

## EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM FARINHAS DO BAGAÇO DE UVA NA GLICEMIA E SINALIZAÇÃO DA INSULINA EM CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS EM UM MODELO DE DIABETES *MELLITUS* TIPO 2

RAPHAELA CASSOL PICCOLI<sup>1</sup>; DANIELA VOLCAN ALMEIDA<sup>2</sup>; REJANE GIACOMELLI TAVARES<sup>3</sup>; ROSELIA MARIA SPANEVELLO<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [raphaelacassol@gmail.com](mailto:raphaelacassol@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande – [danivolcan@gmail.com](mailto:danivolcan@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [tavares.rejane@gmail.com](mailto:tavares.rejane@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [rspanevello@gmail.com](mailto:rspanevello@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) é uma condição crônica e progressiva, caracterizada pela resistência à insulina (RI) nos tecidos-alvo e/ou pela deficiência relativa na secreção de insulina pelas células  $\beta$ -pancreáticas, resultando em hiperglicemia persistente (IDF, 2025). Além dos efeitos clássicos no metabolismo periférico, o DM2 tem sido associado a alterações no sistema nervoso central (SNC), comprometendo significativamente a qualidade de vida dos pacientes e contribuindo para o declínio cognitivo e risco de desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (DUTTA *et al.*, 2022).

No contexto da RI cerebral, vias intracelulares específicas estão comprometidas, como a via do fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K)/ proteína quinase B (Akt) (DUTTA *et al.*, 2022; UTPAL *et al.*, 2025). Primeiramente, a insulina se liga ao seu receptor específico de membrana, promovendo a fosforilação de resíduos de tirosina nos substratos do receptor de insulina (IRS), que ativam a cascata PI3K/Akt. A ativação da Akt promove a translocação do transportador de glicose GLUT4 para a membrana plasmática dos neurônios, favorecendo a captação de glicose (UTPAL *et al.*, 2025). Além disso, a Akt inibe a atividade da glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK3 $\beta$ ) (DUTTA *et al.*, 2022), uma quinase envolvida em processos patológicos como a hiperfosforilação da proteína tau e o acúmulo de  $\beta$ -amiloide (A $\beta$ ), ambos marcadores neuropatológicos clássicos da doença de Alzheimer (UTPAL *et al.*, 2025).

Embora ainda não estejam disponíveis terapias farmacológicas padronizadas que previnam ou revertam os distúrbios neurológicos associados ao DM2, compostos naturais ricos em moléculas bioativas têm emergido como alternativas promissoras. Entre esses compostos, as farinhas do bagaço de uva (FBU) ganham destaque, representando não apenas uma solução sustentável para o aproveitamento de subprodutos da indústria vinícola, mas também por apresentar propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anti-hiperglicêmicas (AVERILLA *et al.*, 2019). No presente estudo, foram avaliadas as variedades Arinto e Touriga Nacional, amplamente cultivadas na União Europeia, e reconhecidas por sua concentração de proantocianidinas e as antocianinas, respectivamente (PEREIRA *et al.*, 2024). Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da suplementação com FBU das variedades Arinto (FBUB) e Touriga Nacional (FBUT) sobre a glicemia, RI e expressão gênica de componentes da via de sinalização da insulina no córtex cerebral de ratos Wistar submetidos ao modelo experimental de DM2.

### 2. METODOLOGIA

As FBU foram preparadas a partir da secagem e moagem dos bagaços, de acordo com PALMA *et al.* (2020). O protocolo de indução experimental de DM2

contou com oferta de dieta hiperlipídica (DHL) por 3 semanas seguida de injeção intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) (35mg/kg) em dose única (CARDOSO *et al.*, 2023). Foram utilizados ratos Wistar machos adultos, distribuídos em quatro grupos experimentais: Grupo Controle (CT) (dieta padrão + água), Grupo DM2 (DHL + STZ); Grupo DM2+FBUB ((DHL + 10% FBUB) + STZ) e Grupo DM2+FBUT ((DHL+ 10% FBUT) + STZ). No 28º dia do período experimental os animais foram eutanasiados por aprofundamento anestésico, seguido de punção cardíaca e amostras de soro e córtex cerebral foram coletadas e utilizadas nas análises posteriores. Os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEUA 033578/2022-14). Os níveis séricos de glicose e triacilgliceróis (TG) foram mensurados utilizando kits comerciais. O índice de triacilglicerol-glicose em jejum (índice TyG) foi calculado pela fórmula  $[\text{Triacilglicerol (mg/dL)} \times \text{Glicose (mg/dL)}] / 2$  (ZHAO *et al.*, 2022).

