

## **Jejum intermitente associado ao café melhora o perfil lipídico e esteatose hepática em ratos wistar hiperlipidêmicos**

**Intermittent fasting associated with coffee improves lipid profile and hepatic steatosis in hyperlipidemic rats**

**El ayuno intermitente asociado con el café mejora el perfil lipídico y la esteatosis hepática en ratas hiperlipidémicas**

Recebido: 16/11/2022 | Revisado: 29/11/2022 | Aceitado: 02/12/2022 | Publicado: 11/12/2022

### **Fernanda Oliveira Pignaton**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5948-8771>  
Universidade Vila Velha, Brasil  
E-mail: [fepignaton@gmail.com](mailto:fepignaton@gmail.com)

### **Vivian Michele Lourenço**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8305-8640>  
Universidade Vila Velha, Brasil  
E-mail: [vimilor2@gmail.com](mailto:vimilor2@gmail.com)

### **Karla Lirio Soares**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3939-8613>  
Universidade Vila Velha, Brasil  
E-mail: [lirio.ks@gmail.com](mailto:lirio.ks@gmail.com)

### **Arthur Merigueti de Souza Costa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6295-0330>  
Universidade Vila Velha, Brasil  
E-mail: [arthurmerigueti@gmail.com](mailto:arthurmerigueti@gmail.com)

### **Ewelyne Miranda Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1497-6111>  
Universidade Vila Velha, Brasil  
E-mail: [ewelyne.lima@uvv.br](mailto:ewelyne.lima@uvv.br)

### **Marcio Fronza**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7316-8598>  
Universidade Vila Velha, Brasil  
E-mail: [marcio.fronza@uvv.br](mailto:marcio.fronza@uvv.br)

### **Rodrigo Scherer**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7656-0248>  
Universidade Vila Velha, Brasil  
E-mail: [rodrigo.scherer@uvv.br](mailto:rodrigo.scherer@uvv.br)

### **Resumo**

O objetivo deste estudo foi avaliar a associação entre o jejum intermitente (IF) e a ingestão de café em ratos Wistar pré-tratados com dieta hiperlipídica. Foram utilizados ratos Wistar, recém-nascidos, distribuídos aleatoriamente em 4 grupos: Controle (CO, Ração comercial), Controle+Café (CA, ração comercial+café), Jejum (IF, 24 horas alimentação/24 horas de jejum), Jejum+Café (IFCA, 24 horas alimentação/24 horas jejum+café). Os animais foram pré-tratados com dieta hiperlipídica por 30 dias. O café administrado nos animais foi 100% Arábica, na dose de 0,5 mL por gavagem diariamente. O peso foi aferido semanalmente durante todo o experimento e após a eutanásia foram retiradas e pesadas as gorduras subcutâneas e visceral. Foram analisadas as taxas de glicose e insulina, perfil lipídico e a histologia hepática. Os grupos que fizeram jejum apresentaram resultados significativamente menores no ganho de peso e de massa gorda, melhor perfil lipídico e menor deposição de gordura hepática. Observou-se menor deposição de colágeno nos grupos que ingeriram café, assim com um menor teor de umidade. A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a associação das intervenções pode ser benéfica na redução de ganho de peso e de gordura corporal, além de apresentar efeito sinérgico na redução da esteatose hepática em ratos pré-tratados com dieta hiperlipídica.

**Palavras-chave:** Jejum; Obesidade; Café; Colesterol; HDL; Síndrome metabólica.

### **Abstract**

The aim of this study was to evaluate the association of intermittent fasting (IF) and coffee intake in Wistar rats pre-treated with a high-fat diet. Newborn Wistar rats were used, randomly divided into 4 groups: Control (CO, commercial feed), Control+Coffee (CA, commercial feed+coffee), Fasting (IF, 24 hours feeding/24 hours fasting),

Fasting+Coffee (IFCA, 24 hours feeding/24 hours fasting+coffee). The animals were pre-treated with a hyperlipidic diet for 30 days. The coffee administered to the animals was 100% Arabica, at a dose of 0.5 mL by gavage daily. Weight was measured weekly throughout the experiment and after euthanasia, subcutaneous and visceral fat were removed and weighed. Glucose and insulin rates, lipid profile and liver histology were analyzed. The fasting groups had significantly lower results in weight and fat mass gain, better lipid profile and lower hepatic fat deposition. Lower collagen deposition was observed in the groups that ingested coffee, as well as a lower moisture content. From the results obtained, it can be concluded that the combination of interventions can be beneficial in reducing weight gain and body fat, in addition to having a synergistic effect in reducing hepatic steatosis in rats pre-treated with a high-fat diet.

**Keywords:** Fasting; Obesity; Coffee; Cholesterol; HDL; Metabolic syndrome.

### Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre el ayuno intermitente (AI) y la ingesta de café en ratas Wistar pretratadas con una dieta rica en grasas. El estudio fue aprobado en CEUA n° 423 2071. Se utilizaron ratas Wistar recién nacidas, divididas aleatoriamente en 4 grupos: Control (CO, pienso comercial), Control+Café (CA, pienso comercial+café), Ayuno (IF, alimentación 24 horas/ ayuno 24 horas), Ayuno+Café (IFCA, alimentación 24 horas/ayuno 24 horas+café). Los animales fueron pretratados con una dieta hiperlipídica durante 30 días. El café administrado a los animales fue 100% Arábica, a una dosis de 0,5 mL por sonda al día. El peso se midió semanalmente durante todo el experimento y después de la eutanasia, se extrajo y pesó la grasa subcutánea y visceral. Se analizaron las tasas de glucosa e insulina, el perfil lipídico y la histología hepática. Los grupos en ayunas tuvieron resultados significativamente más bajos en el aumento de peso y masa grasa, mejor perfil lipídico y menor depósito de grasa hepática. Se observó una menor deposición de colágeno en los grupos que ingirieron café, así como un menor contenido de humedad. De los resultados obtenidos se puede concluir que la combinación de intervenciones puede ser beneficiosa en la reducción de la ganancia de peso y grasa corporal, además de tener un efecto sinérgico en la reducción de la esteatosis hepática en ratas pretratadas con una dieta rica en grasas.

