

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA PRÓ-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

RIVAIR GONÇALVES JUNIOR

**EFEITO DO USO DE INSULINA ORAL SOBRE OS PARÂMETROS
METABÓLICOS DE RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**

**PONTA GROSSA
2023**

RIVAIR GONÇALVES JUNIOR

**EFEITO DO USO DE INSULINA ORAL SOBRE OS PARÂMETROS
METABÓLICOS DE RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**

Dissertação apresentada como requisito à obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, área de concentração: Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Saúde, do Setor de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski

Coorientadora: Prof. Dra. Adriana Yuriko Koga

**PONTA GROSSA
2023**

G635

Gonçalves Junior, Rivair

Efeito do uso de insulina oral sobre os parâmetros metabólicos de ratos alimentados com dieta hiperlipídica/ Rivair Gonçalves Junior. Ponta Grossa, 2023.
59 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde - Área de Concentração: Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Saúde), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski.
Coorientadora: Profa. Dra. Adriana Yuriko Koga.

1. Insulina oral. 2. Diabetes. 3. Intestino delgado. 4. Obesidade. I. Lipinski, Leandro Cavalcante (orient.). II. Koga, Adriana Yuriko (coorient.). III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. IV.T.

CDD: 616.462

RIVAIR GONÇALVES JUNIOR

**EFEITO DO USO DE INSULINA ORAL SOBRE OS PARÂMETROS
METABÓLICOS DE RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de “Mestre em Ciências da Saúde”, na área de concentração: Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação Tecnológica em Saúde, do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Ponta Grossa, 30 de outubro de 2023

Prof. Dr. Leandro Cavalcante Lipinski – Orientador
Doutor em Clínica Veterinária
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Dra. Damaris Beraldi Godoy Leite
Doutora em Ensino de Ciência e Tecnologia
Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais

Dr. Carlos Eduardo Coradassi
Doutor em Ciências Veterinárias
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Dedico este trabalho aos meus pais, Telma e Rivair, por sempre priorizarem meus estudos e educação, mesmo nas situações mais adversas da vida.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que sempre me guia em todas as minhas escolhas, me dando força e sabedoria para encarar cada desafio rumo ao meu crescimento e realização dos meus sonhos.

Agradeço imensamente a meu Orientador Leandro Cavalcante Lipisnki pela oportunidade e confiança depositada em mim, pelo apoio e incentivo na minha jornada como docente do curso de Medicina – UEPG.

A minha Coorientadora, Adriana Yuriko Koga, pela parceria, paciência que teve comigo durante todo o processo.

Ao meu marido Wilton Paz, por acreditar em mim, e estar sempre ao meu lado em tudo que eu me proponho a fazer.

As minhas amigas Jéssica Cavalcanti Roman, Jessica Clock e Juliana Taques Fonseca por vibrarem por cada conquista minha.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1 - Classificação dos grupos de acordo com a dieta fornecida e respectivas medicações.....	16
QUADRO 2 - Relação de reagentes e respectivos volumes utilizados para a realização de reações de qRT-PCR	19
QUADRO 3 - Configuração de ciclos, temperatura e tempo no equipamento termociclador para a obtenção de expressão gênica	19
GRÁFICO 1 - Comparação da porcentagem do ganho de peso entre grupos CTRL, CTRL+INS, HLD, HLD+INS, mostrando o maior ganho de peso dos animais pertencentes ao grupo HLD.....	21
GRÁFICO 2 - Comparação dos níveis de glicemia entre grupos CTRL, HLD e HLD+INS, mostrando que os animais que receberam apenas a dieta hiperlipídica tiveram um aumento da glicemia em jejum quando comparados aos demais grupos	22
GRÁFICO 3 - Variação do comprimento da vilosidade duodenal entre os grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD, demonstrando que a administração de insulina oral não promoveu alteração nessas estruturas	23
GRÁFICO 4 - Comparação do Tamanho das criptas duodenais entre os Grupos Grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS demonstrando que a administração de insulina oral, não promoveu alterações significativas nessas estruturas	24
GRÁFICO 5 - Variação do Comprimento do Vilo Ileal entre os Grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS demonstrando que a administração de insulina oral não promoveu alterações nessas estruturas	25
GRÁFICO 6 - Comparação do comprimento das criptas ileais nos grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS demonstrando que a administração de insulina oral promoveu alteração no comprimento das criptas ileais nos grupos CTRL+INS e HLD+INS.....	26
GRÁFICO 7 - Comparação das concentrações de GLP-1 sérico entre os grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS não demonstrou diferenças significativas entre os grupos.....	27
GRÁFICO 8 - Comparação da expressão gênica de GLP-1 entre os grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS demonstrando maior expressão de GLP-1 no grupo controle quando comparado aos demais.....	28
GRÁFICO 9 - Comparação da expressão gênica de PYY entre os grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS, demonstrando que apenas o grupo HLD apresentou diferença significativa na redução de expressão de ppy, em relação ao grupo controle.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cm	Centimetro
cDNA	DNA complementar
CTRL	Grupo controle
CTRL+INS	Grupo controle administrado com insulina via oral
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
GLP-1	Glucagon like peptide 1
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HLD	Grupo com dieta hiperlipídica
HLD+INS	Grupo com dieta hiperlipídica administrado com insulina via oral
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
Kcal	Quilocaloria
NaCl	Cloreto de sódio
ml	Mililitro
mm	Milímetros
OMS	Organização Mundial da Saúde
PYY	Peptídeo YY
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
TAB	Tecido adiposo branco
TAM	Tecido adiposo marrom
TAR	Tecido adiposo rosa
TABe	Tecido adiposo bege
UI	Unidades internacionais
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrometro
°C	Graus Celsius

RESUMO

A adiposidade excessiva, em particular o acúmulo de gordura visceral, está fortemente correlacionada com a resistência à insulina, um dos principais pilares para o desenvolvimento do diabetes tipo 2. Além disso, a obesidade está associada a distúrbios metabólicos, como dislipidemia e inflamação crônica, que também desempenham um papel na patogênese do diabetes. O número de mortes decorrentes de complicações do diabetes é um dado alarmante, chegando a 1,5 milhões de pessoas por ano. A mudança dos padrões alimentares nas últimas décadas vem ocasionando uma pandemia de diabetes, portanto, há um estabelecimento do diabetes como uma preocupação global na área da saúde. A relação entre o trato digestivo e o desenvolvimento de diabetes já foi alvo de estudos científicos e sabe-se que a administração de insulina oral promoveu uma reversão da hiperplasia intestinal diabética em ratos, inibindo a proliferação celular e o crescimento intestinal no diabetes induzido. Apesar de serem destruídos no ambiente ácido do estômago, fragmentos de insulina biologicamente ativos ou moléculas de insulina intactas podem ter modulado a proliferação celular do intestino diabético. O epitélio intestinal possui receptores de insulina já descritos na literatura, no entanto, o efeito da insulina neste sítio de ação ainda é desconhecido. Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo: Avaliar os efeitos da administração oral da insulina em animais alimentados com dieta hiperlipídica; mensurar o epitélio intestinal e avaliar a influência da administração da insulina sobre ele, quantificar parâmetros séricos de glicose e GLP1 e, por fim, avaliar a expressão gênica de GLP-1 por RT-PCR. Método: Ratos Wistar machos, peso médio de 263g, idade entre 2 e 3 meses, divididos em 4 grupos: controle (CTRL) com dieta controle, gavado com NaCl; controle gavado com 30 UI de insulina (CTRL+INS); dieta hiperlipídica gavado com NaCl (HLD) e HLD gavado com 30 UI de insulina (HLD+INS). Medidas de peso foram obtidas semanalmente. Após 11 semanas, amostras de sangue foram coletadas para análises laboratoriais. Após 12 semanas, foi realizada a eutanásia dos animais e amostras de sangue, duodeno e íleo foram coletadas para análise histopatológica e RT-PCR. A administração da insulina oral influenciou na redução do ganho de peso, nas alterações intestinais e outros parâmetros metabólicos.

Palavras-chave: Insulina oral. Diabetes. Intestino delgado. Obesidade.

ABSTRACT

Excessive adiposity, in particular the accumulation of visceral fat, is strongly correlated with insulin resistance, one of the main pillars for the development of type 2 diabetes. Furthermore, obesity is associated with metabolic disorders such as dyslipidemia and chronic inflammation, which also play a role in the pathogenesis of diabetes. The high deaths from diabetes complications is alarming. In recent decades, changing patterns dietary have led us into a diabetes pandemic, so there is an establishment of diabetes as a global health care. The relationship between the digestive system and the development of diabetes has already been the subject from scientific studies and it is known about oral insulin administration has promoted a reversal of diabetic intestinal hyperplasia in rats, inhibiting cell proliferation and intestinal growth in induced diabetes. Even being destroyed in the acidic environment from the stomach, insulin fragments biologically active or intact insulin molecules may have modulated cell proliferation in the diabetic intestine. The intestinal epithelium has insulin receptors already seen on the literature, however, the effect from insulin on this specific action area still unknown. The objective from this study is: Evaluate the effects from oral insulin administration in animals fed by hypercaloric diet; measure the intestinal epithelium and evaluate the influence from insulin administration on it; quantify glucose serum parameters and GLP1 and evaluate the GLP-1 gene expression by RT-PCR. Method: Male Wistar rats, average weight of 263g, aged between 2 and 3 months, put into 4 groups: control (CTRL) with control diet, gavage with NaCl; gavage control with 30 IU of insulin (CTRL+INS); hypercaloric diet gavage with NaCl (HLD) and HLD gavage with 30 IU of insulin (HLD+INS). Weight measurements were carried over weekly. After 11 weeks, blood samples were collected for laboratory analysis. After 12 weeks, the animals were euthanized and blood, duodenum and ileum samples were collected for histopathological analysis and RT-PCR. The administration of oral insulin influenced the reduction of weight gain, intestinal changes and other metabolic parameters.

Keywords: Oral insulin. Diabetes. Small intestine. Obesity.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3	MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1	ESTUDOS EXPERIMENTAIS E COLETA DE AMOSTRAS.....	16
3.1.1	Modelo Animal	16
3.1.2	Dieta Controle x Hiperlipídica	16
3.1.3	Glicemia.....	17
3.1.4	Amostra Sanguínea.....	17
3.1.5	Coleta De Amostra Para Histologia.....	17
3.1.6	Processamento Histológico.....	17
3.1.7	Análise Histológica.....	18
3.1.8	GLP-1 Sérico.....	18
3.1.9	RT-PCR.....	19
3.2	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	20
4	RESULTADOS.....	21
4.1	GANHO DE PESO.....	21
4.2	NIVEIS SÉRICOS DE GLICEMIA.....	22
4.3	COMPRIMENTO DA VILOSIDADE DUODENAL.....	23
4.4	COMPRIMENTO DA CRIPTA DUODENAL.....	24
4.5	COMPRIMENTO DA VILOSIDADE ILEAL.....	25
4.6	COMPRIMENTO DA CRIPTA ILEAL.....	26
4.7	NÍVEIS DE GLP-1 EM JEJUM.....	27
4.8	EXPRESSÃO DE GLP-1 RT-PCR.....	28
4.9	EXPRESSÃO DE PYY RT-PCR.....	29
5	DISCUSSÃO.....	30
6	CONCLUSÃO.....	33
	REFERÊNCIAS.....	34
	ANEXO A – ARTIGO.....	39

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é um grave problema de saúde pública que afeta milhões de pessoas. É uma doença global, de caráter crônico. De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde - World Health Organization, em 2016, o número de adultos acima do peso no planeta era de mais de 1,9 bilhões, deste total, 650 milhões eram considerados obesos. As projeções apontam que até 2025 esse número chegará aos 2,3 bilhões de adultos com sobrepeso ao redor do mundo, um aumento de 21% em dez anos, já os indivíduos com obesidade podem atingir os 700 milhões (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

No Brasil, em 2019, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020), aponta que o número de indivíduos obesos chegou a 41 milhões. O sobrepeso atingiu 96 milhões de pessoas no país, sendo a maioria também do sexo feminino.

Dados da pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) e a Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica (ABESO), indicam que no Brasil, essa doença crônica aumentou 72% nos últimos treze anos, saindo de 11,8% em 2006 para 20,3% em 2019. (ABESO, 2019) (VIGITEL, 2019).