A expressão gênica no córtex cerebral dos grupos experimentais foi analisada por RT-qPCR. Inicialmente, realizou-se a extração do RNA total com o reagente TRIZOL® seguida de tratamento com DNase I. A integridade do RNA foi avaliada e quantificada em espectrofotômetro Nanodrop 1000 (Thermo Scientific). A síntese de cDNA foi conduzida utilizando o kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems), conforme instruções do fabricante. Para a etapa de amplificação e detecção dos transcritos empregou-se o reagente SYBR® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems). Os genes investigados foram IRS, PI3K, AKT e GSK3β, tendo a expressão relativa normalizada em relação aos genes de referência 18S e GAPDH. Os valores de Ct (limiar do ciclo) foram comparados ao grupo CT por meio do método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

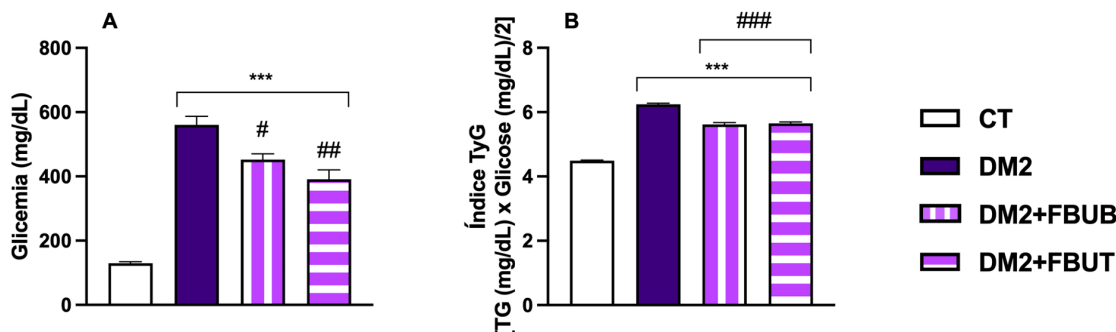
Os dados foram analisados por ANOVA de uma via, seguida pelo teste *post hoc* de Tukey no software estatístico GraphPad Prism 10. As diferenças entre os grupos foram consideradas significativas quando  $P < 0,05$ . Os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