**Palabras clave:** Ayuno; Obesidade; Café; Colesterol; HDL; Síndrome metabólico.

## 1. Introdução

Segundo a WHO (2021), a obesidade e o excesso de peso são classificados como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode prejudicar a saúde, e que, apesar da constante melhora de parâmetros relacionados à saúde coletiva (como aumento da expectativa de vida e redução da natalidade), a obesidade triplicou entre os anos de 1975 e 2016, sendo o número de mortes anuais por excesso de peso em 2017 maior que 4 milhões de pessoas. Mecanismos inflamatórios estão associados à obesidade, como a deposição aumentada de ácidos graxos livres em indivíduos obesos que está relacionada com a ativação da interleucina-1 (IL-1), o que pode levar ao surgimento de fibrose hepática e outras complicações (Ghanbari et al., 2021).

Para o controle e perda de peso, mudanças de hábito, como intervenções dietéticas e atividades físicas, são estratégias eficazes para reduzir o consumo calórico e promover um balanço energético negativo (Strasser et al., 2007; Yin et al., 2021). O jejum intermitente, caracterizado pela redução ou restrição de calorias, diminui o ganho de peso por meio da promoção do déficit calórico. Apesar da falta de informações concretas a respeito desta intervenção alimentar, sabe-se que a mesma pode auxiliar no tratamento da obesidade (Harvie & Howell, 2017).

O café é uma das bebidas mais consumidas mundialmente. Visto que é formada por compostos bioativos, como a cafeína e os ácidos clorogênicos, os quais possuem efeitos termogênico e antioxidante e anti-inflamatório, respectivamente, essa também pode ser útil no tratamento da obesidade e doenças relacionadas, como diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e hepáticas, atuando no aumento do gasto de energia, na redução da inflamação e no combate aos radicais livres (Lemos et al., 2022; Pimentel et al., 2019).

Apesar do constante crescimento de conhecimento acerca do jejum intermitente e do consumo diário de café sobre o metabolismo humano, até o momento não existem estudos prévios avaliando a associação das duas intervenções na redução de ganho de peso, deposição de gordura e em marcadores de doenças metabólicas, como diabetes tipo 2 e doenças hepáticas. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do jejum intermitente de 24h associado ao consumo diário de café no ganho de peso, deposição de gordura corporal e perfil lipídico, bem como em marcadores de diabetes tipo 2 e dano hepático

em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.

## **2. Metodologia**

### **2.1 Tratamentos**

O estudo foi previamente aprovado pelo comitê de ética em pesquisa animal da Universidade de Vila Velha (nº 423-2071) seguindo os princípios éticos do Comitê na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Foram utilizados 28 ratos Wistar saudáveis (21 a 23 dias) fornecidos pelo Biotério da Universidade de Vila Velha. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, ciclo claro/escuro de 12/12 h, livre acesso à água. Os ratos receberam um pré-tratamento com uma dieta especial hiperlipídica (Sellex Inc. D12492 60 kcal% fat; Washington DC, MD, 20895, USA) durante 30 dias. Após este período os animais ficaram uma semana em adaptação com dieta comercial, e posteriormente foram separados de forma randomizada em 4 grupos experimentais, sendo sete animais por grupo (n = 28): 1 - controle (CO): livre acesso a ração comercial e água; 2 - Café (C): livre acesso a ração e água + 0,5 mL de café diariamente; 3 - Jejum intermitente (IF): livre acesso a ração comercial e água em dias alternados com períodos de jejum (24h/24h); 4 - Jejum intermitente + café (IFCA) acesso livre à ração comercial e água em dias alternados com períodos de jejum (24h/24h) + 0,5 mL de café diariamente. Os tratamentos tiveram duração de cinco semanas. O café foi preparado diariamente na proporção de 160 mL de água (96°C) para 16 g de pó de café (100% arábica), em filtro de papel. O café foi administrado à 25°C por gavagem, uma vez ao dia.

### **2.2 Avaliação do peso e composição corporal**

Após o pré-tratamento de 30 dias com dieta hiperlipídica os animais foram pesados para avaliação do ganho de peso e composição corporal. O consumo de ração foi mensurado diariamente e os animais foram pesados semanalmente, durante as cinco semanas. Ao final do tratamento, sob anestesia profunda, foi feita a eutanásia nos animais para coleta do sangue e dos órgãos coração, fígado e rins, tibia e as gorduras epididimal, retroperitoneal e inguinal. Após a homogeneização da carcaça eviscerada dos animais em processador de alimentos, o teor de umidade foi determinado em estufa a 105°C até peso constante, e o teor de proteínas totais foi determinado pelo método de Kjeldahl. Todas as análises foram realizadas em triplicata de acordo com a metodologia descrita pela A.O.A.C. (AOAC, 2016).