A obesidade geralmente está associada a outras doenças crônicas como hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e hipertrigliceridemia, o que a torna uma doença multifatorial e complexa, levando o paciente a uma síndrome metabólica, que pode resultar em óbito (GADDE *et al.*, 2018).

Recentemente, Lynch e Pedersen (2016), apontaram a relação da alteração da microbiota intestinal como um fator adjuvante no desenvolvimento da obesidade, mas, por englobar fatores diversos tais como genéticos, ambientais e hormonais, a obesidade ainda não tem sua fisiopatologia bem elucidada (CONSIDINE *et al.*, 1996; MOTA, 2021).

O conhecimento dos diferentes tipos de tecidos adiposos tornou-se fundamental para a compreensão dos mecanismos biológicos subjacentes às doenças metabólicas, a obesidade, a diabetes, entre outras condições de saúde, a eles relacionados. O tecido adiposo é uma classe de tecidos especializados do corpo, que desempenha um papel essencial em uma ampla variedade de processos

fisiológicos e patológicos. Este tecido multifuncional é composto por células adiposas, também conhecido como adipócitos, e se desdobra em vários subtipos, cada uma com características únicas e funções específicas. (MONTANARI; POŠĆIĆ; COLITTI, 2017; SAELY; GEIGER; DREXEL, 2011; SAITO *et al.*, 2020).

Dentre os tipos de tecidos adiposos podemos citar o branco, marrom, bege e rosa. Eles são subtipos de tecido adiposo, mas cada um apresenta características distintas e funções específicas. A diferenciação entre eles reside principalmente em suas características morfológicas, metabólicas e funcionais. (SAITO *et al.*, 2020; KUSMINSKI; BICKEL; SCHERER, 2016; FREITAS; CESCHINI; RAMALLO, 2014).

De acordo com Pinto (2014), o Tecido Adiposo Branco (TAB) é de cor branca ou amarelada sendo o tipo de tecido adiposo mais comum, localizado principalmente sob a pele (tecido adiposo subcutâneo) e ao redor dos órgãos internos (tecido adiposo visceral). O TAB atua como um local de armazenamento de energia e triglicerídeos para uso posterior. É metabolicamente menos ativo, sendo mais envolvido no armazenamento de energia do que na queima. Esse tipo de tecido adiposo não desempenha um papel significativo na termorregulação.

O Tecido Adiposo Marrom (TAM) possui coloração acastanhada devido à presença de uma grande concentração de mitocôndrias. Ele é encontrado em pequenas quantidades em adultos, principalmente na região do pescoço e nas costas. Tem como função primordial a termogênese, gerando calor para manter a temperatura corporal. Esse tecido é metabolicamente ativo devido à presença de mitocôndrias e elevada expressão de proteínas termogênicas, e desempenha papel fundamental para a regulação da temperatura em recém-nascidos e animais hibernantes (FONSECA-ALANIZ *et al.*, 2007).

Classificado como uma mescla entre o TAB e o TAM, o Tecido Adiposo Bege (TABe) é encontrado em pequenos retalhos dentro do TAB, assim como no TAM. O TABe também é capaz de realizar a termogênese, é metabolicamente ativo devido à presença de mitocôndrias e pode ser induzido por estímulos como exposição ao frio e exercícios físicos.

Tecido Adiposo Rosa (TAR), é um subtipo recentemente identificado que está presente em recém-nascidos e é composto por células com características específicas entre o TAB e o TAM. Desempenha um papel na termorregulação neonatal, ajudando

a manter a temperatura corporal em bebês, é metabólico ativo, especialmente em recém-nascidos, onde ajuda a evitar a hipotermia (BONFANTE *et al.*, 2015).

Em indivíduos saudáveis, os adipócitos apresentam sensibilidade à insulina, e sua deposição em excesso promove distúrbios metabólicos (SØNDERGAARD; JENSEN, 2016).

Os hábitos de vida adquiridos pela população, baseados em sedentarismo e alimentação rica em carboidratos e gorduras, associados a fatores genéticos, contribuem significativamente para o desenvolvimento da DM2 (RODRIGUES, 2012).

A conexão entre obesidade e diabetes é extremamente reconhecida pela comunidade científica. A obesidade está fortemente associada à resistência à insulina, à disfunção das células beta pancreáticas e à inflamação crônica, todos os fatores que desempenham um papel fundamental no desenvolvimento do diabetes tipo 2 (SINAIKO, 2007).

Existem dois tipos de diabetes, a diabetes mellitus tipo 1, onde a doença é caracterizada pela destruição autoimune das células do pâncreas que produzem a insulina, e a diabetes mellitus tipo II é caracterizada pela redução da sensibilidade dos tecidos à insulina (FREITAS; CESCHINI, 2014).

Esse distúrbio crônico de secreção de insulina pelo pâncreas, bem como a resistência à insulina, está relacionado com a alta disponibilidade glicêmica oriunda da degradação de carboidratos no trato intestinal (MATVEYENKO *et al.*, 2008), o que pode agravar o quadro de obesidade.

Existem dois tipos de diabetes, a diabetes mellitus tipo I, onde a doença é caracterizada pela destruição autoimune das células do pâncreas que produzem a insulina, e a diabetes mellitus tipo II é caracterizada pela redução da sensibilidade dos tecidos à insulina.

Para melhorar a qualidade de vida dos pacientes obesos e prevenir o desenvolvimento ou agravamento de outras doenças associadas, é necessário um tratamento adequado e constante aperfeiçoamento (LEIGH, 2020). A abordagem terapêutica para o paciente obeso deve ser multiprofissional, incluindo acompanhamento nutricional para controle alimentar, apoio psicológico, atividade física regular com auxílio de um Profissional de Educação Física e um tratamento médico individualizado para possíveis doenças preexistentes (BIANCHINI *et al.*, 2012;

DIAS *et al.*, 2017).

O acompanhamento multidisciplinar do paciente obeso é importante visto que, no processo de emagrecimento, diversos são os fatores envolvidos, e dentre eles, destaca-se a ação da insulina. O peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) é uma substância produzida pelas células enteroendócrinas do intestino que atua nos processos envolvidos na digestão e no metabolismo. Atua aumentando a secreção de insulina induzida pela glicose, inibindo a gliconeogênese, na secreção de glucagon e no retardo do esvaziamento gástrico, atuando, assim nos mecanismos de apetite e saciedade do hipotálamo. Diante da importante influência sobre o apetite e principalmente a glicemia, o GLP-1 tem sido amplamente estudado sobre sua relação com a obesidade e o DM2, o que levou ao desenvolvimento de fármacos análogos que tem como objetivo principal modular o organismo trazendo avanços no tratamento dessas doenças (NAUCK, 2016; DRUCKER, 2018).

A ação da insulina em ratos tem sido extensivamente estudada, com o objetivo de compreender os mecanismos subjacentes ao metabolismo da glicose e sua regulação. A administração de 20 U de insulina via oral em ratos com dieta hiperlipídica foi estudada por Lipinski *et al.* (2017) com o objetivo de analisar alterações metabólicas, notou-se a redução do ganho de peso, os autores sugerem que o fármaco induziu uma modulação do epitélio intestinal, levando a uma diminuição do acúmulo de peso, porém os mecanismos que levaram a tal redução ainda não é bem elucidado.

Lima (2021) avaliou os efeitos da administração de nanopartículas poliméricas contendo insulina em animais alimentados com dieta hiperlipídica. Os resultados indicaram que a insulina oral promoveu uma diminuição no ganho de peso dos animais e alterações na expressão de genes envolvidos na absorção de nutrientes no intestino, indicando um efeito da insulina no epitélio intestinal.

A insulina pode modular a função da barreira intestinal, a secreção de hormônios intestinais, como o GLP-1 e a expressão de transportadores de nutrientes no intestino, por isso, a influência do intestino na regulação do metabolismo corporal, destacando-se pela sua comunicação direta com o sistema nervoso central, regulando mecanismos de fome e saciedade (*gut brain axis*) e pela secreção dos hormônios regulatórios (CRYAN *et al.*, 2019).

Assim como o GLP-1, o PYY é outro hormônio peptídico intestinal secretado porção distal do intestino delgado e intestino grosso, no período pós-prandial, proporcionalmente à quantidade de calorias ingeridas. O PYY diminui a motilidade intestinal e aumenta a saciedade, o que provoca uma diminuição do apetite e ingestão de alimentos em animais roedores e também no ser humano com peso normal (BATTERHAM et al., 2003). Os obesos apresentam níveis de PYY endógenos de jejum e pós-prandiais baixos quando comparados aos não obesos. Sabe-se, ainda, que os núcleos paraventricular e arqueado hipotalâmicos contêm neurônios capazes de estimular ou inibir a ingestão de alimentos e que o PYY tem um papel comunicador com estes núcleos (PFLUGER et al., 2007).

Os níveis de PYY apresentam uma baixa após o jejum e aumentam após as refeições. Ao longo do dia, os níveis de PYY são mais baixos pela manhã e aumentam constantemente após o café da manhã, almoço e jantar (REID et al., 2017).

Sendo assim, é grande o interesse pelo desenvolvimento de drogas que atuem positivamente no funcionamento do epitélio intestinal.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos da administração da insulina oral sobre os parâmetros metabólicos de ratos submetidos a alimentação regular e hiperlipídica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o ganho de peso dos animais de acordo com o grupo;
- Mensurar vilosidade e criptas do o epitélio intestinal e avaliar a influência da administração da insulina nessas estruturas;
- Quantificar parâmetros séricos, glicose e GLP1;
- Avaliar a expressão genica de GLP-1 e PYY.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ESTUDOS EXPERIMENTAIS E COLETA DE AMOSTRAS

A pesquisa foi realizada após a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais em Pesquisas da UEPG no ano de 2018, pelos processos CEUA – 044/2018 e Protocolo UEPG – 15924/2018.

3.1.1 Modelo Animal

Durante um intervalo de 12 semanas, 48 ratos machos da raça Wistar, com peso médio de 263 gramas foram separados em 4 grupos:

QUADRO 1 – Classificação dos grupos de acordo com a dieta fornecida e respectivas medicações.

Grupos	Número de Ratos	Descrição	Alimentação/Medicação
Grupo A	12	Controle (CTRL)	Alimentação Controle Nuvilab® com gavagem oral diária de 0,3 ml de solução fisiológica 0,9%.
Grupo B	12	Controle + Insulina (CTRL+INS)	Alimentação Controle Nuvilab® associada a gavagem oral diária de 30 UI de Insulina oral.
Grupo C	12	High Lipidic Diet (HLD)	Alimentação Hiperlipídica com gavagem oral diária de 0,3 ml de solução fisiológica 0,9%.
Grupo D	12	High Lipidic Diet + Insulina (HLD+INS)	Alimentação Hiperlipídica com gavagem oral diária de 30 UI de Insulina oral.

Fonte: O autor

Os animais receberam doses diárias de insulina ou solução fisiológica 0,9%, sempre ao mesmo horário, 16 horas.

3.1.2 Dieta Controle x Hiperlipídica

Para dieta Controle (CTRL) foi administrada uma ração comum para biotério Nuvilab®, e para dieta Hiperlipídica (High Lipidic Diet = HLD) foi produzida uma mistura da mesma ração comum para biotério Nuvilab®, adicionados leite condensado e gordura de suíno. De acordo com a composição das alimentações (%Kcal), as dietas apresentam composição conforme a Tabela1:

TABELA 1 – Comparação nutricional em porcentagem de carboidrato, proteína e gordura entre dieta controle e dieta hiperlipídica.

Dieta Controle		Dieta Hiperlipídica	
Carboidrato	68%	Carboidrato	39,4%
Proteína	22,7%	Proteína	16%
Gordura	9,3%	Gordura	44,6%

Fonte: O autor

Os animais foram alocados em 12 gaiolas para biotério, e tiveram seus pesos aferidos semanalmente.

3.1.3 Glicemia

As amostras para aferição da glicemia em jejum, foram coletadas após 11 semanas de tratamento, por meio da veia caudal. Os valores da glicemia sérica foram obtidos por meio de aparelho digital Accu-Chek Active®.

3.1.4 Amostra Sanguínea

Na 12ª semana, os animais foram submetidos a 12 horas de jejum antes de serem anestesiados por via inalatória com isoflurano. Após a perda da consciência, os animais foram colocados em decúbito dorsal, realizada uma incisão mediana e abertura dos planos até a cavidade pleural e exposição do coração, sendo realizada punção cardíaca e aspiração de aproximadamente 10 ml de sangue. As amostras foram centrifugadas, aliquotadas para a utilização do soro. Posteriormente, os animais foram eutanasiados por meio de superdosagem do mesmo anestésico.

