

Hepatotoxicidade da dose dependente da liraglutida em fêmeas de ratos wistar gestantes

Dose-dependent hepatotoxicity of liraglutide in pregnant wistar rats

Hepatotoxicidad dependiente de la dosis de liraglutida en ratas wistar gestantes

Recebido: 14/04/2025 | Revisado: 21/04/2025 | Aceitado: 22/04/2025 | Publicado: 25/04/2025

Gabriel Reis Caixeta

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-9584-9884>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: gabrielreis2020@gmail.com

Hugo Vinhal Ribeiro De Sena

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8961-8840>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: hugovinh18@gmail.com

Luciana De Almeida França

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3793-0274>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: franca@unipam.edu.br

Guilherme Nascimento Cunha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4703-7332>
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil
E-mail: gncunha@unipam.edu.br

Resumo

Este objetivou avaliar possíveis efeitos hepatotóxicos da liraglutida, análogo do GLP-1 utilizado no tratamento da obesidade e diabetes tipo 2. Foram utilizadas 20 ratas (*Rattus norvegicus*) linhagem Wistar, divididas em quatro grupos (controle, 0,007 mg/mL, 0,07 mg/mL e 0,7 mg/mL), tratadas por 21 dias (gestação). O estudo foi submetido e aprovado pelo CEUA/UNIPAM número de protocolo 94/23. Após anestesia inalatória com isoflurano, realizou-se a laparotomia seguida de coleta de sangue para exames bioquímicos, eutanásia e remoção dos fígados para pesagem e para análise histopatológica. Não houve alterações estatísticas significativas ($p > 0,05$) nos níveis das enzimas hepáticas ALT e AST, apesar da alta variação do desvio padrão observado em alguns grupos (0,07mg/mL e 0,7mg/mL) conforme o teste estatístico ANOVA/Tukey. Observou-se redução significativa ($p < 0,05$) no peso corporal do grupo 0,7 mg/mL e no peso hepático do grupo 0,07 mg/mL em comparação ao controle de acordo com o teste estatístico ANOVA/Tukey. Foi adotado sistema escores para avaliação de dano celular e de campo comprometido: (-) ausente, (+) pouca, (++) moderada e (+++) grave. Os achados histopatológicos incluíram infiltrado inflamatório linfocitário, necrose de hepatócitos e colestase intracanalicular ambos os achados discretos e focais. A avaliação histológica não revelou diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre os grupos conforme o teste estatístico de Kruskal-Wallis, seguido pelo método de Dunn. Conclui-se que a liraglutida, mesmo em doses elevadas, não demonstrou hepatotoxicidade significativa em ratas gestantes. No entanto, recomenda-se a realização de estudos com amostras maiores e investigações moleculares para confirmar a segurança do uso da liraglutida durante a gestação.

Palavras-chave: Liraglutida; Gestação na Obesidade; Peptídeo 1 Semelhante ao Glucagon; *Diabetes Mellitus* Tipo 2.

Abstract

The aim of this study was to evaluate the possible hepatotoxic effects of liraglutide, a GLP-1 analog used in the treatment of obesity and type 2 diabetes. Twenty Wistar rats (*Rattus norvegicus*) were used, divided into four groups (control, 0.007 mg/mL, 0.07 mg/mL and 0.7 mg/mL) and treated for 21 days (gestation). The study was submitted to and approved by CEUA/UNIPAM under protocol number 94/23. After inhalation anesthesia with isoflurane, laparotomy was performed followed by blood collection for biochemical tests, euthanasia and removal of the livers for weighing and histopathological analysis. There were no statistically significant changes ($p > 0.05$) in the levels of the liver enzymes ALT and AST, despite the high variation in the standard deviation observed in some groups (0.07mg/mL and 0.7mg/mL) according to the ANOVA/Tukey statistical test. There was a significant reduction ($p < 0.05$) in body weight in the 0.7 mg/mL group and in liver weight in the 0.07 mg/mL group compared to the control according to the ANOVA/Tukey statistical test. A score system was used to assess cell damage and field involvement: (-) absent, (+) slight, (++) moderate and (+++) severe. Histopathological findings included lymphocytic inflammatory infiltrate, hepatocyte necrosis and intracanalicular cholestasis, both discrete and focal. The histological evaluation revealed no statistically significant differences ($p > 0.05$) between the groups according to the Kruskal-Wallis statistical

test, followed by Dunn's method. It is concluded that liraglutide, even at high doses, did not demonstrate significant hepatotoxicity in pregnant rats. However, further studies with larger sample sizes and molecular investigations are recommended to confirm the safety of liraglutide use during pregnancy.

Keywords: Liraglutide; Pregnancy in Obesity; Glucagon-Like Peptide 1; *Diabetes Mellitus* Type 2.

Resumen

El objetivo de este estudio era evaluar los posibles efectos hepatotóxicos de la liraglutida, un análogo del GLP-1 utilizado para tratar la obesidad y la diabetes de tipo 2. Se utilizaron 20 ratas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Wistar, divididas en cuatro grupos (control, 0,007 mg/mL, 0,07 mg/mL y 0,7 mg/mL), tratadas durante 21 días (gestación). El estudio fue sometido y aprobado por el CEUA/UNIPAM bajo el número de protocolo 94/23. Tras anestesia inhalatoria con isoflurano, se realizó una laparotomía seguida de la recolección de sangre para análisis bioquímicos, eutanasia y extracción de los hígados para pesaje y análisis histopatológico. No se observaron alteraciones estadísticas significativas ($p > 0,05$) en los niveles de las enzimas hepáticas ALT y AST, a pesar de la alta variación del desvío estándar observada en algunos grupos (0,07 mg/mL y 0,7 mg/mL), según el análisis estadístico ANOVA/Tukey. Se observó una reducción significativa ($p < 0,05$) en el peso corporal del grupo 0,7 mg/mL y en el peso hepático del grupo 0,07 mg/mL en comparación con el grupo control, de acuerdo con el test estadístico ANOVA/Tukey. Se adoptó un sistema de puntuación para la evaluación del daño celular y del campo comprometido: (-) ausente, (+) leve, (++) moderado y (+++) grave. Los hallazgos histopatológicos incluyeron infiltrado inflamatorio linfocitario, necrosis de hepatocitos y colestasis intracanalicular, siendo todos ellos discretos y focales. La evaluación histológica no reveló diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos, conforme al análisis estadístico de Kruskal-Wallis, seguido del método de Dunn. Se concluye que la liraglutida, incluso a dosis elevadas, no demostró hepatotoxicidad significativa en ratas gestantes. Sin embargo, se recomienda la realización de estudios con muestras mayores y análisis moleculares para confirmar la seguridad del uso de liraglutida durante la gestación.