### **2.3 Determinação de glicose, curva glicêmica e tolerância à insulina**

Após o tratamento, os animais foram submetidos à 8h de jejum antes da coleta do sangue pela veia caudal. A glicose foi medida usando fitas de leitura de glicose (Accu-Check Active, Roche, Brazil). Após essa medida inicial, foi administrado glicose via intraperitoneal nos animais (2,0 g/kg), e o monitoramento da glicose foi realizado nos tempos de 5, 10, 20, 30, 60, 90 e 120 min. Depois do período de “washout” de dois dias, os animais foram submetidos aos mesmos procedimentos para o teste de tolerância à insulina. O sangue foi coletado da veia caudal e a glicose foi medida usando as fitas de leitura de glicose. Após a medida inicial, foi administrada insulina via intraperitoneal (0,75 U/Kg), e o sangue coletado novamente da cauda nos tempos de 5, 10, 20, 30, 60, 90 e 120 min para monitoramento da glicose.

### **2.4 Análises bioquímicas do perfil lipídico**

Amostras de sangue foram coletadas diretamente do coração dos animais e enviadas imediatamente para um laboratório de análises clínicas (Laboratório Tommasi Ltda, Vila Velha, ES, Brasil) para a determinação dos níveis plasmáticos de HDL, LDL, VLDL, colesterol total e triglicerídeos.

## 2.5 Análises histológicas

A análise do acúmulo de gordura no fígado (esteatose) foi realizada pela técnica de Oil Red O. Após a eutanásia, uma amostra do fígado foi inserida em um recipiente com composto Tissue tek OCT (Sakura Finetek, CA). Os fígados foram removidos e fixados em solução tamponada de formaldeído a 4% por 48 h e, em seguida, seccionados a 10  $\mu$ M de espessura em um criostato (Jung CM 1860; Leica, Wetzlar, Germany). As seções foram montadas em lâminas revestidas com gelatina e coradas com Oil-Red-O para avaliação da deposição de lipídios (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). As imagens foram capturadas com uma câmera de vídeo (AxioCam ERc5s, Carl Zeiss, Germany) acoplada a um microscópio óptico (AX70, Olympus Corporation, Japan). A mensuração foi realizada utilizando-se o software específico (Image J Pro-Plus®, Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA). Para cada análise, 5 campos diferentes por animal foram usados aleatoriamente para calcular a porcentagem média de área corada; o examinador foi cegado para os grupos experimentais.

Na avaliação de deposição de colágeno, o fígado foi fixado em solução neutra de formol tamponado a 10% durante 24 horas e, após, uma seção intermediária do tecido foi extraído e embebido em parafina. Cortes de 5  $\mu$ m de espessura foram corados com picosirius red para a avaliação de deposição de colágeno. Amostras de tecidos coradas foram então analisadas usando um microscópio, sob a luz polarizada, por um patologista que desconhecia os grupos de tratamento. Dez imagens de cada lâmina foram fotografadas (400x) usando um sistema de aquisição de imagem (Moticam plus; Motic Inc., Canada), e a análise morfométrica foi realizada para a deposição de colágeno na matriz extracelular utilizando o Software livre Image J® (versão 1.52i).

## 2.6 Análises estatísticas

A análise de variância (ANOVA), e o teste de Tukey foram utilizados para determinar diferença significativa entre as médias ( $p < 0.05$ ) por meio do software GraphPad Prism 9.0.

## 3. Resultados

### 3.1 Consumo de ração e ganho de peso

Após a dieta hiperlipídica não foi verificada diferença significativa no peso dos animais no início do tratamento (Tabela 1). Os grupos que fizeram jejum de 24h comeram excessivamente apresentando um comportamento de compulsão alimentar no dia em que eram alimentados, principalmente na primeira hora. Nestes dias, os animais chegaram a consumir, em média, 61% mais ração que os outros animais que não fizeram jejum, porém ainda assim, ao final do experimento foi verificado que os animais tratados com jejum consumiram 60% menos ração ( $p < 0,05$ ) quando comparados aos grupos CO e CA (Tabela 1).

Consequentemente, o jejum intermitente (IF e IFCA) reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) o peso final dos animais em relação aos grupos sem jejum (CO e CA). Mesmo havendo um menor ganho de peso corporal dos animais que fizeram jejum, não houve diferença significativa no desenvolvimento/crescimento dos animais, visto que não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) no tamanho da tíbia (Tabela 1).

**Tabela 1** - Consumo de ração e ganho de peso após dieta hiperlipídica e peso de gorduras dos animais avaliados.

Grupos	Peso inicial*	Consumo de ração	Peso final	Ganho de peso	GE	GI	GR	GT	Tíbia
CO	225±21a	807±17a	318±24a	93,2±12a	7,1±1,7a	4,0±0,7a	6,4±0,9a	17,6±2,0a	37,4±1,5a
CA	232±6,9a	805±52a	321±22a	89,4±15a	6,6±0,9a	3,1±0,7a	4,9±1,4b	14,6±2,5b	37,8±1,0a
IF	227±11a	498±22b	275±12b	48,5±16b	4,4±0,8b	3,0±0,4a	4,1±0,7b	11,6±1,5c	37,5±0,5a
IFCA	228±21a	482±47b	274±14b	46,7±12b	4,4±0,5b	2,8±1,0b	3,3±0,7c	10,5±1,6c	37,4±1,3a

\* após dieta hiperlipídica; GE: Gordura epididimal; GI: Gordura inguinal; GR: Gordura retroperitoneal; GT: Gordura Total; CO: Controle; CA: café; IF: jejum; IFCA: jejum associado ao café. Letras diferentes na mesma coluna expressam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Fonte: Autores.