3.1.5 Coleta de Amostra Para Histologia

Por meio de laparotomia, amostras de duodeno e íleo medindo aproximadamente 0.5 cm foram coletadas, identificadas e conservadas em formol 10%.

3.1.6 Processamento Histológico

No laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia experimental da Universidade Estadual de Ponta Grossa foi realizado o processamento histológico das amostras. As

amostras de intestino foram acomodadas em cassetes histológicos com tampa removível, devidamente identificados, e, posteriormente, passaram pelo processo de desidratação em etanol 70% (2 banhos), 80% (2 banhos), 90% (4 banhos) e 100% (2 banhos), todos os banhos tiveram a duração de 30 min.

Após os banhos com etanol, as amostras foram emblocadas em parafina a 60°C e seccionadas transversalmente por meio micrótomo (LUPETEC) a uma espessura de 5 µm. Os cortes foram colocados em banho maria e acomodados sobre lâminas para microscopia.

Para impregnação dos corantes foi realizada a desparafinização com 2 banhos de xilol 10 minutos cada, hidratação com graduação alcoólica decrescente (100%, 90%, 80%, 70%, 1 minuto cada) seguida de lavagem com água destilada. As lâminas foram então imersas em hematoxilina por 3 minutos, lavadas com água corrente por 10 minutos e imersas em eosina por 7 minutos. Ao final do processo as lâminas sofreram processo de desidratação e clarificação para selagem das lâminas.

3.1.7 Análise Histológica

As imagens dos tecidos foram obtidas e analisadas com microscópio Olympus LG-PS2 (ampliação de 10x) mantendo um padrão para todas as amostras utilizando o software T capture versão 5.1.1 (Tucsen, Fuzhou, China). Para avaliar o comprimento das vilosidades e a profundidade da cripta foi utilizado o software ImageJ.

3.1.8 GLP-1 Sérico

As amostras de soro sanguíneo foram submetidas ao teste de ELISA (Biomatik® USA LLC, Delaware, USA), pelo método sanduíche, para a análise das absorvâncias de GLP-1. Posteriormente, foram calculadas as concentrações através dos resultados de absorvância obtidos em duplicata e introduzidos na equação da curva $y = 0,0333x^{0,5548}$, onde foi chegada a esta fórmula pelos cálculos das concentrações e absorvâncias padrões, com $R^2 = 0,98$ de confiança.

3.1.9 RT-PCR

Para as reações de qRT-PCR, amostras de aproximadamente 5 mm³ de íleo e duodeno foram retiradas e armazenadas em tubos de 1,5 ml contendo RNA^{later}® (Qiagen). Os tecidos foram estocados a -80°C até seu processamento.

A extração do RNA total foi realizada, utilizando-se reagente TRIzol by Invitrogen de acordo com a indicação do fabricante. O RNA total foi quantificado em NanoVue (GE Healthcare). As amostras de RNA foram armazenadas em ultra-freezer -80°C até sua utilização. Para a síntese do cDNA (DNA complementar), aproximadamente 1 µg de RNA total foi submetido à transcrição reversa, utilizando-se o kit comercial “GoTaq Probe 2-Step RT-qPCR System”(PROMEGA), seguindo as recomendações do fabricante.

A análise da expressão gênica foi realizada por ensaios de qRT-PCR em equipamento AriaMx Real Time PCR. Nas reações de amplificação, foram utilizados reagentes conforme Quadro 2:

QUADRO 2 – Relação de reagentes e respectivos volumes utilizados para a realização de reações de qRT-PCR.

Reagentes	Volume
Água milli-Q	1 µL
Go Taq Probe qPCR Master Mix	5 µL
Primer Forward (PF)	1 µL
Primer Reverse (PR)	1 µL
CDNA	2 µL
Volume total	10 µL

Fonte: O autor

Um controle negativo, o qual continha água em vez de cDNA molde, foi incluído nas corridas para cada um dos genes. O equipamento foi configurado conforme Quadro 3:

QUADRO 3 – Configuração de ciclos, temperatura e tempo no equipamento termociclador para a obtenção de expressão gênica.

Ciclos	Temperatura	Tempo
1 x	95°C	2 minutos
40X	95°C	15 segundos
	60°C	30 segundos
1x	95°C	1 minuto
	55°C	30 segundos
	95°C	30 segundos

Fonte: O autor

3.2 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foram calculados como média $\pm$ desvio padrão (DP) os resultados encontrados. Depois, os mesmos dados foram submetidos aos testes ANOVA (unilateral) e T student, com o valor de $p < 0,05$ como valor estatístico significativo. Os testes e os gráficos foram realizados através do programa GraphPad Prism versão 9.1.2 para Mac (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, EUA).

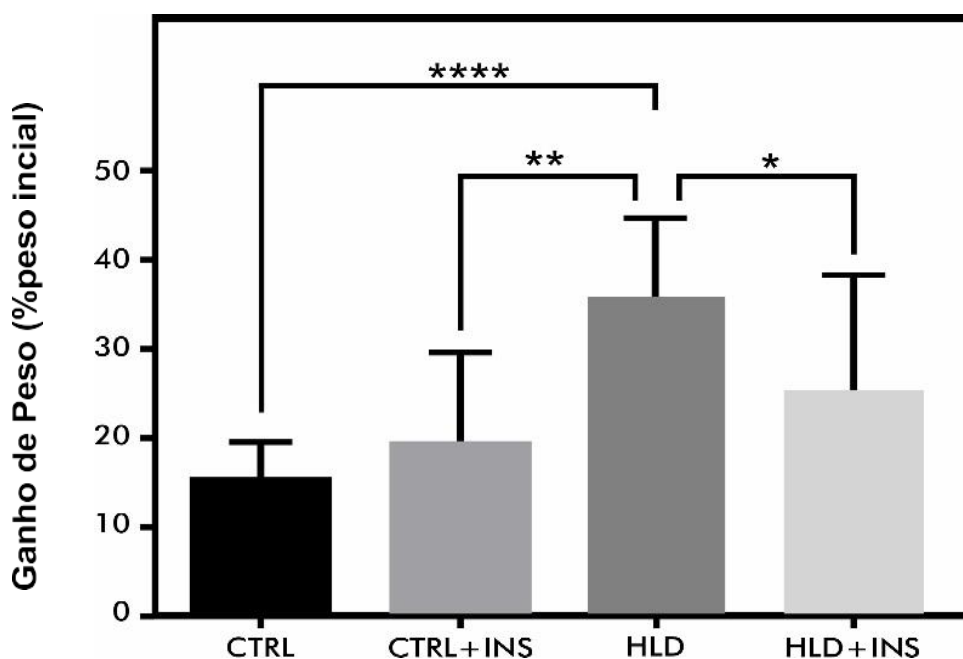
4 RESULTADOS

Do total dos 48 ratos agrupados para pesquisa, 5 animais foram perdidos precocemente por causas não identificadas, totalizando 43 ratos utilizados até o final do experimento, destes, 9 pertencentes ao grupo CTRL; 10 ao grupo CTRL+INS; 12 ao grupo HLD e 12 ao grupo HLD+INS.

4.1 GANHO DE PESO

Após 12 semanas, houve diferença de ganho de peso entre os grupos em relação ao peso inicial. O grupo HLD obteve o maior ganho ponderal em comparação aos outros com diferença significativa ($p < 0,05$). O grupo HLD+INS obteve ganho semelhante comparado aos grupos de dieta Controle (gráfico 1).

Gráfico 1 – Comparação da porcentagem do ganho de peso entre grupos CTRL, CTRL+INS, HLD, HLD+INS, mostrando o maior ganho de peso dos animais pertencentes ao grupo



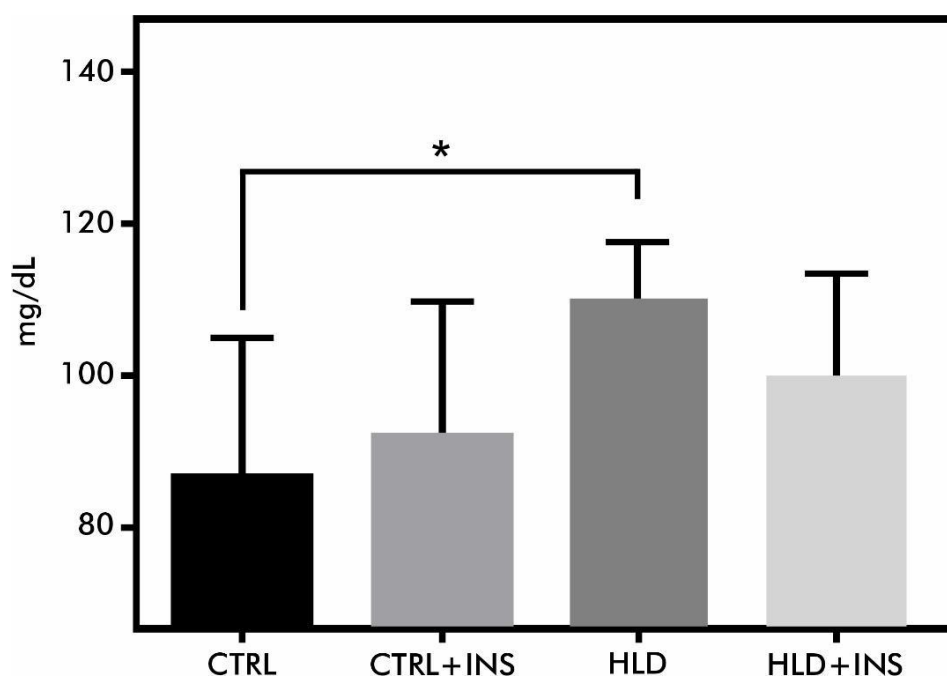
Fonte: Dados da pesquisa, 2021.

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.2 NÍVEIS SÉRICOS DE GLICEMIA

A dieta hiperlipídica promoveu aumento significativo da glicemia de jejum no grupo HLD em relação ao grupo Controle. Esta diferença não foi percebida em relação ao grupo HLD+INS, que apresentou níveis menores de glicemia conforme apresentado no Gráfico 2:

Gráfico 2 – Comparação dos níveis de glicemia entre grupos CTRL, HLD e HLD+INS, mostrando que os animais que receberam apenas a dieta hiperlipídica tiveram um aumento da glicemia em jejum quando comparados aos demais grupos.



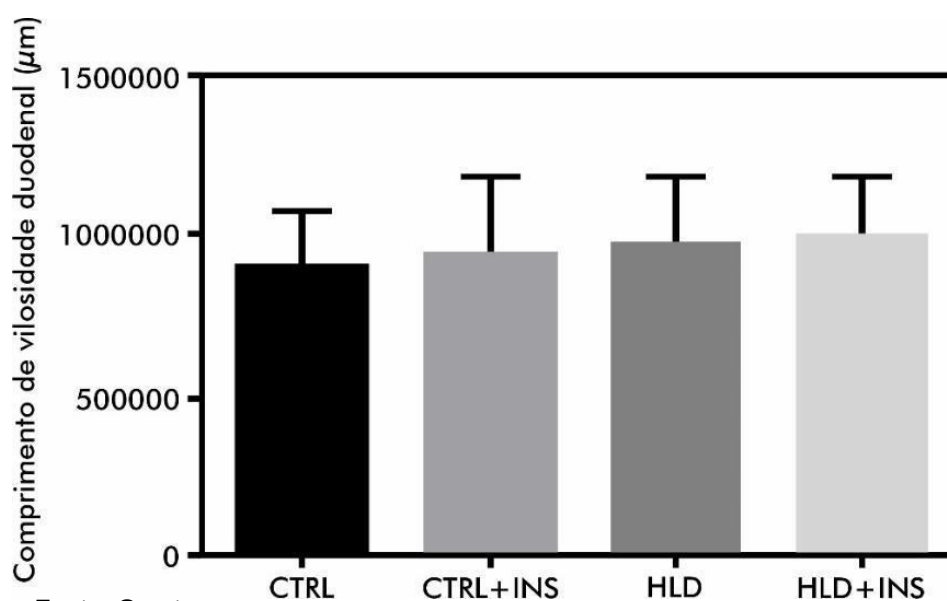
Fonte: Dados da pesquisa, 2023.