Palabras clave: Liraglutida; Obesidad Materna; Péptido 1 Similar al Glucagón; *Diabetes Mellitus* Tipo 2.

1. Introdução

Sabe-se que o GLP-1 é produzido endogenamente em vários órgãos metabólicos, incluindo células alfa pancreáticas, células enteroendócrinas tipo L localizadas no intestino delgado, íleo e jejuno e neurônios do núcleo do trato solitário (NTS), que se projetam principalmente para o hipotálamo. No entanto, a degradação rápida do hormônio é feita pela enzima nativa dipeptidilpeptidase 4 (DPP-4) que limita sua potência terapêutica. (Imbernon et al., 2022). O hormônio reduz a secreção de glucagon pelas células alfa pancreáticas, inibindo a gliconeogênese hepática, ao mesmo tempo em que estimula a liberação de insulina pelas células beta, favorecendo a captação de glicose pelos tecidos. Além disso, o GLP-1 retarda o esvaziamento gástrico, prolongando a digestão e promovendo maior saciedade, o que contribui para a redução do apetite e o melhor controle metabólico (Costa et al., 2021).

A liraglutida, semelhante a esse hormônio humano, tem 97% de homologia em sua sequência de aminoácidos, com meia-vida prolongada (13 horas) devido à resistência à degradação pela enzima, permitindo uma dosagem diária. (Alruwaili, Dehestani & Roux, 2021)

Esta vantagem tem corroborado com o amplo uso atual da Liraglutida para tratar a obesidade. Dessa forma é um método terapêutico contemporâneo que apresenta vantagens significativas tanto no gerenciamento dos níveis de açúcar no sangue quanto na perda de peso. Trata-se de um medicamento que pode ser empregado de forma independente ou associado a outros fármacos, complementado por dietas e exercícios, visando o controle da glicose sanguínea e do peso. (Kanwal & Alemadi, 2021)

Estudos iniciais demonstraram que a liraglutida estimulava a secreção de insulina, direcionando seu desenvolvido para o tratamento do diabetes mellitus tipo 2 (Saxenda, 2023). Estudo anterior realizado por Yamazaki et al. (2014), a liraglutida demonstrou aumentar a sensibilidade hepática à insulina, mas não nos músculos esqueléticos em condições normais de tolerância à glicose. No entanto, em um estado de resistência à insulina, a liraglutida demonstrou melhorar a resistência à insulina hepática e muscular e, em seguida, melhorar o fígado gorduroso. (Lee, 2019)

De acordo com os autores Peradze et al. (2019) e Malik et al. (2023) foi constatado que o uso de liraglutida, em doses

elevadas durante um curto período de tratamento, promoveu melhorias no perfil lipídico, bem como alterações no estado lipídico-lipoprotéico e hormonal em pacientes obesos sem diabetes mellitus tipo 2. Isso sugere que a administração de uma alta dose de liraglutida em curto prazo pode não apenas melhorar o lipidograma, mas também influenciar os mediadores hormonais do metabolismo de lipídios e consequentemente haver relativa melhora na esteato-hepatite não alcoólica. Contudo, ainda existe uma falta de informações substanciais quanto ao seu possível efeito hepatotóxico (Inayat, 2022).

Entende-se que as lesões hepáticas causadas por medicamentos representam um dos efeitos adversos mais sérios dessas substâncias, podendo levar à insuficiência hepática aguda. A incidência dessas lesões tem crescido de forma constante, devido à ampla variedade de medicamentos disponíveis no mercado e ao abuso dos mesmos. O dano hepático provocado por medicamentos mostra-se estreitamente ligado ao estresse oxidativo, que se origina do acúmulo excessivo de radicais livres gerados pelas vias xenobióticas hepáticas. (Milani et al., 2019).

Neste contexto, entende-se que apesar dos benefícios conhecidos da liraglutida, é essencial compreender os efeitos que essa terapia pode ter em órgãos vitais, como o fígado, especialmente durante a gravidez. Este objetivou avaliar possíveis efeitos hepatotóxicos da liraglutida, análogo do GLP-1 utilizado no tratamento da obesidade e diabetes tipo 2.

2. Metodologia

Realizou-se uma pesquisa laboratorial, de natureza qualitativa com imagens histopatológicas e quantitativa com valores mensurados (Pereira et al., 2018) com emprego de estatística descritiva com valores de média e desvios padrão (Shitsuka et al., 2014) e com análise estatística (Vieira, 2021).

2.1 Local

O presente projeto foi submetido e aprovado pelo CEUA sob o número de protocolo 94/23. A realização do projeto aconteceu no Biotério do Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM.

Parte do estudo passado foi realizado utilizando ratas provenientes do Biotério da Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Uberlândia, MG, alojadas no Biotério do UNIPAM. Este possuía sistema de dois corredores (limpo e sujo) entre as salas de experimentação com fluxo de pessoas e insumos definidos, e eram protegidas com barreiras sanitárias (autoclave de barreira, sistema de filtração de ar, diferencial de pressão, air-lock etc.). A temperatura ambiente era controlada a 22°C. Possuía um sistema de insuflação, exaustão e filtração do ar das salas, com pressão positiva impedindo a dispersão da amônia no ambiente, realizando 15 a 20 trocas de ar/h e o ciclo de luz era definido como 12 horas de claro e 12 horas de escuro. Os animais foram acondicionados em isoladores de polissulfona, contendo cinco ratas em cada, acoplados a uma rack ventilada (Alesco, 2022). A alimentação e água foram fornecidas ad libitum. A cama era de maravalha de pinus. Todo o sistema era ligado a um gerador, que garantia a manutenção em caso de falta de energia elétrica. Os animais foram mantidos nos isoladores por um período mínimo de adaptação, correspondente a sete dias.