O uso do café não interferiu nos resultados de ganho de peso, visto que, dentro dos grupos controles e jejum, não houve diferença significativa nos grupos que consumiram a bebida (Tabela 1). Entretanto, foram verificadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) no teor de gorduras corporais. Os animais dos grupos IF e IFCA apresentaram depósitos de gordura visceral e subcutânea estatisticamente menor ( $p < 0,05$ ), quando comparados com grupo controle (CO). No somatório das gorduras, todos os grupos apresentaram significativamente menos gordura que o controle, sendo que os menores valores foram encontrados nos grupos IF e IFCA, evidenciando que além da dieta, o café também teve efeito benéfico na composição corporal dos animais.

A intervenção dietética do jejum intermitente causou uma redução significativa ( $p < 0,05$ ) na composição proteica dos animais dos grupos IF e IFCA em relação ao grupo CO (Tabela 2). Também foi observado que a umidade corporal foi menor ( $p < 0,05$ ) nos grupos não beberam café (CA e IFCA), em relação aos grupos que não receberam café. Esses resultados sugerem que o café teve impacto no metabolismo dos animais, que pode ser devido a quantidade de cafeína, a qual apresenta atividade diurética (López-Cruz et al., 2018). O grupo controle foi o único que apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) em relação ao tamanho do fígado, provavelmente pela maior deposição de gorduras. Os outros órgãos analisados não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2).

**Tabela 2-** Teor de proteínas, umidade e peso dos órgãos.

Grupos	Proteínas (g/100g)	Umidade (g/100g)	Fígado (g)	Rim (g)	Coração (g)
CO	22,1 ± 0,7a	64,0 ± 1,4a	11,0 ± 1,0a	2,1 ± 0,2a	0,9 ± 0,1a
CA	21,1 ± 1,0ab	60,5 ± 1,4b	9,8 ± 0,6b	2,2 ± 0,2a	0,9 ± 0,1a
IF	20,1 ± 0,8b	63,9 ± 1,1a	9,5 ± 0,7b	1,9 ± 0,1a	0,8 ± 0,1a
IFCA	19,3 ± 0,2b	59,5 ± 1,7b	9,3 ± 1,0b	2,0 ± 0,2a	0,8 ± 0,1a

CO: Controle; CA: café; IF: jejum; IFCA: jejum associado ao café. Letras diferentes na mesma coluna expressam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Fonte: Autores.

### 3.2 Curva glicêmica e tolerância à insulina

A curva glicêmica, ou teste de tolerância oral à glicose, é considerada como padrão-ouro no diagnóstico da diabetes mellitus em associação à glicemia plasmática em jejum e hemoglobina glicada (Cobas et al., 2022). Entretanto, não foi verificada diferença significativa entre os grupos (Tabela 3). Nota-se grandes valores de desvio padrão nos grupos, o que pode ter mascarado o efeito dos tratamentos, sendo observados resultados estatisticamente semelhantes.

**Tabela 3** - Curva glicêmica e tolerância à insulina dos animais.

	0`	5`	10`	20`	30`	60`	90`	120`
Curva Glicêmica*								
CO	111 ± 17	238 ± 36	290 ± 63	333 ± 23	302 ± 51	185 ± 43	176 ± 21	146 ± 19
CA	116 ± 12	287 ± 25	296 ± 77	368 ± 33	308 ± 60	219 ± 54	167 ± 25	160 ± 17
IF	114 ± 12	199 ± 48	256 ± 75	299 ± 24	282 ± 50	163 ± 17	165 ± 24	136 ± 17
IFCA	116 ± 11	208 ± 61	221 ± 64	307 ± 35	242 ± 23	160 ± 33	157 ± 32	126 ± 13
Tolerância à Insulina**								
CO	126 ± 27	126 ± 27	92,9 ± 12	72,0 ± 14	51,9 ± 14	36,7 ± 9,7	43,4 ± 16	42,0 ± 12
CA	119 ± 20	119 ± 20	96,7 ± 8,9	72,4 ± 16	54,6 ± 12	34,1 ± 12	43,9 ± 20	40,6 ± 9,0
IF	109 ± 15	109 ± 15	82,7 ± 12	63,7 ± 13	47,6 ± 11	28,7 ± 11	35,3 ± 11	40,5 ± 8,0
IFCA	116 ± 19	116 ± 19	85,6 ± 12	67,0 ± 16	59,1 ± 24	36,4 ± 11	30,9 ± 14	40,8 ± 11

Resultados expressos em glicemia mg/dL; CO: Controle; CA: café; IF: jejum; IFCA: jejum associado ao café. \*Administração de glicose intraperitoneal 2g/kg; \*\* Administração de insulina intraperitoneal 0,75 U/Kg. Fonte: Autores.

### 3.3 Perfil lipídico dos animais

Foi observada uma melhora significativa no perfil lipídico dos animais tratados com jejum e com café (Tabela 4). O grupo controle apresentou valores de VLDL, LDL, colesterol total e triglicerídeos significativamente maiores do que os grupos IF e IFCA, por outro lado, os valores de HDL de IF e IFCA foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) que os grupos CO e CA (Tabela 4). Os animais tratados com café (CA) apresentaram valores de VLDL, colesterol e triglicerídeos menores ( $p < 0,05$ ) que o grupo controle, indicando que o consumo de café pode trazer efeitos benéficos no perfil lipídico.