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.3 COMPRIMENTO DA VILOSIDADE DUODENAL

O comprimento do vilo duodenal não apresentou diferença significativa no grupo de dieta CTRL + INS comparado a dieta CTRL. Também não houve diferença significativa entre o grupo HLD + INS comparado ao grupo HLD, conforme verificado no Gráfico 3.

Gráfico 3 – Variação do comprimento da vilosidade duodenal entre os grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD, demonstrando que a administração de insulina oral não promoveu alteração nessas estruturas.



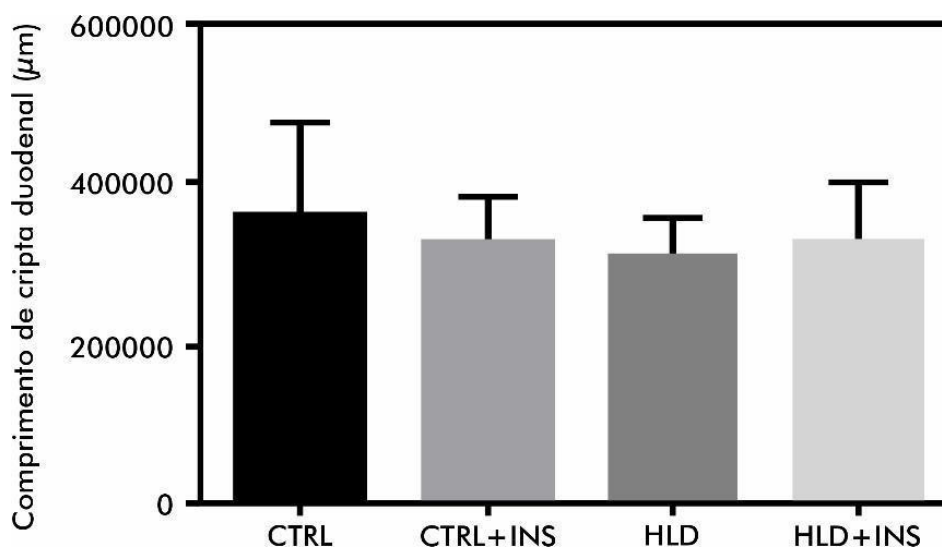
Fonte: O autor

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.4 COMPRIMENTO DA CRIPTA DUODENAL

O Gráfico 4 mostra a comparação entre os tamanhos das criptas duodenais entre os grupos estudados. Analisando o grupo CTRL, em comparação com os grupos CTRL+INS, HLD e HLD+INS, não foram observadas diferenças significativas entre eles.

Gráfico 4 – Comparação do Tamanho das criptas duodenais entre os Grupos Grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS demonstrando que administração de insulina oral, não promoveu alterações significativas nessas estruturas.



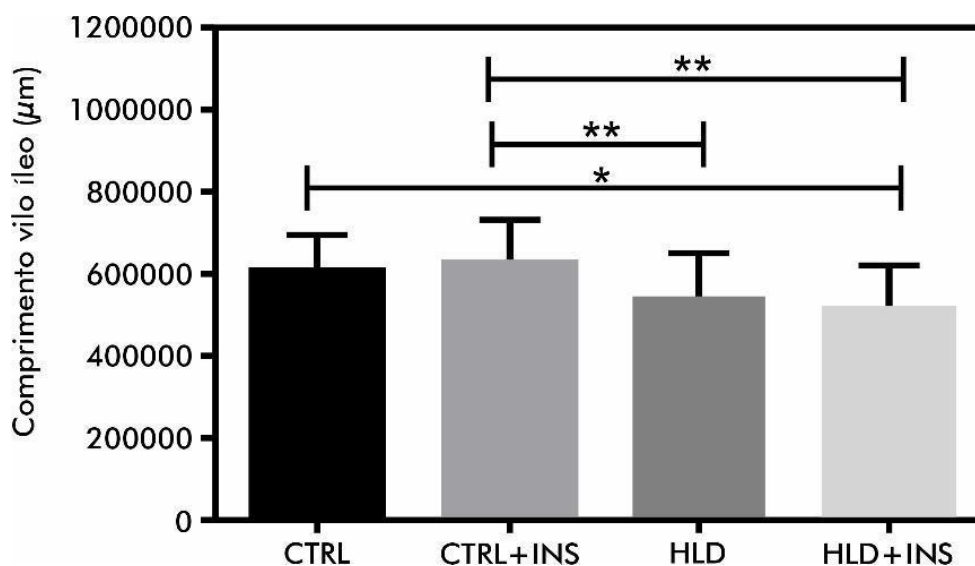
Fonte: dados da pesquisa, 2023

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.5 COMPRIMENTO DA VILOSIDADE ILEAL

O Gráfico 5 compara a diferença do comprimento do vilo ileal entre os grupos. Foi observado que o grupo tratado com dieta hiperlipídica e que receberam insulina oral regular (HLD+INS) obteve uma diminuição do comprimento da vilosidade ileal quando comparado ao grupo CTRL e ao grupo CTRL+INS com $P < 0,0146$ e $P < 0,0004$, respectivamente. Também foi encontrado diferença significativa entre os grupos CTRL+INS e HLD com $P < 0,0069$.

Gráfico 5 – Variação do Comprimento do Vilo Ileal entre os Grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS demonstrando que a administração de insulina oral não promoveu alterações nessas estruturas.



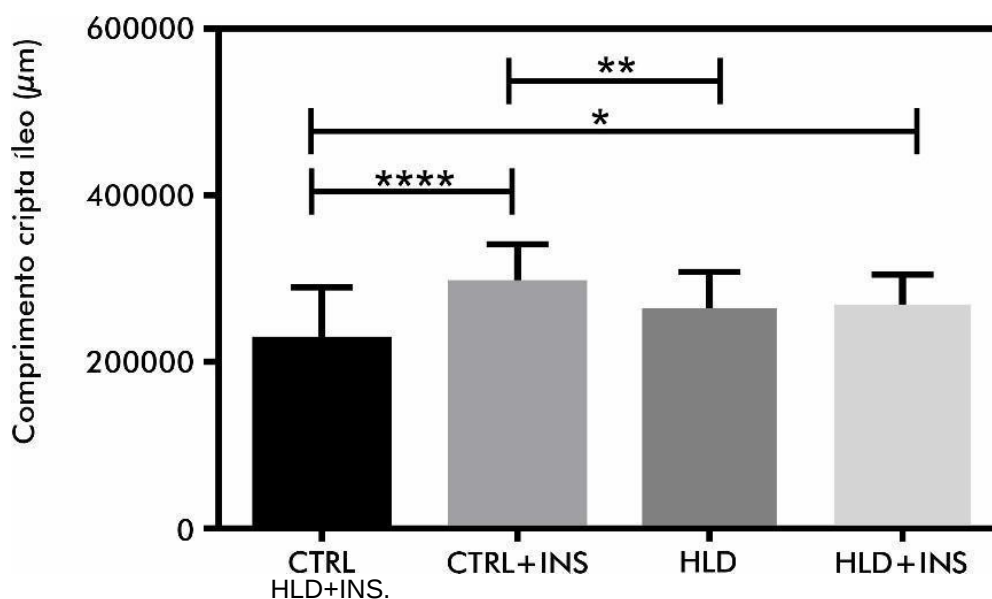
Fonte: O autor

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.6 COMPRIMENTO DA CRIPTA ILEAL

Ao analisar o comprimento da cripta ileal foi observado que o grupo CTRL+INS apresentou maior tamanho quando comparado aos grupos CTRL e HLD, com valor de $p < 0,0001$ e $p < 0,0092$, respectivamente. Os animais que receberam a dieta hiperlipídica e insulina oral apresentaram um comprimento maior de cripta em relação aos animais que receberam apenas dieta controle, $p < 0,0466$ (gráfico 6).

Gráfico 6 – Comparação do comprimento das criptas ileais nos grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS demonstrando que a administração de insulina oral promoveu alteração no comprimento das criptas ileais nos grupos CTRL+INS e



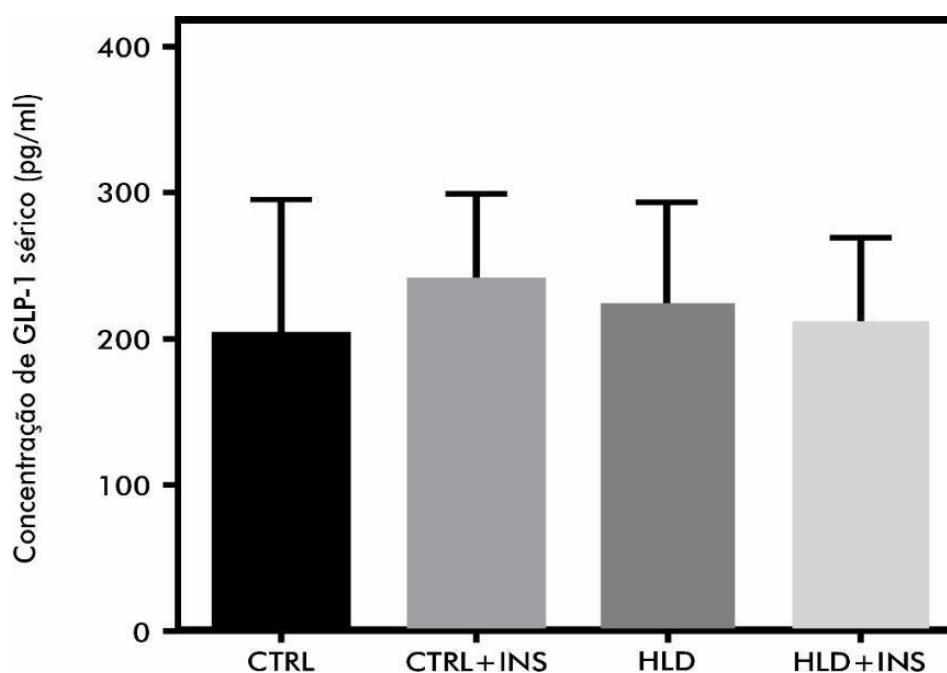
Fonte: O autor

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.7 NÍVEIS DE GLP-1 EM JEJUM

Os níveis de concentração de GLP-1 de jejum encontrados no plasma sanguíneo não apresentaram diferença estatística entre todos os grupos, conforme Gráfico 7.

Gráfico 7 – Comparação das concentrações de GLP-1 sérico entre os grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS não demonstrou diferenças significativas entre os grupos.



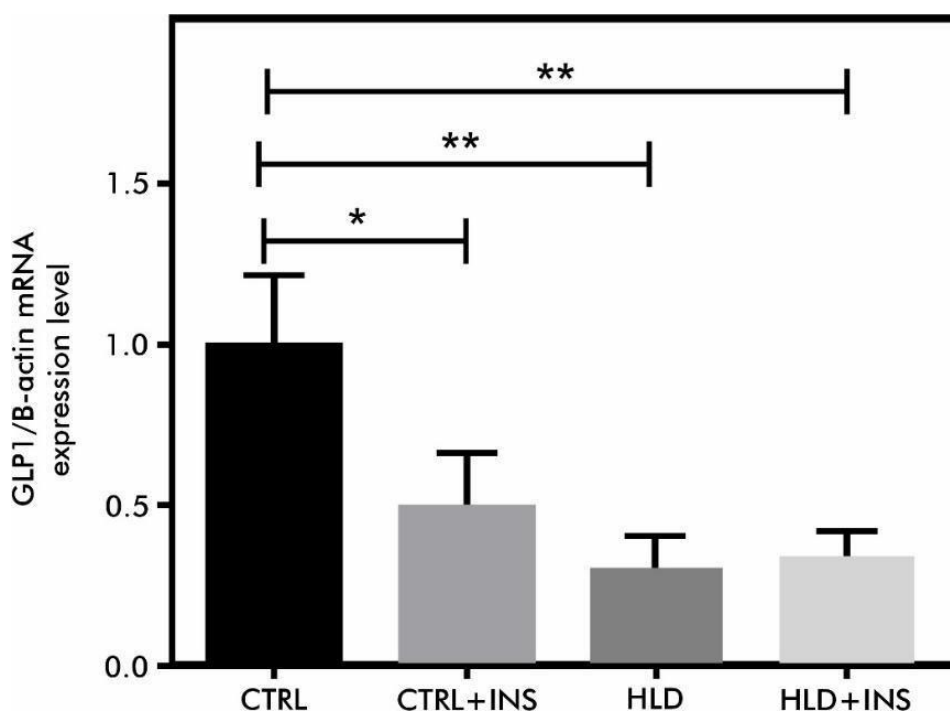
Fonte: O autor

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.8 EXPRESSÃO DE GLP-1 RT-PCR

Os valores obtidos das amostras submetidas ao teste de PCR apontam redução da expressão de GLP-1 nos grupos CTRL+INS, HLD e HLD+INS, apresentando diferença estatística entre o grupo controle e os demais.

