

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

JUAN MANUEL DINIZ VARGAS ARANCIBIA

**Investigação do potencial neuroprotetor de tirzepatida em
camundongos submetidos a modelo de diabetes e
obesidade**

BRASÍLIA
2025

JUAN MANUEL DINIZ VARGAS ARANCIBIA

**Investigação do potencial neuroprotetor de tirzepatida em
camundongos submetidos a modelo de diabetes e
obesidade**

Dissertação apresentada ao
curso de Pós-graduação em
Biologia Animal, da Universidade
Brasília, como requisito parcial
para obtenção do Grau de Mestre
em Biologia Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Paula Maria Quaglio Bellozi

BRASÍLIA

2025

APOIO FINANCEIRO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) – Edital Demanda Espontânea 05/2024;
Decanato de Pesquisa e Inovação (DPI) e de Pós-graduação (DPG) – Universidade de Brasília – Edital DPI/DPG 02/2023.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e todas as oportunidades.

À minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Paula Maria Quaglio Bellozi, pelo acolhimento, oportunidade, orientação, paciência e incentivo durante minha trajetória na pós-graduação.

Aos professores Prof.^a Dr.^a Angélica Amorim Amato, Prof.^a Dr.^a Andreza Fabro de Bem e Prof. Dr. Jair Trapé Goulart, por todo apoio e disponibilidade durante a pesquisa.

À equipe do Laboratório de Bioenergética e Metabolismo (Lab de Bem), pelo acolhimento, parceria e ensinamentos ao longo de todas as etapas do projeto.

À minha família, pelo amor, suporte emocional e por serem a base da minha vida.

Aos amigos que me acompanharam e me apoiaram durante todo esse processo.

À FAPDF, ao DPI E ao DPG pelo apoio financeiro.

RESUMO

A Diabetes Mellitus (DM) é um problema de saúde pública, caracterizado por um estado de hiperglicemia persistente, decorrente de disfunções na secreção e/ou na ação da insulina. A DM pode ser classificada em diferentes tipos, sendo o do tipo 2 o mais comum, frequentemente associada à obesidade, uma doença altamente relacionada com o aumento de marcadores inflamatórios periféricos. Dietas hiperlipídicas podem estar associadas à DM2 e obesidade, predispondo o indivíduo a uma série de comorbidades, como as relacionadas ao sistema nervoso central (SNC).

Os incretinomiméticos fazem parte das opções de tratamento de DM2 e obesidade. Além disso, pesquisas recentes demonstraram que alguns incretinomiméticos, como os agonistas de GLP-1, conseguem também atuar como neuroprotetores, contribuindo para a melhora na cognição e do metabolismo do SNC. A tirzepatida, um novo incretinomimético, demonstrou ser mais potente para tratar DM2 e obesidade em relação a outros medicamentos dessa classe, como a semaglutida, entretanto, ainda não teve seus efeitos na neuroproteção investigados. Para o presente estudo, camundongos fêmeas C57BL/6 foram submetidos a dieta hiperlipídica (DH) por 12 semanas, e ao tratamento com tirzepatida durante as 4 últimas semanas de dieta. Para avaliação do modelo de DM2 e obesidade, os animais foram pesados semanalmente e submetidos ao teste de tolerância à glicose.

Após o tratamento, foram realizados testes comportamentais para avaliar parâmetros relacionados ao SNC como cognição e comportamento tipo-depressivo. Os animais foram eutanasiados e seus hipocampos foram dissecados para avaliação do metabolismo por oximetria de alta resolução. De acordo com os resultados, a tirzepatida conseguiu reverter o ganho de peso, o aumento na glicemia basal e a tolerância à glicose que foram induzidos pela DH nos animais. Além disso, a DH induziu um déficit cognitivo no teste de realocação de objetos e comportamento do tipo-depressivo no splash test, o que não foi revertido pela tirzepatida. Ainda, houve comprometimento do metabolismo energético hipocampal induzido pela dieta hiperlipídica, que não foi revertido pela tirzepatida. Esses resultados podem não ter sido revertidos devido ao alto teor de lipídios na dieta. Ademais, outros testes precisam ser realizados para avaliação mais completa dos impactos centrais, assim como deve ser realizado um estudo em animais machos para avaliação da resposta sexo-

dependente. Baseado na literatura, espera-se que a tirzepatida tenha efeito neuroprotetor em outros comportamentos e na neuroinflamação.