2.2 Animais

Foi-se utilizadas 20 ratas prenhas adultas (*Rattus norvegicus*), da linhagem Wistar entre 250g a 300g, com 21 dias de idade gestacional tratadas com liraglutida em diferentes doses.

2.3 Delineamento experimental

As fêmeas prenhas foram distribuídas em quatro grupos experimentais compostos por cinco animais cada. Os animais de todos os grupos foram pesados todos os dias para avaliação do peso gestacional e administração do fármaco.

Grupo Controle negativo (G0): após o acasalamento os animais foram tratados com solução salina 0,9% por via subcutânea do primeiro ao 21º dia gestacional. Ao término do prazo, esses animais foram submetidos à eutanásia por meio de exsanguinação sob anestesia inalatória, conforme sugerido pelo autor Favoretto et al. (2019).

Quanto aos animais dos grupos teste, após o acasalamento, as fêmeas dos três grupos foram tratadas com diferentes doses de Liraglutida, do 1º ao 21º dia gestacional, por via subcutânea. O esquema de tratamento foi realizado da seguinte forma: Grupo 1 (G1): Foi administrada a dose fixa de 0,007 mg/dia do primeiro ao 21º dia; Grupo 2 (G2): Nesse grupo, a dose foi multiplicada pelo fator 10x, resultando em uma dose de 0,07 mg/dia e Grupo 3 (G3): Nesse grupo, a dose foi multiplicada pelo fator 100x, resultando em uma dose de 0,7 mg/dia

2.4 Coleta de material e eutanásia

Os animais foram colocados em uma câmara de indução anestésica previamente preenchida com isoflurano à 5%. Após a indução, os animais serão posicionados em decúbito dorsal em uma placa de acrílico com os quatro membros fixados com fita adesiva crepe e mantidos anestesiados com uso de máscara própria para anestesia na concentração anestésica de 3%. Em seguida, foi-se realizada a laparotomia e a cateterização da veia cava caudal para coleta de sangue seguida da eutanásia por secção da veia cava caudal e da artéria aorta abdominal. Findado o procedimento, realizou-se a retirada do fígado. Este foi devidamente identificado, pesado e armazenado em solução de formol tamponado à 10%.

2.5 Análise histopatológica

Os órgãos coletados e pesados e em seguida foram encaminhados ao Laboratório de Histopatologia do Centro Clínico Veterinário do UNIPAM. As amostras de fígado foram fixadas em parafina, e realizados cortes de 5 µm de espessura e coradas com H.E., tricrômico Masson e retículo. Foi-se avaliada e quantificadas as alterações decorrentes de dano hepático sobre as seguintes características histológicas: congestão vascular (sinusoidal, centrolobular e espaço portal), necrose, esteatose hepática e fibrose. A intensidade das características histopatológicas foi expressa em cruces (0 a 3+) por campo, obtida através da média de três campos microscópicos aleatórios, sendo avaliados em aumento de 400 vezes, considerando-se a seguinte graduação:

- 0-: ausência de alterações
- 1+: alterações de intensidade leve (menos de 25% do campo analisado);
- 2+: alterações de intensidade moderada (25 a 50% do campo analisado);
- 3+: alterações de intensidade severa (mais de 50% do campo analisado).

2.6 Análise bioquímica

Foi coletado 2 mL de sangue pela artéria aorta abdominal ou veia cava caudal de cada rata participante do estudo previamente a exsanguinação, e em seguida foi-se armazenado em tubos para a avaliação sorológica. Os tubos destinados ao Laboratório de Análises Clínicas do UNIPAM onde foram realizados exames de aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase para traçar um perfil hepático a fim de serem correlacionados com os achados histológicos.

A determinação da dosagem sérica de ALT e AST utilizou-se o kit da Elitch group, por método IFCC sem fosfato de piridoxal (P-5'-P) – cinético. Os reagentes utilizados foram 1: R1 Tampão Tris, pH 7,50 (30°C) L-Alanina 680 mmol/L LDH ≥ 2000 U/L Azida de sódio < 0,1 % (p/p)/ Reagente 2: R2 -Ketoglutarato 97 mmol/L NADH 1,1 mmol/L Azida de sódio < 0,1 % (p/p) (Bioclin, 2018; Bioclin, 2019). A leitura foi realizada utilizando-se o analisador químico de bancada Envoy 500+ (Vital Scientific, Estados Unidos da América) e a mistura da solução de reação com os soros sanguíneos será incubada a 37°C e analisada a 340 nm. A absorbância será comparada com um padrão conhecido para determinar a atividade da ALT e AST no

soro sanguíneo em U/I. Os valores de referência para ALT e AST foram descritos por Almeida Junior et al. (2020).

2.7 Análise estatística

Os valores obtidos na pesagem do animal e do fígado, tanto na análise bioquímica do fígado foi pelo teste ANOVA/Tukey. Já os escores histopatológicos foram expressos através de mediana e analisados estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo método de Dunn. O nível de significância foi de $p < 0,05$.

3 Resultados e Discussão

A avaliação dos marcadores bioquímicos ALT e AST não indicou alterações em relação aos valores de referência. Ao comparar individualmente os resultados de ALT e AST entre os grupos Teste e Controle não foram observadas alterações significativas ($p > 0,05$), independentemente das doses de liraglutida administradas (Tabela 1). De acordo com Alvim et al. (2022), a ausência de elevação das transaminases, enzimas que, quando aumentadas, normalmente indicam lesão ou necrose de hepatócitos.

No entanto, é importante salientar que alguns indivíduos apresentaram maiores alterações nos valores destes marcadores, fato este observado pela grande variação do desvio padrão. Estas variações biológicas sugerem, mesmo que em individuais, a presença de alterações hepáticas.

