the human gastrointestinal system. *Science*. v.284, p.2184-8, 1999.

FERRANTE, A. W. Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. *Journal of Internal Medicine*. v. 262, p. 408-414, 2007. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2796.2007.01852.x/pdf>>. Acesso em: 05 de jan. 2016.

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arq. Bras de Endocrinologia e Metabol**. v. 50, n. 2, p.216 – 229, 2006.

FRIEDMAN, J. M. **The function of leptin in nutrition, weight and physiology**. *Nutrition Review*. v.60, p. 1-14, 2002.

GIRALDEZ, V. Z. R. Avaliação do papel da imunidade adaptativa na obesidade: estudo experimental em animais. Tese de doutorado. Faculdade de Medicina da USP. São Paulo, 2014.

GUIMARÃES, D. E. D. et al., Adipokines: a new view of adipose tissue. **Revista de Nutrição**. v.20, n.5, p.549-559, 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732007000500010&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732007000500010&script=sci_arttext)>. Acesso em: 29 de out. 2015.

HARIRI, L., THIBAUT, N. High-fat diet induced obesity in animal models. **Nutrition Research Rev**. 2010

HARIRI, N., GOUGEON, R., THIBAUT, L. A highly saturated fat-rich diet is more obesogenic than diets with lower saturated fat content. **Nutrition Research**. v. 30, p. 632 – 643, 2010.

HARMS, M & SEALE, P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nature Medicine*. n. 10, v. 19, p. 1252-62, 2013.

HERNÁNDEZ-FIGUEROA, T.T.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, E. & SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. The green tea, a good choice for cardiovascular disease prevention? **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. V.54, n.4, p. 38-94, 2004.

HERRERA, B.M & LINDGREN, C. M. **The Genetics of Obesity**. *Curr. Diab. Rep.* 10 p. 498-505, 2010.

HOWARD, A. D. et al., Enhanced leptin sensitivity and attenuation of diet-induced obesity in mice with haploinsufficiency of *Socs3*. *Nat. Med.* v.10, n.7, p.734-738, jul., 2004.

HU, H.C. et al. IGF-II stimulation of 3T3-L1 pre-adipocyte mitogenesis via the 67-kDa laminin receptor, but not AMP-activated protein kinase pathway. **Molecular Nutrition and Food Research**. v.56, p.580-592, 2012.

HUANG, J et al., The anti-obesity effects of green tea in human intervention and basic molecular studies. *European Journal of clinical Nutrition*. p. 1 – 13, 2014.

KIM, N. H. et al., Green tea seed oil reduces weight gain in C57BL/6J mice and influence adipocyte differentiation by suppressing peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ . *European Journal of Physiology*. v. 457, p. 293-302, 2008.

KLAUS, S. et al. Epigallocatechin gallate attenuates diet-induced obesity in mice by decreasing energy absorption and increasing fat oxidation. *International Journal of Obesity*. v. 29, p. 615-23, 2005.

KOJIMA, M. et al., Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Trends. Endocrinol. Metabol.* v.12, p.118-122, 2001.

KOPELMAN, P. G. **Obesity as a medical problem**. *Nature*. v.404, p. 635-643, abr. 2000.

KU, H.C. Green tea (-)epigallocatechin gallate suppresses IGF-I and IGF-II stimulation of 3T3-L1 adipocyte glucose uptake via the glucose transporter 4, but not glucose transporter 1 pathway. **General and Comparative Endocrinology**. v.199, p.46-55, 2014.

LEE, P. et al., High prevalence of brown adipose tissue in adult humans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. v.96, n. 8, p. 2450 – 5, ago. 2011.

LEITE, L. D; ROCHA, E. D. M e BRANDÃO-NETO, J. Obesidade: uma doença inflamatória. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v.2, n.2, p. 85-95, jul-dez, 2009.

LIU, H.S. et al. Inhibitory effect of green tea (-)epigallocatechin gallate in resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes depends on the ERK pathway. **American Journal of Physiol Endocrinol Metabolism**. V.290, p.273-281, 2006.

MALUF, D. F. & PONTAROLO, R. Determinação de sibutramina em formas farmacêuticas através de espectroscopia no infravermelho com refletância difusa e métodos de calibração multivariada. **Química Nova**. V. 33, n. 3, p. 649-52, 2010.

MASHIKO, S. et al. Effects of a novel Y5 antagonist in obese mice: Combination with food restriction or sibutramine. **Obesity**. v.16, p. 1510-1515, 2008.

OBERHOLZER, H. M.; SCHOOR, C.V.D & BESTER, M.J. Sibutramine, a serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor, causes fibrosis in rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. v.40, p. 71-76, 2015.