Palavra-chave: Diabetes Mellitus tipo 2, obesidade, incretinomiméticos, tirzepatida, neuroproteção

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a public health concern characterized by a persistent hyperglycemic state resulting from dysfunctions in insulin secretion and/or action. DM can be classified into different types, with type 2 diabetes (T2DM) being the most prevalent. T2DM is frequently associated with obesity, a condition strongly linked to increased peripheral inflammatory markers. High-fat diets (HFD) are known to contribute to the development of T2DM and obesity, predisposing individuals to various comorbidities, including those affecting the central nervous system (CNS). Incretin mimetics are among the therapeutic options for T2DM and obesity. Furthermore, recent studies have shown that certain incretin-based drugs, such as GLP-1 receptor agonists, may also exert neuroprotective effects, contributing to improvements in cognition and CNS metabolism.

Tirzepatide, a novel dual GIP/GLP-1 receptor agonist, has shown superior efficacy in treating T2DM and obesity when compared to other drugs in this class, such as semaglutide. However, its potential neuroprotective effects remain largely unexplored. In the present study, female C57BL/6 mice were subjected to a high-fat diet (HFD) for 12 weeks and received tirzepatide treatment during the final 4 weeks of the diet. To assess the T2DM and obesity model, animals were weighed weekly and underwent an oral glucose tolerance test (OGTT). Following treatment, behavioral tests were conducted to evaluate CNS-related parameters, including cognition and depressive-like behavior. After euthanasia, the hippocampus was dissected for high-resolution respirometry analysis to assess energy metabolism.

According to the results, tirzepatide was able to reverse body weight gain, fasting hyperglycemia, and impaired glucose tolerance induced by the HFD. However, HFD-induced cognitive deficits in the object location task and depressive-like behavior in the splash test were not reversed by tirzepatide. Additionally, HFD impaired hippocampal energy metabolism, which was also not restored by tirzepatide treatment. These effects may not have been reversed due to the high lipid content of the diet. Further studies are necessary to provide a more comprehensive evaluation of CNS outcomes, including male mice, to assess sex-dependent responses. Based on the literature, tirzepatide is expected to exert neuroprotective effects in other behavioral domains and in the context of neuroinflammation.

Keywords: Type 2 Diabetes Mellitus, obesity, incretin mimetics, tirzepatide, neuroprotection

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comorbidades centrais e periféricas associadas à DM2 e à obesidade.....	17
Figura 2. Impactos da neuroinflamação na BHE.....	19
Figura 3. Via de sinalização PI3K-AKT.....	21
Figura 4. Representação esquemática da cadeia transportadora de elétrons.....	22
Figura 5. Mecanismo de ação de GLP-1 e GIP.....	25
Figura 6. Efeitos da tirzepatida no organismo.....	27
Figura 7. Protocolo experimental.....	30
Figura 8. Peso dos camundongos C57Bl/6 durante o protocolo experimental.....	34
Figura 9. T Efeitos da TZP na glicemia e no teste de tolerância à glicose em modelos de DM2 e obesidade.....	35
Figura 10. Efeitos da TZP nos testes comportamentais em modelos de DM2 e obesidade.....	36
Figura 11. Efeitos da TZP na bioenergética mitocondrial do hipocampo em modelos de DM2 e obesidade.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classes farmacológicas para o tratamento de DM2 no Brasil.	23
Tabela 2. Composição da dieta hiperlipídica 60%	29