Gráfico 8 - Comparação da expressão gênica de GLP-1 entre os grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS demonstrando maior expressão de GLP-1 no grupo controle quando comparado aos demais.



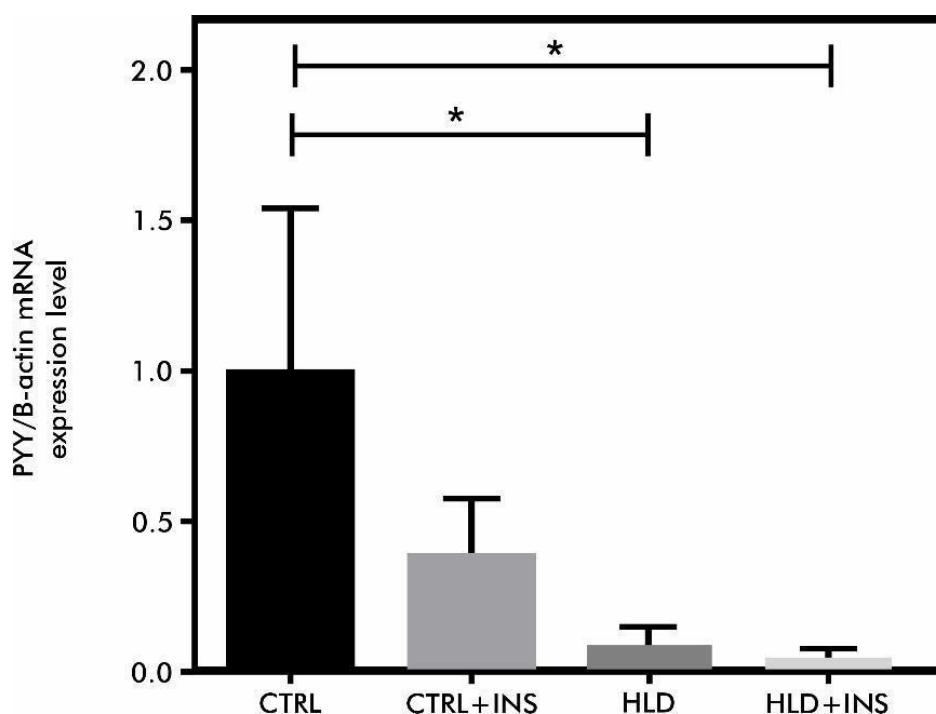
Fonte: O autor

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$.

4.9 EXPRESSÃO DE PYY RT-PCR

Os valores obtidos das amostras submetidas ao teste de PCR apontam que houve apenas diferença significativa na redução de expressão de ppy ($p < 0,05$) em animais submetidos à dieta hiperlipídica, em relação ao grupo Controle, conforme apresentado no Gráfico 9.

Gráfico 9 – Comparação da expressão gênica de PYY entre os grupos CTRL, CTRL+INS, HLD e HLD+INS, demonstrando que apenas o grupo HLD apresentou diferença significativa na redução de expressão de ppy, em relação ao grupo controle.



Fonte: O autor

Nota: Análise de Variância (One Way Anova). Desvio padrão, * $p < 0,05$

5 DISCUSSÃO

A relação entre a microbiota intestinal e a obesidade tem sido investigada, com a disbiose associada ao aumento de *Firmicutes* e à redução de *Bacteroidetes* relacionada ao surgimento e progressão da obesidade (BÄCKHED *et al.*, 2004; CHAMBERS *et al.*, 2015; DEN BESTEN *et al.*, 2013; FEI; ZHAO, 2013; GAO *et al.*, 2016, 2009; MORAES *et al.*, 2014; SOLIMAN *et al.*, 2011).

Estudos recentes mostraram que o tratamento com metformina e liraglutida, fármacos utilizados no tratamento de pacientes diabéticos, resultou em uma remodelação da microbiota intestinal, promovendo um equilíbrio favorável no hospedeiro. Nesse contexto, este estudo sugere a possibilidade de a insulina promover uma redução no ganho de peso por meio da modulação da microbiota intestinal (LIU *et al.*, 2020; MAGNE *et al.*, 2020; MILNER; BECK, 2012; ZIMMERMANN *et al.*, 2021; SUN *et al.*, 2019).

Um resultado relevante apontado por Xie *et al.* (2020), roedores submetidos a dieta hiperlipídica apresentaram uma alteração morfológica do epitélio do intestino delgado, a qual pode levar a um aumento da absorção de gorduras. Por outro lado, o uso de medicamentos como Orlistat no tratamento da obesidade regula sua absorção por meio da inibição das lipases liberadas pelo trato gastrointestinal (HECK; YANOVSKI; CALIS, 2000), levando à normalização das células epiteliais.

Diante dos estudos expostos, questiona-se se a insulina pode inibir as ações enzimáticas secretadas, levando a uma reestruturação da barreira epitelial?

Segundo Yazici; Sezer (2017), levando em consideração a baixa vascularização do tecido adiposo, presente em grande abundância em pessoas e animais obesos, é desencadeado o surgimento de um estado lipotóxico, levando a hiperglicemia e hiperinsulinemia.

Durante o experimento, os animais do grupo HLD+INS apresentaram menor ganho ponderal em relação ao grupo que recebeu apenas HLD, o que corrobora com a pesquisa promovida por Lipinski *et al.* (2017), demonstrado um impacto positivo da insulina oral na diminuição do ganho de peso nos roedores. A ação da insulina sobre a diminuição do ganho de peso nos animais alimentados com HLD ainda não foram completamente elucidados.

Estudos anteriores indicam que a insulina pode ter um efeito local no epitélio

intestinal, levantando a possibilidade de que o fármaco possa alterar a diferenciação celular nesse tecido ou modular a composição da microbiota intestinal. (Gomes et al. 2014)

Contudo, observou-se que, nos níveis de glicemia do presente estudo, a insulina administrada por via oral conseguiu conter a hiperglicemia provocada pela dieta. Embora não tenha apresentado diferença estatística em relação ao grupo HLD, os resultados obtidos por Lipinski et. al. (2017) apontam semelhança na redução dos níveis glicêmicos, da mesma forma que um estado comparativo proposto por Halberg et al. (2019) entre a administração de insulina oral e subcutânea, em que ambas as vias promoveram melhoras.

Tal resposta metabólica se dá devida a redução de tecido adiposo, esse, reconhecidamente resistente à insulina, assim como o aumento gradativo da sensibilidade à insulina associado à normalização dos parâmetros metabólicos. No entanto, existe uma outra via que pode ter relação com a diminuição da glicemia de jejum nos roedores voltada na modulação celular no intestino delgado.

Segundo a pesquisa realizada por Buts et al. (1988), ao perceber um desenvolvimento celular nas criptas e vilosidades intestinais em roedores recém nascidos administrados com insulina oral, e na conclusão obtida por Verdam et al. (2011) de que há uma associação entre o DM2 a uma hiperplasia intestinal e diminuição de enterócitos no intestino delgado, supõe-se que a insulina proporcione a mesma ação nas células intestinais em roedores adultos, por meio da diminuição do tecido intestinal associado à regeneração de células, o que pode ser tornar um fator protetor ao desenvolvimento da DM2.

Por meio da sugestão de Lipinski *et al.* (2017) em um possível papel do GLP-1 na modulação do ganho de peso e da hiperglicemia, os resultados encontrados não apresentaram diferenças estatísticas entre todos os grupos.

O GLP1 apresenta maiores níveis de concentração nos estados pós-prandiais (NAKAJIMA; HIRA; HARA, 2015; PANNACCIULLI *et al.*, 2007),

contrapondo à metodologia utilizada no presente estudo, já que a amostra sanguínea utilizada foi obtida com os animais em jejum.

Os resultados obtidos no estudo, mostram que níveis séricos de GLP-1 em jejum não apresentam influência sobre os roedores que receberam insulina oral.

Apesar disso, sabe-se que a utilização de medicamentos análogos do GLP-1 tem impacto positivo na regulação da glicemia e na perda ponderal, pois no estudo proposto por Cazzo *et al.* (2018) por meio da análise comparativa de GLP-1 pós-prandial em pacientes obesos, diabéticos e regulares, obteve-se variações distintas comparadas ao nosso, mesmo não havendo diferença estatística. A semaglutida, por exemplo, apresenta redução de até 16% do peso corporal em obesos em um período de um ano (O'NEIL *et al.*, 2018) e valores inferiores a 7,0% da hemoglobina glicada em diabéticos administrados com 2,4 mg.

Diante dessas análises, podemos sugerir que sejam realizados novos experimentos visando mensurar as concentrações pós-prandiais de GLP-1 nos roedores administrados com insulina e submetidos a dieta hiperlipídica.

Considerando os resultados obtidos, a insulina oral oferece boa resposta no tratamento da obesidade e na profilaxia de doenças crônicas como tratamento farmacológico, no entanto, a sua aplicação continua inviável devido à atividade digestiva estomacal (LYNCH; PEDERSEN, 2016).

Os resultados do presente estudo foram publicados na Revista Ft, conforme Anexo A disponível na página 39.

A fim de utilizar a insulina por via oral em animais obesos como opção terapêutica, serão necessários estudos voltados no mecanismo de ação da insulina no epitélio intestinal por meios histológicos, e na microbiota intestinal por culturas da região. Além disso, será necessário o desenvolvimento de partículas capazes de proteger as moléculas de insulina contra agressões químicas secretadas pelo trato gastrointestinal.

6 CONCLUSÃO

O estudo da insulina administrada em ratos por via oral apresentou:

- Diminuição do ganho de peso em roedores alimentados com dieta hiperlipídica.
- Redução dos níveis de glicemia, mostrando boa resposta à insulina via oral.
- Não promoveu alterações no epitélio da porção duodenal, porém foi observado a diminuição da vilosidade ileal em animais com dieta hiperlipídica e insulina oral, e aumento do tamanho das criptas da porção ileal nesse grupo em comparação ao grupo controle.
- Não induziu a diferença nos níveis séricos de GLP-1 em jejum, porém, induziu uma expressão genica maior de GLP-1 dos demais grupos em relação ao grupo Controle.
- Diferença significativa na redução de expressão de PYY em animais submetidos à dieta hiperlipídica, em relação ao grupo Controle.
- Mais estudos capazes de analisar o efeito da administração de insulina oral no epitélio intestinal são necessários.

REFERÊNCIAS

- BÄCKHED, F. *et al.* The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 44, p. 15718-15723, nov. 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15505215/>. Acesso em: 22 mar. 2023.
- BATTERHAM, R. L. *et al.* Inhibition of Food Intake in Obese Subjects by Peptide YY3–36. **The New England Journal of Medicine**, v. 349, set. 2003. Disponível em: https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa030204#article_references. Acesso em: 22 mar. 2023.
- BIANCHINI, J. *et al.* Tratamento da Obesidade: Revisão de artigos sobre intervenções multiprofissionais no contexto brasileiro. **Arq Ciênc Saúde**, v. 19, n. 2, p. 9-15, 2012.
- BONFANTE, I. L. P. *et al.* Novos achados relacionados ao tecido adiposo: uma revisão de literatura sobre o browning e irisina. **Revista Arquivos de Ciências da Saúde**, v. 22, n. 2, p. 9, jul. 2015.
- BUTS, J. P. *et al.* Intestinal development in the suckling rat: effect of insulin on the maturation of villus and crypt cell functions. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 18, p. 391-398, 1988.
- CAZZO, E. *et al.* Comparação dos níveis de proteína C reativa, GLP-1 e GLP-2 entre indivíduos diabéticos, obesos mórbidos e controles saudáveis: um estudo exploratório. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 55, n. 1, p. 72-77, jan/mar 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0004-2803.201800000-14>. Acesso em: 22 mar. 2023.
- CHAMBERS, E. S. *et al.* Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. **Gut**, v. 64, n. 11, p. 1744–1754, nov. 2015.
- CONSIDINE, R. V. *et al.* Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. **The New England journal of medicine**, v. 334, n. 5, p. 292–295, fev. 1996.
- CRYAN, J. F. *et al.* The Microbiota-Gut-Brain Axis. **Physiological reviews**, v. 99, n. 4, p. 1877-2013, out. 2019.
- DEN BESTEN, G. *et al.* The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **Journal of lipid research**, v. 54, n. 9, p. 2325–2340, set. 2013.
- DIAS, P. C. *et al.* Obesidade e políticas públicas: concepções e estratégias adotadas pelo governo brasileiro. **Cad. Saúde Pública**, v. 33, n.7, 2017. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/Q7r6YWJsJR5GZ9bJFBr6ckm/>. Acesso em: 23 mar. 2023.
- DRUCKER D. J. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagon-like Peptide-1. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 4, p. 740-756, abr. 2018. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29617641/>. Acesso em: 23 mar 2023.