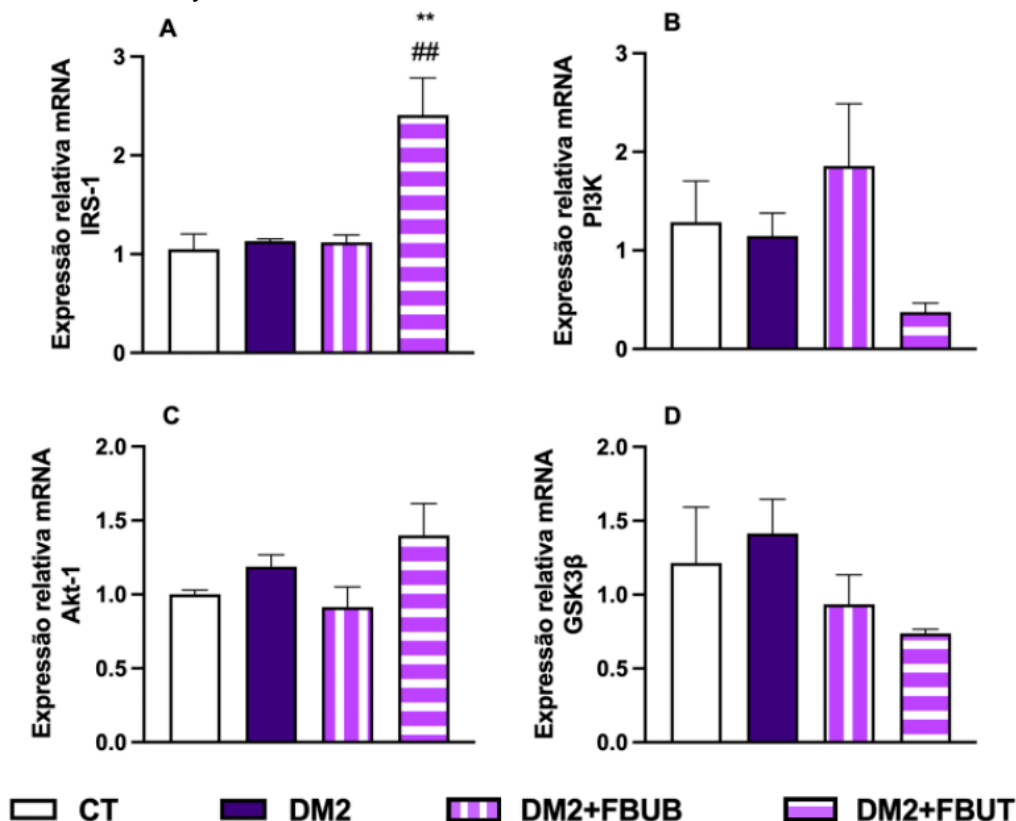
A administração de DHL + STZ promoveu um aumento significativo da glicemia e do índice TyG em todos os grupos diabéticos ( $P < 0,001$ , Fig. 1A-B). No entanto, os tratamentos com FBUB e FBUT foram capazes de atenuar esses efeitos, evidenciando proteção contra a hiperglicemia ( $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$ , respectivamente, Fig. 1A), e RI ( $P < 0,01$ , ambos, Fig. 1B). Em relação à análise de expressão gênica em córtex cerebral de integrantes da via de sinalização de insulina, observou-se que a suplementação com FBUT promoveu o aumento significativo na expressão do gene IRS, quando comparado aos grupos CT e DM2 ( $P < 0,01$ , ambos, Fig. 2A). Por outro lado, não foram observadas alterações estatisticamente significativas na expressão dos genes PI3K, Akt e GSK3β entre os grupos avaliados ( $P > 0,05$ ).

A caracterização fitoquímica revelou a presença de proantocianidinas, incluindo (+)-catequina, (-)-epicatequina e derivados do ácido gálico em FBUB, e altos teores de antocianinas, como delfinidina-3-O-glicosídeo e malvidina-3-O-glicosídeo em FBUT (PEREIRA *et al.*, 2024). De acordo com a literatura, esses compostos têm sido associados a efeitos antidiabéticos em diversos modelos experimentais, atuando por múltiplos mecanismos (HERNÁNDEZ-SALINAS *et al.*, 2015; LANZI *et al.*, 2016). Evidências demonstram que glicosídeos presentes no bagaço de uva podem inibir a  $\alpha$ -glucosidase, enquanto catequinas e antocianinas têm potencial para inibir a  $\alpha$ -amilase, sugerindo um controle direto sobre a digestão de carboidratos e a absorção de

glicose (CAMPOS *et al.*, 2021; PEREIRA *et al.*, 2024). Além disso, o cálculo do índice TyG, um marcador simples e robusto para RI (TAO *et al.*, 2021), reforça a hipótese de que os compostos fenólicos presentes nas GPF contribuem para a melhora da sensibilidade insulínica e do metabolismo energético sistêmico.



**Figura 1:** Avaliação da glicemia sérica (A) e do (TyG) (B) de ratos Wistar submetidos a um protocolo de indução experimental de DM2 tratados com FBUB ou FBUT. Os dados estão representados como média  $\pm$  E.P. (n=5-6). \*\*\* $p < 0,001$  e \*\* $p < 0,01$  quando comparado ao grupo CT. ##  $p < 0,01$  e #  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo DM2. ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Tukey.



**Figura 2:** Avaliação da expressão gênica de integrantes da via de sinalização da insulina em córtex cerebral de ratos Wistar submetidos a um protocolo de indução experimental de DM2 tratados com FBUB ou FBUT. IRS-1 (A), PI3K (B), Akt (C), GSK3β (D). Os dados estão representados como média  $\pm$  E.P. (n=5-6). \*\*\* $p < 0,001$  e \*\* $p < 0,01$  quando comparado ao grupo CT. ##  $p < 0,01$  e #  $p < 0,05$  quando comparado ao grupo DM2. ANOVA de uma via seguida pelo teste *post hoc* de Tukey.