**Tabela 4** - Perfil lipídico dos grupos experimentais (mg/dL).

Grupos	HDL	VLDL	LDL	CT	TG
CO	33,9 ± 3,4b	34,7 ± 2,1a	20,1 ± 8,8a	92,1 ± 11a	164 ± 28a
CA	31,4 ± 5,3b	30,8 ± 1,1b	14,3 ± 6,9ab	76,5 ± 10b	133 ± 14b
IF	39,1 ± 2,5a	20,4 ± 3,3c	8,9 ± 3,1b	68,4 ± 6,2b	118 ± 21c
IFCA	40,3 ± 2,1a	20,1 ± 2,5c	6,9 ± 3,0b	67,3 ± 4,7b	111 ± 12c

CT: colesterol total; TG: triglicerídeos; CO: Controle; CC: café; IF: jejum; IFCA: jejum associado ao café. Letras diferentes na mesma coluna expressam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Fonte: Autores.

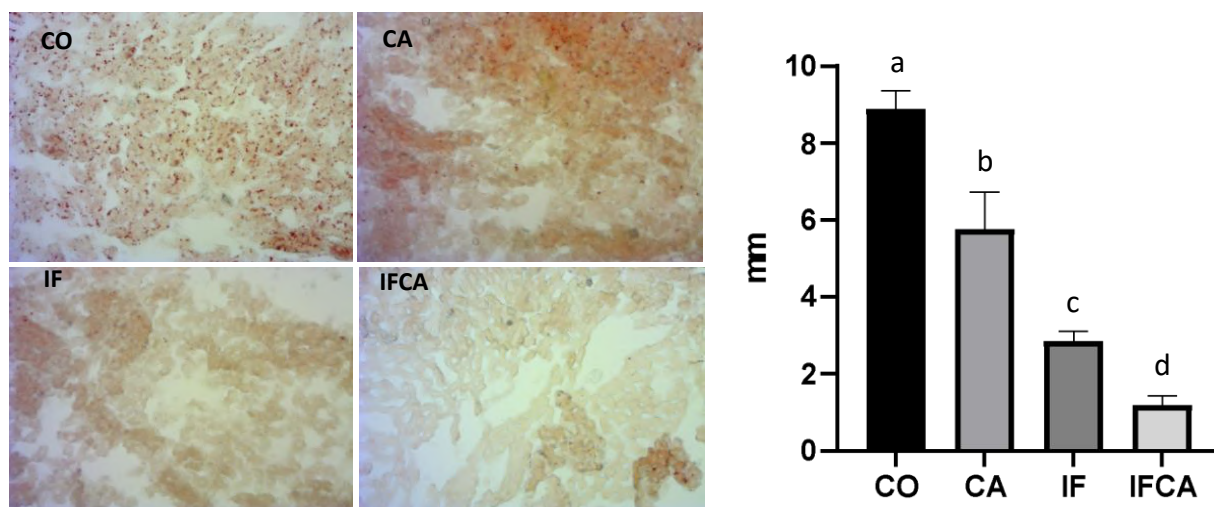
### 3.4 Análise hepática

Os tratamentos CA, IF e IFCA apresentaram significativamente menor acúmulo de lipídios (corados em vermelho) nas células hepáticas que o grupo controle. Vale ressaltar ainda que o grupo que fez jejum e consumiu o café teve menor acúmulo de gordura do que os demais grupos, apontando para a sinergia dos tratamentos, conforme Figura 1.

Após a análise de fibrose no fígado, foi verificado um menor dano hepático nos grupos tratados com café (CA e IFCA), indicado pela deposição de colágeno (corado em vermelho) significativamente menor. Além disso, a intervenção dietética não interferiu, visto que os grupos CO e IF não se diferenciaram (Figura 2).

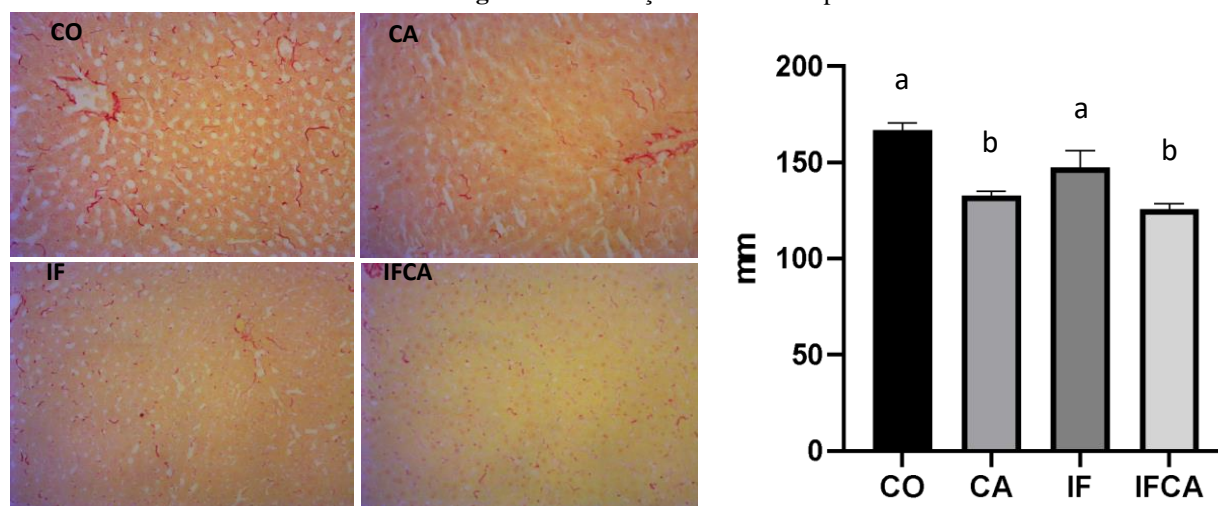


**Figura 1** - Deposição de gordura no fígado.



CO: controle; CA: café; IF: jejum; IFCA: jejum associado ao café. Letras diferentes expressam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Fonte: Autores.