FEI, N.; ZHAO, L. An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice. **The ISME Journal**, v. 7, n. 4, p. 880-884, 2013.

FONSECA-ALANIZ, M. H. *et al.* Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. **Jornal de Pediatria**, J Pediatr (Rio J), v. 83, n. 5, nov. 2007.

FREITAS, M. C.; CESCHINI, F. L.; RAMALLO, B. T. Resistência à Insulina Associada à Obesidade: Efeitos Anti-Inflamatórios do Exercício Físico. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 22, n. 3, p. 139-147, 2014.

GADDE, K. M. *et al.* Fisiopatologia e manejo da obesidade. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 71, n. 1, p. 1-16, 2018.

GAO, X. *et al.* Acetate functions as an epigenetic metabolite to promote lipid synthesis under hypoxia. **Nature communications**, v. 7, p. 11960, jun. 2016.

GOMES, A.C., BUENO, A.A., DE SOUZA, R.G.M., & MOTA, J. F. Gut microbiota, probiotics and diabetes. **Nutrition Journal**, v. 13, n. 60, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1475-2891-13-60>. Acesso em: 23 mar 2023.

HALBERG, I. B. *et al.* Efficacy and safety of oral basal insulin versus subcutaneous insulin glargine in type 2 diabetes: a randomised, double-blind, phase 2 trial. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 7, n. 3, p. 179-188, 2019. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30372-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30372-3). Acesso em: 23 mar 2023.

HECK, A. M. *et al.* Orlistat, a new lipase inhibitor for the management of obesity. **Pharmacotherapy**, v. 20, n. 3, p. 270-279, mar. 2000. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101758.pdf>. Acesso em: 25 mar 2023.

IBGE. Pesquisa Nacional de Saúde 2019 - Atenção primária à saúde e informações antropométricas. Brasil / **IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento**. Rio de Janeiro : IBGE, 2020.

KAHN, S., HULL, R. & UTZSCHNEIDER, K. Mecanismos que ligam a obesidade à resistência à insulina e diabetes tipo 2. **Springer Nature**, n. 444, p. 840-846, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature05482>. Acesso em 25 mar 2023.

KUSMINSKI, C. M. *et al.* Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 15, n. 9, p. 639–660, 2016.

LAZZARONI, E. *et al.* Anti-diabetic drugs and weight loss in patients with type 2 diabetes. **Pharmacological research**, v. 171, p. 105782, set. 2021.

LEIGH, P. Obesity in adults: Overview of management. **UpToDate**, p. 1-17, 2020.

LIMA, A. L. de. Influência da insulina oral no epitélio intestinal: uma avaliação dos efeitos da administração de nanopartículas poliméricas contendo insulina em animais

alimentados com dieta hiperlipídica. 2021. **Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)** - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, p.72. 2021.

LIPINSKI, I. M. *et al.* Effect of oral insulin and hyperlipidic diet on intestinal epithelium and adipose tissue. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 3, p. 30383-30397, mar. 2021.

LIPINSKI, L. C. *et al.* Oral insulin improves metabolic parameters in high fat diet fed rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 1699-1705, ago 2017.

LYNCH, S. V.; PEDERSEN, O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 24, p. 2369-2379, 2016.

MAGNE, F. *et al.* The firmicutes/bacteroidetes ratio: A relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? **Nutrients**, v. 12, n. 5, 2020.

MATVEYENKO AV; BUTLER P. C. Relationship between β -cell mass and diabetes onset. **Diabetes Obes Metabolism**, v. 10, n. 4, p. 23-31, nov. 2008.

MILNER, J. J.; BECK, M. A. The impact of obesity on the immune response to infection. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 71, n. 2, p. 298-306, 2012.

MONTANARI, T. *et al.* Factors involved in white-to-brown adipose tissue conversion and in thermogenesis: a review. **Obesity Reviews**, v. 18, n. 5, p. 495-513, 2017.

MOTA, W. P. *et al.* Obesidade e COVID-19: uma revisão da fisiopatologia e exames laboratoriais. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 11, p. e9102, nov. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.25248/reas.e9102.2021>. Acesso em: 25 mar 2023.

NAKAJIMA, S. *et al.* Postprandial glucagon-like peptide-1 secretion is increased during the progression of glucose intolerance and obesity in high-fat/highsucrose diet-fed rats. **The British journal of nutrition**, v. 113, n. 9, p. 1477-1488, mai 2015.

NAUCK, M. *et al.* Once-daily liraglutide versus lixisenatide as Add-on to Metformin in type 2 diabetes: A 26-week randomized controlled clinical trial. **Diabetes Care**, v. 39, n. 9, p. 1501-1509, 2016.

O'NEIL, P. M. *et al.* Efficacy and safety of semaglutide compared with liraglutide and placebo for weight loss in patients with obesity: a randomised, double-blind, placebo and active controlled, dose-ranging, phase 2 trial. **The Lancet**, v. 392, n. 10148, p. 637-649, 2018.

PANNACCIULLI, N. *et al.* Postprandial glucagon-like peptide-1 (GLP-1) response is positively associated with changes in neuronal activity of brain areas implicated in satiety and food intake regulation in humans. **NeuroImage**, v. 35, n. 2, p. 511-517, abr. 2007.

PFLUGER, P. T. *et al.* Effect of human body weight changes on circulating levels of

peptide YY and peptide YY3-36. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 92, n. 2, p. 583-588, fev. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1425>. Acesso em: 25 mar. 2023.

PINTO, W. de J. A função endócrina do tecido adiposo. **Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba**, Sorocaba, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 111-120, 2014. Disponível em: <https://revistas.pucsp.br/index.php/RFCMS/article/view/14868>. Acesso em: 22 mar. 2023.

REID, A. M. A. *et al.* Pancreatic PYY but not PPY expression is responsive to short-term nutritional state and the pancreas constitutes the major site of PYY mRNA expression in chickens. **General and Comparative Endocrinology**, v. 252, p. 226-235, out. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.07.002>. Acesso em: 20 mar. 2023.

RODRIGUES, M. R. DA S. Adaptação digestiva com duodenal switch parcial em pacientes diabéticos e com IMC < 35 Kg / m²: Análise da resposta clínica, laboratorial, enterohormonal e da expressão do gene p53 na mucosa intestinal. [s.l.] **Tese (Doutorado ao Programa de Pós-graduação em Fisiopatologia Clínica e Experimental)** Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2012.

SAELY, C. H.; GEIGER, K.; DREXEL, H. Brown versus white adipose tissue: A mini-review. **Gerontology**, v. 58, n. 1, p. 15-23, 2011.

SAITO, M. *et al.* Brown Adipose Tissue, Diet-Induced Thermogenesis, and Thermogenic Food Ingredients: From Mice to Men. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, abr. 2020.

SINAIKO, A. Obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica. **Jornal de Pediatria**, v. 83, n.1, p. 3-5, jan. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2223/JPED.1585>. Acesso em: 21 mar. 2023.

SOLIMAN, M. M. *et al.* Butyrate regulates leptin expression through different signaling pathways in adipocytes. **Journal of veterinary science**, v. 12, n. 4, p. 319-323, dez. 2011.

SØNDERGAARD, E.; JENSEN, M. D. Quantification of adipose tissue insulin sensitivity. **Journal of Investigative Medicine**, v. 64, n. 5, p. 989-991, 2016.

SUN, E. W. *et al.* Metformin Triggers PYY Secretion in Human Gut Mucosa. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 104, n. 7, p. 2668-2674, 2019.

VERDAM, F. J. *et al.* Small intestinal alterations in severely obese hyperglycemic subjects. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 96, n.2, fev. 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1333>. Acesso em 21 mar. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World health statistics 2021: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals**. Geneva: World Health

Organization, 2021.

XIE, Q. *et al.* Effect of eating habits on obesity in adolescents: a study among Chinese college students. **Journal of International Medical Research**, v. 48, n. 3, out. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0300060519889738>. Acesso em 21 mar. 2023.

YAZICI, D.; SEZER, H. Insulin Resistance, Obesity and Lipotoxicity. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 960, p. 277-304, 2017.

ZIMMERMANN, M. *et al.* Towards a mechanistic understanding of reciprocal drug–microbiome interactions. **Molecular Systems Biology**, v. 17, n. 3, p. 1-15, 2021.

ANEXO A
ARTIGO: EFEITO DO USO DE INSULINA ORAL SOBRE OS PARÂMETROS
METABÓLICOS DE RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA¹

¹ GONÇALVES JÚNIOR, R.; LIPINSKI, L.C. Efeito do uso de insulina oral sobre os parâmetros metabólicos de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. **Revista Ft.** Ciências da Saúde, v. 27, n.126, set./2023. Disponível em: <https://revistaft.com.br/efeito-do-uso-de-insulina-oral-sobre-os-parametros-metabolicos-de-ratos-alimentados-com-dieta-hiperlipidica/> Acesso em: 15 set. 2023.

EFEITO DO USO DE INSULINA ORAL SOBRE OS PARÂMETROS METABÓLICOS DE RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA

[Ciências da Saúde, Volume 27 - Edição 126/SET 2023 / 12/09/2023](#)

REGISTRO DOI: 10.5281/zenodo.10078598

Rivair Gonçalves Junior¹

Leandro Cavalcante Lipinski²

RESUMO

A adiposidade excessiva, em particular o acúmulo de gordura visceral, está fortemente correlacionada com a resistência à insulina, um dos principais pilares para o desenvolvimento do diabetes tipo 2. Além disso, a obesidade está associada a distúrbios metabólicos, como dislipidemia e inflamação crônica, que também desempenham um papel na patogênese do diabetes. O número de mortes decorrentes de complicações do diabetes é um dado alarmante, chegando a 1,5 milhões de pessoas por ano. A mudança dos padrões alimentares nas últimas décadas vem ocasionando uma pandemia de diabetes, portanto, há um estabelecimento do diabetes como uma preocupação global na área da

saúde. A relação entre o trato digestivo e o desenvolvimento de diabetes já foi alvo de estudos científicos e sabe-se que a administração de insulina oral promoveu uma reversão da hiperplasia intestinal diabética em ratos, inibindo a proliferação celular e o crescimento intestinal no diabetes induzido. Apesar de serem destruídos no ambiente ácido do estômago, fragmentos de insulina biologicamente ativos ou moléculas de insulina intactas podem ter modulado a proliferação celular do intestino diabético. O epitélio intestinal possui receptores de insulina já descritos na literatura, no entanto, o efeito da insulina neste sítio de ação ainda é desconhecido. Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo: Avaliar os efeitos da administração oral da insulina em animais alimentados com dieta hiperlipídica; mensurar o epitélio intestinal e avaliar a influência da administração da insulina sobre ele, quantificar parâmetros séricos de glicose e GLP1 e, por fim, avaliar a expressão gênica de GLP-1 por RTPCR. Método: Ratos Wistar machos, peso médio de 263g, idade entre 2 e 3 meses, divididos em 4 grupos: controle (CTRL) com dieta controle, gavado com NaCl; controle gavado com 30 UI de insulina (CTRL+INS); dieta hiperlipídica gavado com NaCl (HLD) e HLD gavado com 30 UI de insulina (HLD+INS). Medidas de peso foram obtidas semanalmente. Após 11 semanas, amostras de sangue foram coletadas para análises laboratoriais. Após 12 semanas, foi realizada a eutanásia dos animais e amostras de sangue, duodeno e íleo foram coletadas para análise histopatológica e RT-PCR.