Tabela 1 - Valores de ALT e AST obtidos após aplicação de diferentes doses de liraglutida em ratas Wistar durante o período gestacional, Patos de Minas, MG, 2025.

Testes bioquímicos	Grupo Controle	Dose 0,007 mg/mL	Dose 0,07 mg/mL	Dose 0,7 mg/mL	Valor de Referência*
AST	63,66 ± 15 ^a	61,50 ± 11,86 ^a	86,40 ± 25,5 ^a	83,10 ± 32,35 ^a	115 ± 36,00
ALT	66,00 ± 16 ^a	80,50 ± 23 ^a	84,80 ± 17,10 ^a	68,44 ± 12 ^a	50,00 ± 19,00

Legenda: mg/dL. Teste estatístico: ANOVA/Tukey, $p < 0,05$. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas. Fonte: Dados da pesquisa (2025) com valor de referência conforme Almeida Jr et al. (2020).

Abdelsameea et al. (2016) realizaram um estudo em que trataram com liraglutida oito ratos durante 14 dias, na dose de 50 µg/kg (dose média por animal de 220g foi de 0,011 mg/animal). Observaram que os níveis de AST e ALT foram de 35±2,35 e 22±1,55 U/L, respectivamente. Ao comparar os resultados supracitados com os do presente estudo, notou-se que os marcadores apresentaram valores maiores, indiferente do grupo analisados. Este achado pode ser explicado tanto pelos valores das transaminases da colônia presente no biotério como também técnicas divergentes. Assim, do ponto de vista bioquímico, não houve indícios de que a escalonagem crescente de doses do fármaco tenha causado danos celulares significativos em tecido hepático.

No que diz respeito ao peso do fígado, houve redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$) no grupo tratado com 0,07 mg/mL de liraglutida (Tabela 2) quando comparado ao Grupo Controle e aos demais Grupos Testes. Notou-se também que esse efeito não se mostrou progressivo com o aumento das doses.

Tabela 2 – Peso do fígado (g) dos animais, obtidas após diferentes doses de liraglutida em ratas Wistar durante o período gestacional (21 dias), Patos de Minas, MG, 2025.

Órgão avaliado	Grupo Controle	Dose 0,007 mg/mL	Dose 0,07 mg/mL	Dose 0,7 mg/mL
Peso do Fígado (g)	10,72 ± 1,33 ^a	10,12 ± 1,26 ^{a, b}	9,10 ± 1,06 ^b	9,39 ± 0,55 ^{a, b}

Legenda: g – gramas. Teste estatístico: ANOVA/Tukey, $p < 0,05$. Letras diferentes indicam diferenças estatisticamente significativas. Fonte: Dados da pesquisa (2025).

Observou-se que os todos os fígados dos grupos testes apresentaram diminuição do seu peso com o Grupo Controle, mesmo que não havendo diferença estatística. Este achado sugere que a perda de peso do fígado seja efeito esperado, uma vez que o principal efeito do fármaco é de reduzir o volume de ingesta, com redução de nutrientes. Fato este descrito por Lee (2019) e Song et al., (2022), que relatam que estudos prévios apontam que análogos do GLP-1 podem amenizar o acúmulo de triglicérides no fígado e diminuir o estresse oxidativo associado à esteatose hepática, o que poderia refletir em menor volume ou peso hepático. Uma possível explicação para essa redução está relacionada ao efeito benéfico da liraglutida, em que a redução da ingesta, no metabolismo lipídico e na redução da gordura hepática (Fontana, et al., 2019).

Embora não tenha sido observada diferença estatística nos marcadores de lesão (ALT e AST), o achado de menor peso do fígado sobretudo no Grupo Teste de dose intermediária (0,07 mg/mL), aliado a perda de peso progressiva dos mesmos animais durante a gestação, reflete efeitos sobre o metabolismo de lipídios, e não um quadro de hepatotoxicidade moderado ou grave.

Em relação à avaliação do ganho de peso corporal, observou-se que o peso inicial dos Grupos Testes e Grupo Controle não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre si. Entretanto, ao comparar o Grupo Controle com o Grupo Teste 0,7 mg/mL notou-se diferença significativa ($p < 0,05$). Ao comparar apenas os Grupos Testes, observou-se que não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre si (Tabela 3), porém notou-se diferença biológica entre os Grupos Testes de 0,007 mg/mL e 0,07 mg/mL com o Grupo Teste de 0,7 mg/mL, sendo os dois primeiros grupos apresentando menor peso.