**Figura 2** - Avaliação da fibrose hepática.



CO: controle; CA: café; IF: jejum; IFCA: jejum associado ao café. Letras diferentes expressam resultados significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ). Fonte: Autores.

#### 4. Discussão

Estudos avaliando os efeitos do consumo de café e jejum quanto à perda de peso e melhora de parâmetros bioquímicos são encontrados na literatura separadamente (Chaix et al., 2019; Lee et al., 2019; Sirotkin & Kolesárová, 2021; Wilson et al., 2018; Zubrzycki et al., 2018). Entretanto, nenhum estudo avaliou a interação entre o jejum e consumo de café.

O excesso de gordura corporal está associado ao desenvolvimento de diversas patologias (Blüher, 2019). No presente estudo, os grupos IF e IFCA obtiveram menor ganho de peso e menor acúmulo de gordura subcutânea e visceral (Tabela 1), resultados que corroboram com um estudo realizado em camundongos, onde o grupo jejum intermitente apresentou peso corporal significativamente menor, assim como redução de gordura corporal em comparação ao grupo controle (Wilson et al., 2018). Em humanos, também já foi relatado que o jejum é associado à perda de peso (Horne et al., 2013). O jejum é capaz de reduzir o ganho de peso por ocasionar um déficit calórico ao restringir a frequência alimentar (Harvie & Howell, 2017). Apesar do maior consumo de ração nos dias alternados, os animais do grupo IF comeram 60% menos em relação aos grupos controle (Tabela 1), o que pode estar relacionado ao menor ganho de peso desses grupos. Além disso, o consumo de café também

influenciou na redução de peso, tendo em vista que os compostos presentes na bebida possuem atividades biológicas, como a cafeína, que possui propriedade termogênica, e o ácido clorogênico, um ácido fenólico com potencial antioxidante e anti-inflamatório (Lemos et al., 2022; Pimentel et al., 2019). O ácido clorogênico também apresenta atividade na adipogênese, regulando o ciclo celular, afetando fatores de transcrição e diminuindo o peso corporal e a deposição de gordura visceral (Pan et al., 2016).

Além do ganho de peso, foram quantificados o teor de umidade e de proteínas, relacionados com a hidratação e massa magra dos animais. Foi observado que os grupos que fizeram jejum tiveram teor de proteínas significativamente menor (Tabela 2). Dietas restritivas levam a perda de peso que não se restringe a perda de massa gorda, mas também a perda de massa magra. A porcentagem e relação dessa perda é dependente do protocolo de intervenção e o estado de saúde do indivíduo (Zubrzycki et al., 2018). Embora estudos que avaliem os efeitos do jejum intermitente na massa muscular sejam escassos, a alimentação inadequada e períodos de jejum prolongado, característicos dos modelos de jejum intermitente, podem prejudicar a renovação da proteína muscular. Estudo prévio relata que o jejum intermitente provavelmente representa uma abordagem dietética abaixo do ideal para remodelar o músculo esquelético, o que pode afetar a capacidade de manter ou aumentar a massa e a qualidade muscular, especialmente durante períodos de disponibilidade de energia reduzida. Os autores ainda reportam que o jejum intermitente pode representar uma opção para promover a perda de gordura e melhorar aspectos do metabolismo saúde, entretanto pesquisas adicionais precisam se concentrar no impacto na quantidade e qualidade da massa muscular (Williamson & Moore 2021). Por outro lado, estudo aponta que o jejum combinado com atividade física não afeta os efeitos do treinamento no desempenho muscular (Laurens et al., 2021). Os resultados obtidos no presente estudo não permitem afirmar que houve perda de massa magra, pois não foi realizado o registro desse parâmetro antes da intervenção do jejum.

A dislipidemia, caracterizada pelos elevados níveis de triglicerídeos, colesterol e LDL, é observada em modelos animais de obesidade ou sobrepeso induzida por dieta (Gotthardt et al., 2016; Lund et al., 2015). Wilson et al. (2018) relatam que o jejum foi capaz de reduzir os níveis plasmáticos de LDL nos animais quando comparados ao grupo controle, corroborando com o presente estudo (Tabela 4). No grupo CA, o consumo de café reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) níveis de VLDL, colesterol total e triglicerídeos em relação ao grupo controle, resultados que podem estar relacionados às propriedades biológicas dos compostos presentes no café, como as atividades antioxidante e anti-inflamatória atribuídas aos ácidos clorogênicos (Lemos et al., 2022). Em revisão publicada por Pimpley et al. (2020), os autores concluem que o ácido clorogênico pode ser uma potente biomolécula que poderia ser usada para mitigar a obesidade e diabetes, visto que ingestão está relacionada com a redução significativa no peso corporal e gordura. Cho et al. (2010) estudou o impacto do ácido clorogênico no peso corporal, gordura corporal e hormônios relacionados à obesidade em camundongos. O estudo mostrou que o peso corporal, massa gorda visceral, níveis plasmáticos de leptina e insulina, triglicerídeos no fígado e no coração, e colesterol no tecido adiposo foram significativamente reduzidos ( $p < 0,05$ ) devido aos efeitos do ácido clorogênico quando comparado com o grupo controle.