OBESIDADE. **Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabolismo**, Rio de Janeiro: SBEM, 2014.

OLIVEIRA, G. B. Estudo do perfil genético de linhagens de camundongos mantidos nos biotérios de criação de duas instituições parceiras na Rede Mineira de Bioterismo. **Dissertação de mestrado** (pós-graduação em genética). Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais (Brasil), 2013.

OLIVEIRA, M. L. **Estimativa dos custos da obesidade para o Sistema Único de Saúde do Brasil**. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade de Brasília, 2013.

PINTO, D. C. M. A fitoterapia no tratamento da obesidade. Universidade Fernando Pessoa. Faculdade de Ciências de Saúde, Porto, 2013.

POULOS, S. P.; HAUSMAN, D. B.; HAUSMAN, G. J. The development and endocrine functions of adipose tissue. **Molecular and Cellular Endocrinology**. v. 323, p. 20 – 34, 2010.

ROMERO, C. E. M & ZANESCO, A. O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade. *Revista de Nutrição, Campinas*. v.19, n. 1, p. 85 – 91, 2006.

ROSEN, E. D and SPIELGEMAN, B. M. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. **Nature**. v. 444, p. 847 – 853, dec. 2006.

ROSENFELD, S. *Fundamentos da Vigilância Sanitária*. Editora: Fiocruz. p.15-16, 2000.

SAMPAIO, T. M. Influência da obesidade sobre a concentração das adipocitocinas e a LDL (-) em adolescentes. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2011.

SANTAMARINA, A. B. et al. Decaffeinated green tea extract rich in epigallocatechin-3-gallate prevents fatty liver disease by increased activities of mitochondrial respiratory chain complexes in diet-induced obesity mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*. v. 26, p. 1348-1356, 2015.

SCHMITZ, W. et al., Green tea as a chemoprotector. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. v.26, n.2, p.119-130, 2005.

SENGER, A.E.V.; SCHWANKE, C.H.A. & GOTTLIEB, M.G.V. Green tea (*Camellia sinensis*) and its functionals properties on transmissible chronic diseases. **Scientia Medica**. V.20, n.4, p.292-300, 2010.

SHARMA, S.K. et al. Combined effect of epigallocatechin gallate and triclosan on enoyl-ACP reductase of mycobacterium tuberculosis. **Biochemical and biophysical research communications**. v.368, n.1, p.12-17, 2008.

SHIXIAN, Q. et al. Green tea extract thermogenesis-induced weight loss by epigallocatechin-gallate inhibition of Catechol-O-Methyltransferase. **Journal of Medicinal Food**. v.9, n.4, p.451-458, 2006.

SMITH, R. G. et al., Growth hormone secretagogue receptor family members and ligands. *Endocrine*. v.14, p.9-14, 2001.

TEDESCHI, E.; SUZUKI, H. and MENEGAZZI, M. Anti-inflammatory action of EGCG, the main component of green tea, through STAT-1 inhibition. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v.973, p.435-437, 2002.

UEDA, M. et al. Tea catechins modulate the glucose transport system in 3T3-L1 adipocytes. **Food & Function**. v.1, n.2, p.133-41, 2010.

VALENZUELA, B.A. El consume te y la salud: características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. **Revista Chilena de Nutrición**. v.31, n.2, p.72-82, 2004.

VIJGEN, G. H. E. J. et al. Brown adipose tissue in morbidly obese subjects. **PLoS ONE**. v. 6, n. 2. 2011.

WANG, C.T. et al. The effects of green tea (-) epigallocatechin-3-gallate on reactive oxygen species in 3T3-L1 pre-adipocytes and adipocytes depends on the glutathione and 67 kDa laminin receptor pathways. **Molecular Nutrition and Food Research**. v.53, p.349-360, 2009.

**WHO**, World Health Organization, 2015.

**WHO**, World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva, 2000.

WILASCO, M. I. A. Concentração de grelina, leptina, insulina e glicose em crianças eutróficas previamente hípidas. **Dissertação de mestrado**. Faculdade de Medicina. Porto Alegre (Brasil), 2010.

WOLFRAM, S.; WANG, Y. & THIELECKE, F. Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench. **Molecular Nutrition and Food Research**. v.50, p.176-187, 2006.

WU, B.T. et al. The apoptotic effect of green tea (-)Epigallocatechin gallate on 3T3-L1 preadipocytes depends on the Cdk2 pathway. **Journal of Agriculture Food Chemistry**. v.53, p.5695-5701, 2005.

ZHANG, Y. et al., Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**. v.372, p.425-432, 1994.