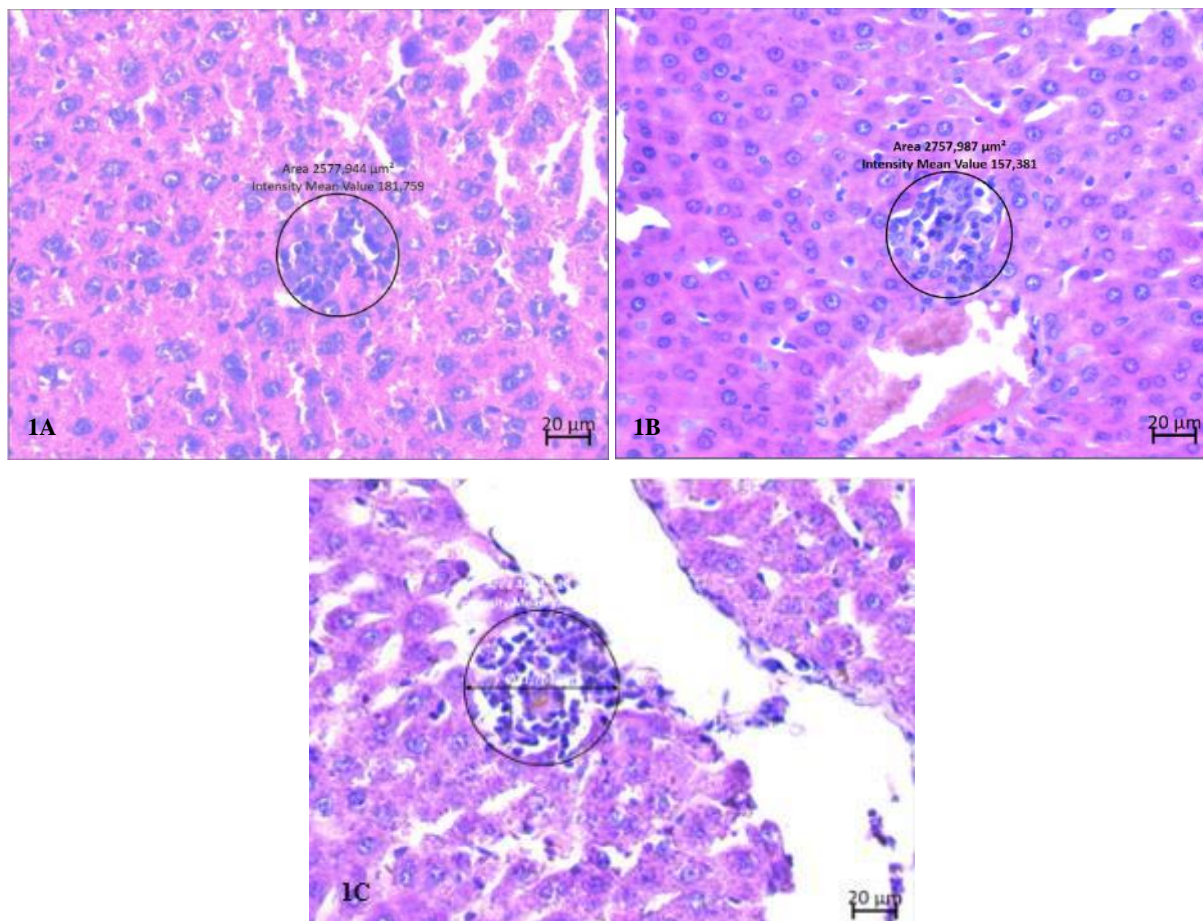
Tabela 3 - Peso inicial e final das ratas Wistar tratados com diferentes doses de liraglutida durante o período gestacional (21 dias), Patos de Minas, MG, 2025.

Variáveis avaliadas	Grupo Controle	Dose 0,007 mg/mL	Dose 0,07 mg/mL	Dose 0,7 mg/mL
Peso inicial (g)	222,82 ± 13,57 ^a	233,59 ± 13,55 ^a	222,22 ± 17,08 ^a	236,21 ± 13,26 ^a
Peso final (g)	332,04 ± 32,43 ^a	338,31 ± 29,89 ^{a,b}	299,45 ± 28,11 ^{a,b}	296,21 ± 27,13 ^b

Legenda: g – gramas. Teste estatístico: ANOVA/Tukey, $p < 0,05$. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativas.
Fonte: Dados da pesquisa, 2025.

Por fim, referente aos achados histopatológicos observados no presente estudo, notou-se a presença de infiltrado inflamatório linfocitário, variando os locais de intralobular (Figura 1A) a periportal (Figura 1B), ambos sendo discretos e focais e colestase intracanalicular (Figura 1C), representada pelo acúmulo de bile nos canalículos hepáticos devido à interrupção ou diminuição do fluxo biliar.

Figura 1 –Corte histológico do fígado de ratas Wistar tratadas com liraglutida durante a gestação (21 dias) corada em Hematoxilina e Eosina, sob microscópio de luz, aumento de 400x. **A)** área central circulada em preto evidencia área intralobular com infiltrado inflamatório linfocitário discreto e focal, **B)** Área central circulada em preto evidencia infiltrado inflamatório linfocitário periportal discreto e focal, **C)** Área central circulada em preto evidencia infiltrado inflamatório linfocitário periportal com presença de colestase no canalículo biliar, ambos discreto e focal.



Fonte: Acervo pessoal.

Os infiltrados inflamatórios linfocitários discreto e focal distribuído nas regiões intralobular e periportal sugerem uma resposta imunológica inicial e localizada do fígado frente a uma agressão hepática leve, compatível com processos inflamatórios iniciais, entretanto não significativo (Alves& Mello, 2021).

A lesão hepática induzida por fármacos (DILI) é uma das principais causas de hepatotoxicidade adquirida e resulta de mecanismos diversos, incluindo efeitos dose-dependentes e reações idiossincráticas mediadas por fatores genéticos ou imunológicos. O fígado, por ser o principal órgão responsável pela biotransformação de substâncias exógenas, é especialmente vulnerável à formação de metabólitos reativos, sobretudo por meio das enzimas do citocromo P450 (CYP450), os quais podem desencadear estresse oxidativo, disfunção mitocondrial e necrose hepatocelular. Nesse contexto, aspectos farmacocinéticos, como metabolismo hepático e potencial para interações medicamentosas, influenciam diretamente a toxicidade, especialmente em situações de superdosagem, uso prolongado ou associação com outros fármacos (Hilal-Dandan, 2015).