PALAVRAS-CHAVE: Insulina oral. Diabetes. Intestino delgado. Obesidade.

ABSTRACT

Excessive adiposity, in particular the accumulation of visceral fat, is strongly correlated with insulin resistance, one of the main pillars for the development of type 2 diabetes. Furthermore, obesity is associated with metabolic disorders such as dyslipidemia and chronic inflammation,

which also play a role in the pathogenesis of diabetes. The high deaths from diabetes complications is alarming. In recent decades, changing dietary patterns have led us into a diabetes pandemic, so there is an establishment of diabetes as a global health care. The relationship between the digestive system and the development of diabetes has already been the subject of scientific studies and it is known that oral insulin administration has promoted a reversal of diabetic intestinal hyperplasia in rats, inhibiting cell proliferation and intestinal growth in induced diabetes. Even being destroyed in the acidic environment from the stomach, insulin fragments biologically active or intact insulin molecules may have modulated cell proliferation in the diabetic intestine. The intestinal epithelium has insulin receptors already seen in the literature, however, the effect from insulin on this specific action area is still unknown. The objective from this study is: Evaluate the effects from oral insulin administration in animals fed by hypercaloric diet; measure the intestinal epithelium and evaluate the influence from insulin administration on it; quantify glucose serum parameters and GLP1 and evaluate the GLP-1 gene expression by RT-PCR. Method: Male Wistar rats, average weight of 263g, aged between 2 and 3 months, put into 4 groups: control (CTRL) with control diet, gavage with NaCl; gavage control with 30 IU of insulin (CTRL+INS); hypercaloric diet gavage with NaCl (HLD) and HLD gavage with 30 IU of insulin (HLD+INS). Weight measurements were carried over weekly. After 11 weeks, blood samples were collected for laboratory analysis. After 12 weeks, the animals were euthanized and blood, duodenum and ileum samples were collected for histopathological analysis and RT-PCR.

KEYWORDS: Oral insulin. Diabetes. Small intestine. Obesity.

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é um grave problema de saúde pública que afeta milhões de pessoas em todo o mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). Este distúrbio crônico, caracterizado pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, é associado a uma série de complicações graves, como hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2 e hipertrigliceridemia, culminando na síndrome metabólica, que aumenta significativamente o risco de morbidade e mortalidade (GADDE et al., 2018). A complexidade da obesidade é evidenciada pela interação de fatores genéticos, ambientais e hormonais, dificultando a completa compreensão de sua fisiopatologia (CONSIDINE et al., 1996; MOTA, 2021).

A situação no Brasil reflete a gravidade desse problema, uma vez que os dados da Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica (ABESO) e da pesquisa de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigitel) indicam que a prevalência da obesidade aumentou em 72% nos últimos treze anos, atingindo 20,3% da população em 2019 (ABESO, 2019; VIGITEL, 2019). O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2020) relata que 41 milhões de brasileiros eram obesos em 2019, enquanto 96 milhões estavam com sobrepeso, a maioria sendo mulheres.

Para entender melhor a obesidade e suas implicações, é fundamental explorar os diferentes tipos de tecidos adiposos, como o tecido adiposo branco (TAB), o tecido adiposo marrom (TAM), o tecido adiposo bege (TABe) e o tecido adiposo rosa (TAR) (SAITO et al.,

2020; KUSMINSKI; BICKEL; SCHERER, 2016; FREITAS; CESCHINI; RAMALLO, 2014). Esses tecidos, com suas características morfológicas, metabólicas e funcionais distintas, desempenham papéis cruciais em vários processos fisiológicos e patológicos relacionados à obesidade e a condições de saúde, como o diabetes (MONTANARI; POŠĆIĆ; COLITTI, 2017; SAELY; GEIGER; DREXEL, 2011; SAITO et al., 2020).

A compreensão da conexão entre obesidade e diabetes é amplamente reconhecida pela comunidade científica, com a obesidade fortemente associada à resistência à insulina, disfunção das células beta pancreáticas e inflamação crônica, todos contribuindo para o desenvolvimento do diabetes tipo 2 (SINAIKO, 2007). Esse distúrbio crônico na secreção de insulina pelo pâncreas, juntamente com a resistência à insulina, é agravado pela alta disponibilidade glicêmica resultante da degradação de carboidratos no trato intestinal (MATVEYENKO et al., 2008).

Para melhorar a qualidade de vida dos pacientes obesos e prevenir o desenvolvimento ou agravamento de doenças associadas, como o diabetes, é essencial adotar uma abordagem terapêutica multidisciplinar (BIANCHINI et al., 2012; DIAS et al., 2017). Isso inclui acompanhamento nutricional para controlar a alimentação, apoio psicológico, atividade física regular sob a orientação de um Profissional de Educação Física e tratamento médico personalizado para abordar possíveis condições preexistentes (LEIGH, 2020).

Nesse contexto, a compreensão do papel do intestino, em particular a influência de hormônios intestinais como o peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1) e o peptídeo YY (PYY) na regulação do apetite e do metabolismo, tem ganhado destaque (NAUCK, 2016; DRUCKER, 2018; BATTERHAM et al., 2003; PFLUGER et al., 2007). A pesquisa sobre a modulação da função intestinal, incluindo a administração oral de insulina e o desenvolvimento de novas abordagens farmacológicas, têm o potencial de melhorar significativamente a gestão da obesidade e suas comorbidades.

Desta forma, este artigo aborda a relação complexa entre obesidade e diabetes, explorando os diferentes tipos de tecidos adiposos, e discutindo o papel do intestino na regulação do metabolismo e do apetite. Além disso, serão revisadas as estratégias terapêuticas atuais e em

desenvolvimento para melhorar o manejo dessas condições de saúde crescentemente prevalentes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa realizada, que abordou a relação entre dieta, insulina e parâmetros metabólicos em ratos da raça Wistar, seguiu estritamente as diretrizes éticas estabelecidas, com a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais em Pesquisas da UEPG, através dos processos CEUA – 044/2018 e Protocolo UEPG – 15924/2018.

Os experimentos envolveram um total de 48 ratos machos da raça Wistar, com um peso médio de 263 gramas. Os animais foram divididos em quatro grupos distintos, cada um com 12 ratos, e receberam diferentes dietas e medicações durante um período de 12 semanas. Abaixo está a descrição dos grupos e seus respectivos tratamentos:

QUADRO 1 – Classificação dos grupos de acordo com a dieta fornecida e respectivas medicações.

Grupos	Número de Ratos	Descrição	Alimentação/Medicação
Grupo A	12	Controle (CTRL)	Alimentação Controle Nuvilab® com gavagem oral diária de 0,3 ml de solução fisiológica 0,9%.
Grupo B	12	Controle + Insulina (CTRL+INS)	Alimentação Controle Nuvilab® associada a gavagem oral diária de 30 UI de Insulina oral.

Grupo C	12	High Lipidic Diet (HLD)	Alimentação Hiperlipídica com gavagem oral diária de 0,3 ml de solução fisiológica 0,9%.
Grupo D	12	High Lipidic Diet + Insulina (HLD+INS)	Alimentação Hiperlipídica com gavagem oral diária de 30 UI de Insulina oral.

Fonte: O autor

Os animais receberam as doses de insulina ou solução fisiológica 0,9% diariamente, sempre no mesmo horário, 16 horas.

A dieta de controle (CTRL) consistia em uma ração comum para biotério Nuvilab®, enquanto a dieta hiperlipídica (High Lipidic Diet = HLD) foi preparada adicionando leite condensado e gordura de suíno à mesma ração, resultando em composições nutricionais distintas, como indicado na Tabela 1.

TABELA 1 – Comparação nutricional em porcentagem de carboidrato, proteína e gordura entre dieta controle e dieta hiperlipídica.

Dieta C	ontrole	Dieta Hiperlipídica	
Carboidrato	68%	Carboidrato	39,4%
Proteína	22,7%	Proteína	16%
Gordura	9,3%	Gordura	44,6%

Fonte: O autor

Após a alocação dos animais em 12 gaiolas para biotério, seus pesos foram registrados semanalmente durante o período experimental.

As amostras de glicemia em jejum foram coletadas após 11 semanas de tratamento, por meio da veia caudal, e os valores da glicemia sérica foram medidos utilizando um aparelho digital Accu-Chek Active®.

Na 12ª semana, os animais foram submetidos a 12 horas de jejum antes de serem anestesiados com isoflurano por via inalatória. Em seguida, ocorreu a punção cardíaca para coletar aproximadamente 10 ml de sangue, que foi centrifugado e processado para obtenção do soro. Posteriormente, os animais foram eutanasiados com uma superdosagem do mesmo anestésico.

Amostras de duodeno e íleo, com cerca de 0,5 cm de tamanho, foram coletadas por meio de laparotomia e conservadas em formol 10% para análises histológicas. O processamento histológico foi realizado no laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia experimental da Universidade Estadual de Ponta Grossa, envolvendo a desidratação das amostras em etanol, a inclusão em parafina, o corte dos tecidos em micrótomo e a realização de coloração com hematoxilina e eosina.

As análises histológicas foram realizadas utilizando um microscópio Olympus LGPS2 (ampliação de 10x) e o software T capture versão 5.1.1 (Tucsen, Fuzhou, China) para avaliar o comprimento das vilosidades e a profundidade da cripta.

As concentrações de GLP-1 no soro sanguíneo foram analisadas utilizando o teste de ELISA (Biomatik® USA LLC, Delaware, USA), e a expressão gênica foi avaliada por meio de ensaios de qRT-PCR.

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão (DP) e submetidos a análises estatísticas, incluindo testes ANOVA (unilateral) e T student, com um valor de $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo. As análises foram realizadas utilizando o programa GraphPad Prism versão 9.1.2 para Mac (GraphPad Software, Inc. San Diego, CA, EUA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao longo do estudo com 48 ratos, cinco animais foram perdidos prematuramente sem causa identificada, resultando em 43 ratos que concluíram o experimento, distribuídos entre quatro grupos: 9 no grupo CTRL, 10 no grupo CTRL+INS, 12 no grupo HLD e 12 no grupo HLD+INS.

No que diz respeito ao ganho de peso, após 12 semanas, notou-se uma diferença significativa entre os grupos em relação ao peso inicial. O grupo HLD registrou o maior ganho de peso, sendo estatisticamente significativo ($p < 0,05$), enquanto o grupo HLD+INS mostrou um ganho de peso semelhante aos grupos de controle.

Quanto aos níveis de glicose no sangue, a dieta hiperlipídica resultou em um aumento significativo no grupo HLD em comparação com o grupo de controle. Essa diferença não foi observada no grupo HLD+INS, que apresentou níveis mais baixos de glicose.

No que diz respeito à morfologia intestinal, não foram identificadas diferenças significativas no comprimento das vilosidades duodenais, nem no tamanho das criptas duodenais entre os grupos.

No entanto, observou-se uma redução no comprimento das vilosidades ileais no grupo HLD+INS em comparação com os grupos CTRL e CTRL+INS, bem como uma diferença significativa entre os grupos CTRL+INS e HLD.

Além disso, o grupo CTRL+INS apresentou criptas ileais significativamente maiores em comparação com os grupos CTRL e HLD. Os animais submetidos à dieta hiperlipídica e à insulina oral (grupo HLD+INS) também mostraram um comprimento maior de cripta em relação ao grupo de controle.

No que diz respeito aos níveis de GLP-1 no sangue em jejum, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

Em relação à expressão gênica de GLP-1, houve uma redução significativa nos grupos CTRL+INS, HLD e HLD+INS em comparação com o grupo de controle.

A expressão de PYY por meio de PCR mostrou uma diferença significativa apenas no grupo HLD em relação ao grupo de controle.

Resumindo, os resultados indicam diferenças significativas no ganho de peso, níveis de glicose e morfologia intestinal entre os grupos experimentais, sugerindo um efeito da insulina oral na modulação desses parâmetros. Além disso, a expressão gênica de GLP-1 e PYY foi afetada pela intervenção dietética e de insulina em alguns grupos, indicando um possível impacto na regulação metabólica.

Exposto isto, sabe-se que a relação entre a microbiota intestinal e a obesidade tem sido investigada, com estudos indicando que a disbiose, caracterizada pelo aumento de Firmicutes e redução de Bacteroidetes, está associada ao desenvolvimento da obesidade (BÄCKHED et al., 2004; CHAMBERS et al., 2015; DEN BESTEN et al., 2013; FEI; ZHAO, 2013; GAO et al., 2016, 2009; MORAES et al., 2014; SOLIMAN et al., 2011).