Estudos prévios demonstram que o jejum melhora as taxas séricas das enzimas hepáticas, podendo promover uma hepatoproteção, além da redução da deposição de gorduras (Wilson et al., 2018; Williamson & Moore 2021; Yin et al., 2021). O aumento da deposição gordura está relacionada com a ativação de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1, o que pode levar ao surgimento de fibrose hepática e outras complicações (Ghanbari et al., 2021). As análises histológicas demonstraram um efeito sinérgico da associação do jejum com o café na deposição de gordura no fígado (Figura 1). Os grupos que ingeriram café também apresentaram uma deposição de colágeno significativamente menor (Figura 2). Estudo prévio verificou que o café auxilia na redução da fibrose no fígado principalmente por conta das suas ações antioxidante e anti-inflamatória que se associam à presença dos ácidos clorogênicos (Lemos et al., 2022; Shin et al., 2010). Outro estudo prévio relata que o ácido clorogênico reduziu a obesidade, suprimiu a resistência à insulina e reduziu a esteatose hepática induzida pela dieta rica em



gordura. O estudo ainda mostrou que houve uma significativa redução da expressão de genes hepáticos, além da atenuação da inflamação do fígado e diminuição dos níveis de mRNA de genes marcadores de macrófagos que codificam proteínas inflamatórias (Ma et al., 2015).

O presente trabalho demonstrou os benefícios da associação do jejum e da ingestão de café como uma estratégia na perda de peso e redução da esteatose e fibrose hepática por meio da melhora do perfil lipídico, podendo estar relacionado ao efeito anti-inflamatório dessa associação. Além disso, o jejum é uma intervenção de fácil acesso e o café é um produto cultural e consumido diariamente, o que facilita a adesão ao tratamento. Porém, estudos avaliando a segurança e eficácia do jejum a longo prazo são necessários (Ferrão et al., 2019; Yin et al., 2021; Zubrzycki et al., 2018).

## 5. Conclusão

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que o jejum intermitente foi eficaz na redução do ganho de peso e da quantidade de gorduras cutâneas, visceral e hepática de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. O café reduziu a gordura retroperitoneal e o dano hepático evidenciado pela menor deposição de colágeno no fígado. Em conjunto, o protocolo alimentar e a ingestão da bebida destacaram-se pela redução da esteatose hepática, evidenciando os efeitos sinérgicos da associação das duas intervenções em modelo animal. Futuros estudos são necessários para verificar o real impacto da associação sobre as proteínas musculares e sobre a possível ação diurética do café reduzindo os teores de água corporal.

## Agradecimentos

Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo-FAPES pelo auxílio financeiro. Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001.

## Referências

- AOAC, I. (2016). AOAC: Official Methods of Analysis (Vol. 1).
- Blüher M. (2019). Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature reviews. Endocrinology*, 15(5), 288–298. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0176-8>
- Chaix, A., Lin, T., Le, H. D., Chang, M. W., & Panda, S. (2019). Time-Restricted Feeding Prevents Obesity and Metabolic Syndrome in Mice Lacking a Circadian Clock. *Cell metabolism*, 29(2), 303–319.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.08.004>
- Cho, A. S., Jeon, S. M., Kim, M. J., Yeo, J., Seo, K. I., Choi, M. S., & Lee, M. K. (2010). Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 48(3), 937–943. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.01.003>
- Cobas R, Rodacki M, Giacaglia L, Calliari L, Noronha R, Valerio C, Custódio J, Santos R, Zajdenverg L, Gabbay G, Bercoluci M. (2022). Diagnóstico do diabetes e rastreamento do diabetes tipo 2. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes. DOI: 10.29327/557753.2022-2, ISBN: 978-65-5941-622-6.
- Ferrão, R. G., Fonseca, A. F. A. da, Ferrão, M. A. G., & De Muner, L. H. (2019). *Coffea canephora*. In R. G. Ferrão, A. F. A. da Fonseca, M. A. G. Ferrão, & L. H. De Muner (Eds.), *Conilon coffee*. Vitória, ES: Incaper.
- Ghanbari, M., Momen Maragheh, S., Aghazadeh, A., Mehrjuyan, S. R., Hussien, B. M., Abdoli Shadbad, M., Dastmalchi, N., & Safaralizadeh, R. (2021). Interleukin-1 in obesity-related low-grade inflammation: From molecular mechanisms to therapeutic strategies. *International immunopharmacology*, 96, 107765. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107765>
- Gotthardt, J. D., Verpeut, J. L., Yeomans, B. L., Yang, J. A., Yasrebi, A., Roepke, T. A., & Bello, N. T. (2016). Intermittent Fasting Promotes Fat Loss With Lean Mass Retention, Increased Hypothalamic Norepinephrine Content, and Increased Neuropeptide Y Gene Expression in Diet-Induced Obese Male Mice. *Endocrinology*, 157(2), 679–691. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1622>
- Harvie, M., & Howell, A. (2017). Potential Benefits and Harms of Intermittent Energy Restriction and Intermittent Fasting Amongst Obese, Overweight and Normal Weight Subjects-A Narrative Review of Human and Animal Evidence. *Behavioral sciences (Basel, Switzerland)*, 7(1), 4. <https://doi.org/10.3390/bs7010004>
- Horne, B. D., Muhlestein, J. B., Lappé, D. L., May, H. T., Carlquist, J. F., Galenko, O., Brunisholz, K. D., & Anderson, J. L. (2013). Randomized cross-over trial of short-term water-only fasting: metabolic and cardiovascular consequences. *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD*, 23(11), 1050–1057. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2012.09.007>