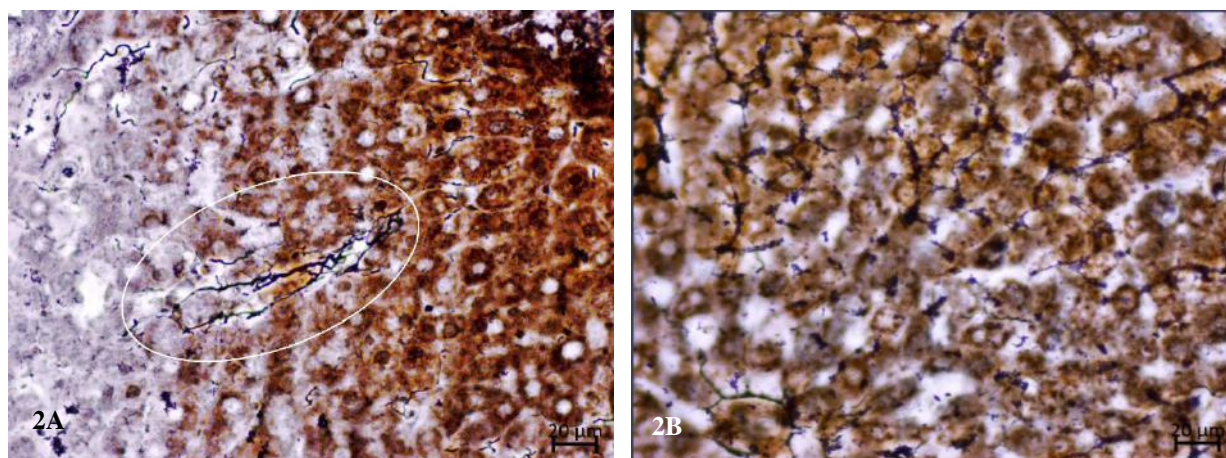
A liraglutida, por sua vez, destaca-se por seu perfil de segurança hepática, uma vez que não é metabolizada pelo sistema do CYP450, o que reduz o risco de interações hepatotóxicas. Esse análogo do GLP-1 modificado com uma cadeia de ácido graxo que promove ligação à albumina plasmática, prolongando sua meia-vida e permitindo administração diária. Sua degradação ocorre por clivagens enzimáticas lentas, semelhantes às dos peptídeos endógenos, predominantemente no fígado,

rins e tecido muscular, com eliminação renal dos metabólitos. Além disso, sua farmacocinética é pouco influenciada pela função hepática, dispensando ajustes de dose em pacientes com insuficiência hepática leve a moderada, conforme demonstrado em estudos regulatórios aprovados por agências como a FDA e a EMA (Saxenda, 2023).

Houve também necrose intralobular discreta e focal (Figura 2A), caracterizada pela morte pontual e localizada de hepatócitos dentro do lóbulo hepático. As alterações histológicas referentes à necrose estão frequentemente associadas a hepatites agudas ou crônicas leves e ao uso de medicamentos (Alves& Mello, 2021). Estas podem ocorrer também em condições específicas como a colestase intra-hepática da gestação, que costuma surgir no terceiro trimestre gestacional e está relacionada a fatores genéticos, especialmente mutações nos genes MDR3, ATP8B1, ABCB4 e ABCB11, que interferem na regulação dos ácidos biliares (Albuquerque, et al., 2022). Entretanto, por não apresentar diferenças significativas entre os grupos experimentais, não podemos atribuir essa alteração ao uso da Liraglutida.

Ao avaliar as fibras de reticulina, não apresentaram alterações, salvo em um único animal pertencente ao grupo 0,07 mg/mL que apresentou necrose discreta focal (Figura 2B). De acordo com Raina et al. (2024) a coloração de reticulina é uma técnica histológica que utiliza impregnação argêntica (com sais de prata) para evidenciar fibras reticulínicas em tecidos. Essas fibras são compostas principalmente por colágeno tipo III. A coloração permite a visualização detalhada dessa rede em tecidos conjuntivos, como fígado, baço e medula óssea. O espessamento das fibras reticulínicas (fibras argirofílicas) em uma região pode ser indicativo de processos patológicos. Utilizada para avaliar a arquitetura das placas de hepatócitos, nas quais elas ficam comprimidas na hiperplasia regenerativa nodular e colapsadas na necrose (Izuta, et al., 2023).

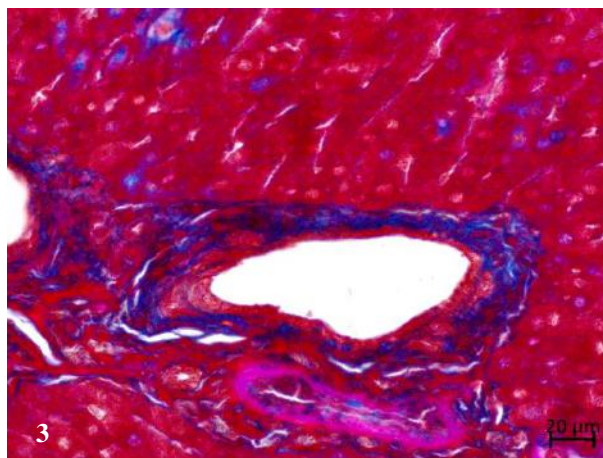
Figura 2 –Corte histológico do fígado de ratas Wistar tratadas com liraglutida durante a gestação (21 dias) corada em reticulina, sob microscópio de luz, aumento de 400x. **A)** recorte com fibras reticulínicas delicadas contornando os hepatócitos. **B)** área circulado em branco observa-se discreto espessamento com aparente colabamento das fibras reticulínicas, sugerindo área focal de necrose de hepatócitos.



Fonte: Acervo pessoal.

Após a análise das fibras de colágeno, coradas pela coloração de Masson, não foram observadas alterações que sugerisse a qualquer formação de fibrose (Figura 3), decorrente de injúria tecidual hepática decorrente do uso da liraglutida. A fibrose é caracterizada pela formação excessiva de tecido conjuntivo. Como o colágeno é o principal componente do tecido conjuntivo, o aumento do acúmulo de colágeno (principalmente COL I) é um indicador de lesões fibróticas. Assim, tanto a coloração tricrômica de Masson quanto a coloração pentacrômica de Movat são padrões ouro para identificação histopatológica de fibrose em biópsias de pacientes pela visualização de fibras de colágeno (Becker, et al., 2023).

Figura 3 – Corte histológico do fígado de ratas Wistar tratadas com liraglutida durante a gestação (21 dias) corada em Tricrômico de Masson, sob microscópio de luz, aumento de 400x. Recorte em área perivasculare que evidencia coloração positiva, observando fibras colágenas na parede de um vaso (não é indicativo de fibrose).



Fonte: Acervo pessoal.

Apesar das alterações histológicas descritas anteriormente estarem presentes em alguns dos animais dos diferentes grupos, ao utilizá-las para determinar o escore histológico de intensidade de lesão por campo avaliado, não foi possível observar diferença estatística significativa ($p = 0,092$) destes escores ao comparar simultaneamente todos os grupos entre si.