O tratamento com metformina e liraglutida, medicamentos utilizados em pacientes diabéticos, remodelou a microbiota intestinal, sugerindo que a

insulina também pode influenciar o ganho de peso (LIU et al., 2020; MAGNE et al., 2020; MILNER; BECK, 2012; ZIMMERMANN et al., 2021; SUN et al., 2019).

Xie et al. (2020) mostraram que uma dieta hiperlipídica afeta o intestino delgado de roedores, aumentando a absorção de gordura. O uso de medicamentos como Orlistat inibe essa absorção (HECK; YANOVSKI; CALIS, 2000).

Pergunta-se se a insulina pode inibir as enzimas intestinais, reestruturando a barreira epitelial. A baixa vascularização do tecido adiposo em pessoas obesas desencadeia hiperglicemia e hiperinsulinemia (YAZICI; SEZER, 2017).

No experimento, o grupo que recebeu insulina oral apresentou menor ganho de peso, corroborando resultados anteriores (LIPINSKI et al., 2021). A insulina pode atuar localmente no intestino, alterando a diferenciação celular ou a microbiota intestinal.

A insulina oral controlou a hiperglicemia, embora não houvesse diferença estatística em relação ao grupo que não recebeu insulina (LIPINSKI et al., 2017; HALBERG et al., 2019).

A insulina pode promover a regeneração celular no intestino delgado, protegendo contra o desenvolvimento do DM2 (BUTS et al., 1988; VERDAM et al., 2011).

Os níveis de GLP-1 em jejum não foram influenciados pela insulina oral, mas análogos do GLP-1 têm impacto positivo na regulação da glicemia e perda de peso (CAZZO et al., 2018; O'NEIL et al., 2018).

Novos experimentos devem medir as concentrações pós-prandiais de GLP-1 nos roedores administrados com insulina e dieta hiperlipídica.

A insulina oral mostra promessa no tratamento da obesidade e prevenção de doenças crônicas, mas obstáculos precisam ser superados, como a digestão estomacal (LYNCH; PEDERSEN, 2016). Estudos futuros devem investigar o mecanismo de ação da insulina no epitélio intestinal e na microbiota, além do desenvolvimento de partículas protetoras contra o trato gastrointestinal.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo sobre a administração oral de insulina em ratos revelou várias descobertas significativas. Primeiro, observou-se uma redução notável no ganho de peso dos roedores quando submetidos a uma dieta hiperlipídica e tratados com insulina oral. Além disso, a administração oral de insulina resultou em uma redução dos níveis de glicose no sangue, demonstrando sua eficácia como método de tratamento.

Quanto à morfologia intestinal, não foram observadas alterações significativas no epitélio da porção duodenal. Entretanto, foi notada uma diminuição na altura das vilosidades ileais nos animais que receberam a dieta hiperlipídica e insulina oral. Além disso, houve um aumento no tamanho das criptas da porção ileal nesse grupo em comparação com o grupo controle.

A administração de insulina oral não teve um impacto significativo nos níveis de GLP1 no sangue em jejum, mas resultou em uma maior expressão genética de GLP-1 em comparação com os outros grupos em relação ao grupo controle.

Além disso, foi observada uma diferença notável na redução da expressão de ppy em animais submetidos à dieta hiperlipídica em comparação com o grupo controle.

Em resumo, essas descobertas destacam a importância de conduzir estudos adicionais para uma análise mais aprofundada do efeito da administração de insulina oral no epitélio intestinal e suas implicações no tratamento da obesidade e distúrbios metabólicos.

5 REFERÊNCIAS

BÄCKHED, F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 44, p. 15718–15723, nov. 2004.

BATTERHAM, R. L. et al. (2003). Inhibition of Food Intake in Obese Subjects by Peptide YY 3-36. In **N Engl J Med** (Vol. 349). www.nejm.org.

BIANCHINI, J. et al. Tratamento da Obesidade: Revisão de artigos sobre intervenções multiprofissionais no contexto brasileiro. **Arq Ciênc Saúde**, v. 19, n. 2, p. 9–15, 2012.

BUTS, J. P, et al. Intestinal development in the suckling rat: effect of insulin on the maturation of villus and crypt cell functions. **European Journal of Clinical Investigation**, V 18, p.391-398, 1988.

CAZZO, E. et al. (2018). Comparação dos níveis de proteína C reativa, GLP-1 e GLP-2 entre indivíduos diabéticos, obesos mórbidos e controles saudáveis: Um estudo exploratório. **Arquivos de Gastroenterologia**, 55(1), 72–77. <https://doi.org/10.1590/s0004-2803.201800000-14>.

CHAMBERS, E. S. et al. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. **Gut**, v. 64, n. 11, p. 1744–1754, nov. 2015.

CONSIDINE, R. V et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal- weight and obese humans. **The New England journal of medicine**, v. 334, n. 5, p. 292–295, fev. 1996.

DEN BESTEN, G. et al. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. **Journal of lipid research**, v. 54, n. 9, p. 2325–2340, set. 2013.

DIAS, P. C. et al. **Obesidade – Estratégias**. [s.l: s.n.]. v. 33.

DRUCKER, DANIEL J. Mechanisms of Action and Therapeutic Application of Glucagonlike Peptide-1. **Cell Metabolism** **27** (4): 740–56, 2018.

FEI, N.; ZHAO, L. An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germfree mice. **The ISME Journal**, v. 7, n. 4, p. 880–884, 2013

FREITAS, M. C.; CESCHINI, F. L.; RAMALLO, B. T. Resistência à Insulina Associada à Obesidade: Efeitos Anti-Inflamatórios do Exercício Físico. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 22, n. 3, p. 139–147, 2014.

GADDE, K. M. et al. Fisiopatologia e Manejo da Obesidade. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 71, n. 1, p. 1–16, 2018.

GAO, X. et al. Acetate functions as an epigenetic metabolite to promote lipid synthesis under hypoxia. **Nature communications**, v. 7, p. 11960, jun. 2016.

HALBERG, I. B. et al. (2019). Efficacy and safety of oral basal insulin versus subcutaneous insulin glargine in type 2 diabetes: a randomised, double-blind, phase 2 trial. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, 7(3), 179–188. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30372-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30372-3).

HECK, A. M. et al. Orlistat, a new lipase inhibitor for the management of obesity.

Pharmacotherapy, v. 20, n. 3, p. 270–279, mar.

2000. <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101758.pdf>.

IBGE. Pesquisa Nacional de Saúde 2019 – **Atenção primária à saúde e informações antropométricas**. Brasil: [s.n.]. Disponível em:

KUSMINSKI, C. M. et al. Targeting adipose tissue in the treatment of obesity-associated diabetes. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 15, n. 9, p. 639–660, 2016.

LEIGH, P. Obesity in adults: Overview of management. **UpToDate**, p. 1–17, 2020.

LIPINSKI, I. M. et al. Effect of oral insulin and hyperlipidic diet on intestinal epithelium and adipose tissue. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, V.7, n.3, p. 30383-30397, mar. 2021.

LIPINSKI, L. C et al. Oral insulin improves metabolic parameters in high fat diet fed rats. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, V. 89, n. 03 p. 1699-1705, Aug 2017.

LYNCH, S. V.; PEDERSEN, O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 24, p. 2369–2379, 2016.

MAGNE, F. et al. The firmicutes/bacteroidetes ratio: A relevant marker of gut dysbiosis in obese patients? **Nutrients**, v. 12, n. 5, 2020.

MATVEYENKO AV, BUTLER P. Relationship between β -cell mass and diabetes onset. **Diabetes Obes Metabolism**. 2008.

MILNER, J. J.; BECK, M. A. The impact of obesity on the immune response to infection. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 71, n. 2, p. 298–306, 2012.

MONTANARI, T. et al. Factors involved in white-to-brown adipose tissue conversion and in thermogenesis: a review. **Obesity Reviews**, v. 18, n. 5, p. 495–513, 2017.

MOTA, W. P. et al. Obesidade e COVID-19: uma revisão da fisiopatologia e exames laboratoriais. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 11, p. e9102, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.25248/reas.e9102.2021>.

NAUCK, M. et al. Once-daily liraglutide versus lixisenatide as Add-on to Metformin in type 2 diabetes: A 26-week randomized controlled clinical trial. **Diabetes Care**, 39(9), 1501– 1509, 2016.

O'NEIL, P. M. et al. Efficacy and safety of semaglutide compared with liraglutide and placebo for weight loss in patients with obesity: a randomised, double-blind, placebo and active controlled, dose-ranging, phase 2 trial. **The Lancet**, v. 392, n. 10148, p. 637–649, 2018.

PFLUGER, P. T. et al. (2007). Effect of human body weight changes on circulating levels of peptide YY and peptide YY3-36. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 92(2), 583–588.
<https://doi.org/10.1210/jc.2006-1425>.

SAELY, C. H.; GEIGER, K.; DREXEL, H. Brown versus white adipose tissue: A mini- review. **Gerontology**, v. 58, n. 1, p. 15–23, 2011.

SAITO, M. et al. Brown Adipose Tissue, Diet-Induced Thermogenesis, and Thermogenic Food Ingredients: From Mice to Men. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, n. April, 2020.

SINAIKO, A. **Obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica.** **Jornal de Pediatria**, jan. 2007.

SOLIMAN, M. M. et al. Butyrate regulates leptin expression through different signaling pathways in adipocytes. **Journal of veterinary science**, v. 12, n. 4, p. 319–323, dez. 2011.

SUN, E. W. et al. Metformin Triggers PYY Secretion in Human Gut Mucosa. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 104, n. 7, p. 2668–2674, 2019.

VERDAM, F. J. et al. (2011). Small intestinal alterations in severely obese hyperglycemic subjects. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 96(2). <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1333>.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **2021: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals.** Geneva: World Health Organization: [s.n.].

XIE, Q. et al. (2019). Effect of eating habits on obesity in adolescents: a study among Chinese college students. **Journal of International Medical Research**, 48(3). <https://doi.org/10.1177/0300060519889738>.

YAZICI, D.; SEZER, H. Insulin Resistance, Obesity and Lipotoxicity. *Advances in experimental medicine and biology*, v. 960, p. 277–304, 2017.

ZIMMERMANN, M. et al. Towards a mechanistic understanding of reciprocal drug– microbiome interactions. *Molecular Systems Biology*, v. 17, n. 3, p. 1–15, 2021.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Ponta Grossa/PR, Departamento de ciências Biológicas e da Saúde – e-mail: juniorgoncalvesvet@gmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Ponta Grossa/PR, Departamento de ciências Biológicas e da Saúde – e-mail: leandrolipinski@yahoo.com.br

[← Post anterior](#)

[Post seguinte →](#)

RevistaFT

A RevistaFT têm 28 anos. É uma **Revista Científica Eletrônica Multidisciplinar Indexada de Alto Impacto e Qualis “B2”**.

Periodicidade mensal e de acesso livre. Leia gratuitamente todos os artigos e publique o seu também [clikando aqui](#).

Contato

Queremos te ouvir.

WhatsApp RJ:

(21) 98159-7352
ou 98275-4439

WhatsApp SP:

(11) 98597-3405

e-Mail:

contato@revistaf
t.com.br

ISSN: 1678-0817

CNPJ:

Conselho Editorial

Editores

Fundadores:

Dr. Oston de
Lacerda Mendes.

Dr. João Marcelo
Gigliotti.

Editor

Científico:

Dr. Oston de
Lacerda Mendes



48.728.404/0001-
22

**FI= 5.397 (muito
alto)**

Fator de impacto é um método bibliométrico para avaliar a importância de periódicos científicos em suas respectivas áreas. Uma medida que reflete o número médio de citações de artigos científicos publicados em determinado periódico, criado por Eugene Garfield, em que os de maior FI são considerados mais importantes.

Orientadoras:

Dra. Hevellyn
Andrade
Monteiro
Dra. Chimene
Kuhn Nobre

Revisores:

Lista atualizada periodicamente em revistaft.com.br/expresspediente Venha fazer parte de nosso time de revisores também!

Copyright © Revista ft Ltda. 1996 -
2024

Rua José Linhares, 134 - Leblon | Rio
de Janeiro-RJ | Brasil