- Laurens, C., Grundler, F., Damiot, A., Chery, I., Le Maho, A. L., Zahariev, A., Le Maho, Y., Bergouignan, A., Gauquelin-Koch, G., Simon, C., Blanc, S., & Wilhelmi de Toledo, F. (2021). Is muscle and protein loss relevant in long-term fasting in healthy men? A prospective trial on physiological adaptations. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 12(6), 1690–1703. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12766>
- Lee, A., Lim, W., Kim, S., Khil, H., Cheon, E., An, S., Hong, S., Lee, D. H., Kang, S. S., Oh, H., Keum, N., & Hsieh, C. C. (2019). Coffee Intake and Obesity: A Meta-Analysis. *Nutrients*, 11(6), 1274. <https://doi.org/10.3390/nu11061274>
- Lemos, M. F., de Andrade Salustriano, N., de Souza Costa, M. M., Lirio, K., da Fonseca, A. F. A., Pacheco, H. P., Endringer, D. C., et al. (2022). Chlorogenic acid and caffeine contents and anti-inflammatory and antioxidant activities of green beans of conilon and arabica coffees harvested with different degrees of maturation. *Journal of Saudi Chemical Society*, 26(3), 101467. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101467>
- López-Cruz, L., Salamone, J. D., & Correa, M. (2018). Caffeine and Selective Adenosine Receptor Antagonists as New Therapeutic Tools for the Motivational Symptoms of Depression. *Frontiers in pharmacology*, 9, 526. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00526>
- Lund, J., Hafstad, A. D., Boardman, N. T., Rossvoll, L., Rolim, N. P., Ahmed, M. S., Florholmen, G., Attramadal, H., Wisløff, U., Larsen, T. S., & Aasum, E. (2015). Exercise training promotes cardioprotection through oxygen-sparing action in high fat-fed mice. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 308(8), H823–H829. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00734.2014>
- Ma, Y., Gao, M., & Liu, D. (2015). Chlorogenic acid improves high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice. *Pharmaceutical research*, 32(4), 1200–1209. <https://doi.org/10.1007/s11095-014-1526-9>
- Pan, M. H., Tung, Y. C., Yang, G., Li, S., & Ho, C. T. (2016). Molecular mechanisms of the anti-obesity effect of bioactive compounds in tea and coffee. *Food & function*, 7(11), 4481–4491. <https://doi.org/10.1039/c6fo01168c>
- Pimentel, G. D., Micheletti, T. O., Fernandes, R. C., Nehlig A. (2019). Coffee Intake and obesity. *Nutrition in the Prevention and Treatment of Abdominal Obesity*. Elsevier; pp. 329-51. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816093-0.00024-0>
- Pimpley, V., Patil, S., Srinivasan, K., Desai, N., & Murthy, P. S. (2020). The chemistry of chlorogenic acid from green coffee and its role in attenuation of obesity and diabetes. *Preparative biochemistry & biotechnology*, 50(10), 969–978. <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1786699>
- Shin, J. W., Wang, J. H., Kang, J. K., & Son, C. G. (2010). Experimental evidence for the protective effects of coffee against liver fibrosis in SD rats. *Journal of the science of food and agriculture*, 90(3), 450–455. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3838>
- Sirotkin, A. V., & Kolesárová, A. (2021). The anti-obesity and health-promoting effects of tea and coffee. *Physiological research*, 70(2), 161–168. <https://doi.org/10.33549/physiolres.934674>
- Strasser, B., Spreitzer, A., & Haber, P. (2007). Fat loss depends on energy deficit only, independently of the method for weight loss. *Annals of nutrition & metabolism*, 51(5), 428–432. <https://doi.org/10.1159/000111162>
- WHO. (2021, June 9). Obesity and overweight. Retrieved October 23, 2022, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Williamson, E., & Moore, D. R. (2021). A Muscle-Centric Perspective on Intermittent Fasting: A Suboptimal Dietary Strategy for Supporting Muscle Protein Remodeling and Muscle Mass? *Frontiers in nutrition*, 8, 640621. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.640621>
- Wilson, R. A., Deasy, W., Stathis, C. G., Hayes, A., & Cooke, M. B. (2018). Intermittent Fasting with or without Exercise Prevents Weight Gain and Improves Lipids in Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*, 10(3), 346. <https://doi.org/10.3390/nu10030346>
- Yin, C., Li, Z., Xiang, Y., Peng, H., Yang, P., Yuan, S., Zhang, X., Wu, Y., Huang, M., & Li, J. (2021). Effect of Intermittent Fasting on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in nutrition*, 8, 709683. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.709683>
- Zubrzycki, A., Cierpka-Kmieć, K., Kmieć, Z., & Wronska, A. (2018). The role of low-calorie diets and intermittent fasting in the treatment of obesity and type-2 diabetes. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*, 69(5). <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.5.02>