Ao realizar a comparação entre os Grupos Controle x Dose de 0,007 ($p=0,12$), Controle x Dose de 0,07 ($p=1,00$), Controle x Dose de 0,7 ($p=1,00$), Dose 0,007 x Dose de 0,07 ($p=0,40$), Dose 0,007 x Dose de 0,7 ($p=1,00$) e Dose 0,07 x Dose de 0,7 ($p=1,00$) também não foi possível observar diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre eles. Esse achado permitiu inferir que as diversas doses de liraglutida não acarretaram lesões histopatológicas claras no parênquima hepático durante o período gestacional de ratas Wistar.

Importante destacar que a ausência de resultados estatisticamente significativos não exclui os achados biológicos individuais, e que um maior tamanho amostral ou análises complementares poderiam confirmar se esse fármaco, em doses variadas, exerce eventuais efeitos sutis no tecido hepático (Malik et al., 2023).

No contexto da gestação, a literatura aponta a necessidade de cautela com uso de fármacos devido aos riscos potenciais para o binômio mãe-feto (Dathe & Schaefer, 2019; Jin et al., 2022). Embora estudos *in vitro* e *in vivo*, sobretudo em modelos de obesidade, demonstrem benefícios metabólicos e ação antiesteatótica da liraglutida (Milani et al., 2019), existem lacunas sobre sua segurança em organismos prenhes, principalmente em doses acima das usualmente recomendadas para humanos. Ainda assim, os resultados deste estudo não apontam hepatotoxicidade. Pelo contrário, os achados de diminuição do peso do fígado em doses intermediárias estão em consonância com estudos que relacionam a ação do GLP-1 a melhorias do perfil hepático (Fontana et al., 2019).

4 Conclusão

Os resultados sugerem que a administração de liraglutida em doses escalonadas, ao longo de todo o período gestacional em ratas Wistar, não ocasionou alterações bioquímicas ou histopatológicas indicativas de hepatotoxicidade. A discreta redução no peso do fígado observada no grupo de dose intermediária pode estar mais relacionada à modulação do metabolismo de lipídeos do que a qualquer efeito tóxico.

Ainda assim, o tamanho de amostra limitado e a ausência de análises moleculares ou de estresse oxidativo indicam a necessidade de investigações adicionais para confirmar a segurança da liraglutida durante a gestação e avaliar potenciais

benefícios ou riscos não evidentes.

Referências

- Abdelsameea, A.A., Abbas, N.A. & Abdel Raouf, S.M. (2017). Liraglutide attenuates partial warm ischemia-reperfusion injury in rat livers. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 390, 311–319 <https://doi.org/10.1007/s00210-016-1330-7>
- Albuquerque, M. F., Rodriguez, J. E. R., Sousa, A. A. de F., Gil, A. P. de S. M., Farias, R. O., & Pinto, A. P. O. (2022). Colestase intra-hepática gestacional: uma revisão narrativa. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 15(6), e10338. <https://doi.org/10.25248/reas.e10338.2022>.
- Alesco. (2022). Mini-Isoladores ventilife para ratos. *Catálogo de produtos 2022*. <https://www.alesco.com.br/mini-isolador-ventilife-para-ratos>.
- Almeida Junior, S. de, Pereira, P. M., Totoli, V. de S., Carrijo, M. S., Badoco, F. R., Pereira, L. de F., Dias, F. G. G., & Furtado, R. A. (2020). Validação de parâmetros do perfil renal e hepático de roedores *Rattus norvegicus* do Biotério de manutenção da Universidade de Franca. *Research, Society and Development*, 9(5), e18952619. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i5.2619>.
- Alruwaili, H., Dehestani, B., le Roux, C.W. (2021). Impacto clínico da liraglutida como tratamento da obesidade. *Clin Pharmacol*, 13,53-60. <https://doi.org/10.2147/CPAA.S276085>.
- Alves, V.A.F & Mello, E.S. (2021). Fígado e Vias Biliares. In Filho, G. B. (10th). *Bogliolo - Patologia* (pp. 787-849). Rio de Janeiro, Brasil, (ed. Gen).
- Alvim, M., Alves, A. C., Vaz, M., Almeida, S., Constantino, J. V., Bourbon, M. (2022). Estudo para a determinação dos valores de referência das enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama- glutamil transferase (GGT), no soro. *Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge*, 31 (11), 44-48. Disponível em <https://repositorio.insa.pt/entities/publication/92cc3a6b-fbd5-4588-ac3f-c2b6a50a7e7b>.
- Becker, L., Lu C.E., Montes-mojarro, I. A., Layland, S. L., Khalil, S., Nsair, A., Duffy, G. P., Fend, F., Marzi, J., Schenke-layland, K. (2023). Raman microspectroscopy identifies fibrotic tissues in collagen-related disorders via deconvoluted collagen type I spectra. *Elsevier BV: Acta Biomaterialia*, 162(1), 278-291. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2023.03.016>.
- Bioclin. (2018). Transaminase AST (TGO) cinética: K048. *Bioclin*. Acesso em 19/04/2025. https://quibasa.bioclin.com.br/anexos/INSTRUcoes_TRANSAMINASE_AST_TGO_CINETICA.pdf.
- Bioclin. (2019). Transaminase ALT (TGP) cinética: K049. *Bioclin*. Acesso em 19/04/2025. https://quibasa.bioclin.com.br/anexos/INSTRUcoes_TRANSAMINASE_ALT_TGP_CINETICA.pdf.
- Costa, I. M., de Almeida, J. D., da Costa, K. M., Jardim, L. F. S., Rosa, M. J. dos S., Pifano, P. P., de Oliveira, R. R., Silva, S. O., Lima, S. da S., & Godoy, J. T. (2021). Uso de análogos de GLP-1 no tratamento da obesidade: uma revisão narrativa / Use of GLP-1 analogues in treatment of obesity: a narrative review. *Brazilian Journal of Health Review*, 4(2), 4236–4247. <https://doi.org/10.34119/bjhrv4n2-022>
- Dathe, K. & Schaefer, C. (2019). The Use of Medication in Pregnancy. *Deutsches Ärzteblatt International*, 116(46),783-790. <http://dx.doi.org/10.3238/arztebl.2019.0783>.
- Érica Vieira, S. (2021). Introdução à bioestatística. Editora GEN/Guanabara Koogan.
- Favoretto, S. M., Seabra, D. I., Olivato, M. C. M. (2019). Guia de eutanásia para animais de ensino e pesquisa. *Universidade Federal de São Paulo*. Acesso em 19 de abril de 2025. Disponível em https://ceuaics.ufba.br/sites/ceuaics.ufba.br/files/guia_eutanasia_unifesp_versao_final_042019.pdf
- Fontana, J., Kučera, O., Anděl, M., Červinková, Z. (2019) Effect of glucagon-like peptide-1 analogue liraglutide on primary cultures of rat hepatocytes isolated from lean and steatotic livers. *General Physiology And Biophysics*, 38(04), 343-352. http://dx.doi.org/10.4149/gpb_2019016.
- Hilal-Dandan, R., Brunton, L. Toxicidade por fármacos e envenenamento. In: Hilal-Dandan, Randa; Brunton, Laurence. (2015). *Manual de Farmacologia e Terapêutica de Goodman & Gilman*. Porto Alegre, Brasil, Amgh.
- Imbernon, M., Saponaro, C., Helms, H.C.C. Duquenne, M., Fernandois, D., Deligia, E., Denis, R.G.P., Chao, D.H.M., Rasika, S., Staels B., Pattou, F., Pfrieger, F.W. Brodin, B., Luquet, S., Bonner, C., Prevot V. (2022). Tanycytes control hypothalamic liraglutide uptake and its anti-obesity actions. *Elsevier BV: Cell Metabolism*, 34(7),1-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2022.06.002>.
- Inayat, F., Khan, A.A., Afzal, S., Taj, S., Amin, M.K., Rehman, A. U., Goraya, M.H.N., Nawaz, G., Ishtiaq, R., Jaan, A., Vasim, I. (2022) Drug-induced liver injury associated with liraglutide use: a systematic review of detection, severity, causality assessment, and clinical outcomes. *Journal Of Clinical and Translational Research*, 9(3), 168-174. <http://dx.doi.org/10.18053/jctres.09.202303.004>
- Izuta, M., Kuwamoto, S., Kamiya, T., Nagata, K., Matsushita, M., Inaga, S., Kaido, T., Umekita, Y., Hayashi, K., Kitamura, Y. (2023). Imaging of Liver Tissues Using a Combination of Silver Impregnation and Low-Vacuum Scanning Electron Microscopy; A Simple Method for the High-Resolution Visualization of Reticulin Structures with Applicability to a Quantitative Analysis. *Tottori University Faculty of Medicine: Yonago Acta Medica*, 66(1),78-86. <http://dx.doi.org/10.33160/yam.2023.02.009>.
- Jin J. (2022). Safety of Medications Used During Pregnancy. *JAMA*, 328(5), 486. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.8974>
- Kanwal, S.& Alemadi, E.A. (2021) Liraglutida para controle de peso, análise crítica de eficácia e Efeitos colaterais em indivíduos não diabéticos com obesidade: uma revisão sistemática abrangente. *World Family Medicine*, 19 (4), 72-83. DOI: 10.5742 / MEWFM.2021.94031.
- Lee, M.-Y., Chen, W.-C., Hsu, W.-H., Chen, S.-C., & Lee, J.-C.. Liraglutida inibe a replicação do vírus da hepatite C por meio de um mecanismo dependente de proteína quinase ativada por AMP. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (18), 4569. <https://doi.org/10.3390/ijms20184569>.