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP: adenosina difosfato

AGIs: Ácidos graxos livres

Akt: Proteína quinase B

ANOVA: análise de variância

ATP: adenosina trifosfato

BDNF: fator neurotrófico derivado do cérebro

BHE: Barreira hematoencefálica

Ca: Cálcio

CCCP: cianeto de carbonila 3-clorofenil-hidrazona

CREB: proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc

CTE: Cadeia transportadora de elétrons

CoQ: Coenzima Q

Cit C: Citocromo C

DH: Dieta hiperlipídica

DM: Diabetes Mellitus

DO: Dieta Ocidental

EGTA: Ácido etilenoglicol-bis(2-aminoetil éter)-N,N,N',N'-tetraacético

EPAC2: Proteína de troca ativada diretamente por AMPc 2

ETS: Sistema de transporte de elétrons

FADH2: Flavina Adenina Dinucleotídeo Reduzido

GIP: polipeptídeo insulinotropico dependente da glicose

GIPR: Receptor do polipeptídeo insulinotropico dependente da glicose

GLP-1: peptídeo semelhante ao glucagon 1

GLP-1R: Receptor do peptídeo semelhante ao glucagon 1

IL-1 β : interleucina 1 β

IL-6: interleucina-6

IR: Receptor de insulina

IRS: Substrato do receptor de insulina

K: Potássio

K₂HPO₄: Fosfato de Potássio Dibásico

KATP: canais de potássio sensíveis a ATP

KCl: Cloreto de Potássio

LAM: Labirinto Aquático de Morris

LDL: Lipoproteína de baixa densidade

MgCl₂: Cloreto de Magnésio

MR: meio de reação

NADH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo

O₂: oxigênio

OXPHOS: Estado fosforilante

PCR: proteína C reativa

PDK1: quinase 1 dependente de fosfoinositídeo

PI3K: Fosfatidil Inositol 3-quinase

PIP2: ofosfatidilinositol (3,4)-bifosfato

PIP3: fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato

PKA: Proteína Quinase A

RAR: Respirometria em Alta Resolução

ROS: Espécies Reativas de Oxigênio

RPM: Rotações Por Minuto

SGLT2: Cotransportador Sódio-Glicose tipo 2

SNC: Sistema nervoso central

TNF α : fator de necrose tumoral α

TZP: Tirzepatida

VDCC: canais de Ca²⁺ dependentes de voltagem

Sumário

APOIO FINANCEIRO	3
AGRADECIMENTOS	4
RESUMO	5
ABSTRACT	7
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE TABELAS.....	10
LISTA DE ABREVIATURAS.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Diabetes tipo 2, obesidade e dietas hiperlipídicas.....	15
1.2 ALTERAÇÕES COGNITIVAS NA DM2 E NA OBESIDADE	18
1.3 Metabolismo energético cerebral na DM2 e obesidade	20
1.4 ANTIDIABÉTICOS	23
1.4.1 INCRETINOMIMÉTICOS COMO ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA PARA DISTÚRBIOS DO SNC	24
2. OBJETIVOS	28
2.1 Objetivo geral.....	28
2.2 Objetivos específicos	28
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 Modelo animal.....	29
3.2 Teste de tolerância à glicose (TTG)	31
3.3 Avaliações comportamentais	31
3.3.1 Teste de realocação de objeto (TRLO).....	31
3.3.2 <i>Splash test</i>	32
3.5 Oximetria de alta resolução	32
3.6 Análise estatística	33

4. RESULTADOS	34
4.1 A tirzepatida consegue reverter o ganho de peso induzido por DH	34
4.2 A tirzepatida reduz a hiperglicemia induzida pela DH.	34
4.3 A tirzepatida não consegue reverter o déficit de memória e o comportamento do tipo depressivo induzidos por DH.....	35
4.4 Não houve alteração da bioenergética mitocondrial hipocampal ..	36
5. DISCUSSÃO.....	38
6. CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS	45
ANEXO I - Certificado da Comissão de Ética no Uso Animal	65