Em córtex cerebral, o aumento seletivo da expressão gênica de IRS-1 pelo FBUT, sem alterações em PI3K, Akt ou GSK3β, sugere uma modulação inicial da sensibilidade à insulina, possivelmente dependente de mecanismos pós-transcricionais não detectados por RT-qPCR. Corroborando com o presente estudo, LANZI *et al.* (2016) observaram que o bagaço de uva modulou a sinalização insulínica à nível periférico diretamente através do aumento na

expressão de IRS-1 e Akt, e indiretamente pela modulação de vias como o estresse oxidativo. Ademais, LEE *et al.* (2016) observaram que a antocianina cianidina-3-O-glicosídeo isolada promoveu a fosforilação do receptor de insulina e à indução da expressão de IRS-1 e PI3K em células pancreáticas. No presente estudo, no entanto, a ausência de alterações significativas pode ser explicada, pelo menos em parte, pelo tempo e/ou dosagem insuficientes de intervenção para modular essa cascata à nível de expressão gênica ou inespecificidade dos compostos das FBU para o tecido.

#### 4. CONCLUSÕES

Os achados do presente trabalho sugerem que as FBU das variedades Arinto e Touriga Nacional apresentam potencial antidiabético e neuroprotetor ao modular mecanismos associados à sinalização da insulina e ao metabolismo energético. Apesar do caráter promissor desses efeitos, novos estudos são necessários para elucidar seus alvos moleculares e confirmar sua relevância translacional.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVERILLA, J. N. *et al.* Potential health benefits of phenolic compounds in grape processing by-products. **Food Sci Biotechnol.** v.28, n.6, p.1607-1615, 2019.
- International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 11th edn. 2025.** Disponível em: <https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/>
- DUTTA, B.J. *et al.* Inside the diabetic brain: Insulin resistance and molecular mechanism associated with cognitive impairment and its possible therapeutic strategies, **Pharmacol Res.** v.182, n.106358, 2022.
- Campos, F. *et al.* The Antidiabetic Effect of Grape Pomace Polysaccharide-Polyphenol Complexes. **Nutrients.** v.13, n.4495, 2021.
- CARDOSO, J.S. *et al.* *Psidium cattleianum* fruit extract prevents systemic alterations in an animal model of type 2 diabetes mellitus: comparison with metformin effects. **Biomarkers.** v.28, n.2, p.238-248, 2023.
- GUPTA, M. *et al.* Molecular mechanisms underlying hyperglycemia associated cognitive decline. **IBRO Neurosci Rep.** v.14, p.57–63, 2023.
- HERNÁNDEZ-SALINAS, R. *et al.* Antioxidant and anti-hyperglycemic role of wine grape powder in rats fed with a high fructose diet. **Biol Res.** v.1, n.53, 2015.
- LANZI, C.R. *et al.* Grape pomace and grape pomace extract improve insulin signaling in high-fat-fructose fed rat-induced metabolic syndrome. **Food funct.** v.7, n.3, p.1544-1553, 2016.
- LEE, D. *et al.* Cyanidin 3-o-glucoside isolated from *Lonicera caerulea* fruit improves glucose response in INS-1 cells by improving insulin secretion and signaling. **Bull Korean Chem Soc.** v.37, n.12, p.2015–2018, 2016.
- PALMA, M.L. *et al.* Preliminary sensory evaluation of salty crackers with grape pomace flour. **Biomed Biopharm Res.** v.17, n.1, p. 33-43, 2020.
- PEREIRA, P. *et al.* Exploring the Benefits of Nutritional and Chemical Characteristics of Touriga Nacional and Arinto Varieties (*Vitis vinifera* L.). **Foods.** v.13, n.10, 2024.
- TAO, L. *et al.* Triglyceride-glucose index as a marker in cardiovascular diseases: landscape and limitations. **Cardiovasc Diabetol.** v.21, n.1, 2022.
- UTPAL, B.K. *et al.* Resveratrol: A Natural Compound Targeting the PI3K/Akt/mTOR Pathway in Neurological Diseases. **Mol Neurobiol.** v.62, p.5579–5608, 2025.
- ZHAO, J. *et al.* TyG index is positively associated with risk of CHD and coronary atherosclerosis severity among NAFLD patients. **Cardiovasc Diabetol.** v.21, n.123, 2022.