Malik, A., Amjad, W., Inayat, F., Nadeem, M., Weissman, S., & Imran Malik, M. et al. (2023). The effects of liraglutide on liver enzymes and metabolic factors in patients with nonalcoholic steatohepatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Gastroenterology Review/Przegląd Gastroenterologiczny*, 18(1), 100-109. <https://doi.org/10.5114/pg.2022.112775>.

Milani, L., Galindo, C. M., Turin de Oliveira, N. M., Corso, C. R., Adami, E. R., Stipp, M. C., Beltrame, O. C., & Acco, A. (2019). The GLP-1 analog liraglutide attenuates acute liver injury in mice. *Annals of hepatology*, 18(6), 918–928. <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2019.04.011>.

Peradze, N., Farr, O. M., Perakakis, N., Lázaro, I., Sala-Vila, A., & Mantzoros, C. S. (2019). Short-term treatment with high dose liraglutide improves lipid and lipoprotein profile and changes hormonal mediators of lipid metabolism in obese patients with no overt type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled, cross-over, double-blind clinical trial. *Cardiovascular diabetology*, 18(1), 141. <https://doi.org/10.1186/s12933-019-0945-7>.

Pereira A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [free e-book]. Editora UAB/NTE/UFSM.

Raina, P., Dharamdasani, S., Chinnam, D., Sharma, P., Gupta, S. (2024). Bombr: an annotated bone marrow biopsy dataset for segmentation of reticulin fibers. Cold Spring Harbor Laboratory: *Biorxiv*, 1, 1-10. <http://dx.doi.org/10.1101/2024.10.02.616389>.

Saxenda: Solução injetável. (2023). Responsável técnico Laura F. O. Azevedo. Dinamarca: *Novo Nordisk*. <https://consultas.anvisa.gov.br/#/bulario/q/?numeroRegistro=117660032>

Shitsuka et al. (2014). Matemática fundamental para a tecnologia. Editora Érica.

Song, J. X., An, J. R., Chen, Q., Yang, X. Y., Jia, C. L., Xu, S., ... Ji, E. S. (2022). Liraglutide attenuates hepatic iron levels and ferroptosis in db/db mice. *Bioengineered*, 13(4), 8334–8348. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2051858>.

Yamazaki, S., Satoh, H., Watanabe, T. (2014). Liraglutide Enhances Insulin Sensitivity by Activating AMP-Activated Protein Kinase in Male Wistar Rats. *Endocrinology*, 155(9), 3288–3301, <https://doi.org/10.1210/en.2013-2157>.