1. INTRODUÇÃO

1.1 Diabetes tipo 2, obesidade e dietas hiperlipídicas

A diabetes mellitus (DM) representa um grupo de doenças metabólicas caracterizado por um estado de hiperglicemia persistente resultante da incapacidade do corpo de usar ou armazenar a glicose para obtenção de energia. A DM tipo 2 é caracterizada pela incapacidade do pâncreas em produzir insulina em quantidade suficiente ou do corpo em utilizá-la de maneira eficaz (American Diabetes Association, 2025). Ela corresponde a cerca de 96% dos casos de diabetes (Ong et al., 2023) e acomete aproximadamente 8,5% da população adulta no mundo (WHO, 2022). No Brasil, o número de casos diagnosticados de DM2 em 2024 foi de 16.621, com previsão de um aumento para aproximadamente 24.026 casos em 2050, de acordo com estudos epidemiológicos da Federação Internacional de Diabetes (IFD, 2025). Dentre suas principais complicações, pode-se destacar amputação de membros inferiores, cegueira, falência renal, infarto do miocárdio e acidente vascular encefálico (Barnes et al., 2020; Demir et al., 2021).

A obesidade é um dos problemas de saúde pública mais significativos, com uma alta prevalência mundial. Na região das Américas, a prevalência estimada da doença foi de 33,8% em 2022, e no Brasil, 28,1% no mesmo ano (PAHO, 2025). Estima-se que até 2050 o número total de adultos atingidos pela doença chegue a 3,80 bilhões no mundo todo (Kerr et al., 2025). Essa patologia é definida pelo excesso ou acúmulo anormal de gordura no tecido adiposo branco, tendo como uma de suas características o aumento de marcadores inflamatórios periféricos (Kopelman, 2000; Olszanecka-Glinianowicz et al., 2004; Roytblat et al., 2000; Visser et al., 1999). Os macrófagos e linfócitos presentes no tecido adiposo contribuem para o aumento dos níveis circulantes de citocinas pró-inflamatórias, tais como interleucina (IL)-1 β , IL-6 e fator de necrose tumoral α (TNF α). O aumento da proteína C reativa (PCR) é outro marcador inflamatório observado na doença (Ouchi et al., 2011).

Em pacientes com obesidade, são observados outros distúrbios metabólicos relacionados com resistência à insulina e hiperglicemia, condições típicas de DM2, que, quando não tratadas, podem prejudicar o funcionamento equilibrado de outros órgãos periféricos, como o fígado e o coração (De Silva et al., 2019; Garber, 2012; Maggio; Pi-Sunyer, 2003; Rohm et al., 2022; Scherer; Hill, 2016).

O fígado desempenha um papel central no metabolismo da glicose e no controle dos níveis lipídicos, e pode ser impactado diretamente nos casos de DM2 e obesidade, visto que um aumento na resistência à ação da insulina pode resultar no aumento da liberação de ácidos graxos livres (AGIs) para a circulação, e consequentemente, em uma síntese excessiva de triglicerídeos pelo fígado. Isso prejudica suas funções fisiológicas, resultando em uma sobrecarga hepática, podendo evoluir para condições patológicas como dislipidemia, doença hepática gordurosa associada à disfunção metabólica, e cirrose hepática (Figura 1) (Samuel; Shulman, 2016; Santoleri; Titchenell, 2019).

Doenças cardíovasculares fazem parte das principais comorbidades e casos de mortalidade relacionados com as 2 doenças (Scherer; Hill, 2016). O excesso de glicose, hipertrigliceridemia, elevação dos níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL, do inglês low density lipoprotein) em conjunto com uma inflamação sistêmica persistente, podem prejudicar a função endotelial, promover a formação de placas de gordura nas paredes das artérias (aterosclerose), alterar o tônus vascular, e contribuir para a ocorrência de cardiopatias (Nauck et al., 2021; Scherer; Hill, 2016).

Outras alterações periféricas podem incluir problemas renais. O rim, diante das diversas disfunções metabólicas como a glicotoxicidade e estado inflamatório crônico, pode sofrer danos que resultam no espessamaneto da membrana basal glomerular, hiperfiltração glomerular, microalbuminúria, proteinúria, e consequentemente, nefropatia diabética e doença renal crônica (Fenta et al., 2023; Prasad et al., 2022; Thomas; Cooper; Zimmet, 2015; Zeni et al., 2017).

Como a DM2 e obesidade abrangem um cenário multifatorial, é muito relevante considerar as influências ambientais, comportamentais e genéticas que resultam no aumento da incidência, progressão e prevalência das 2 doenças. Existem diferenças epidemiológicas na forma que essas doenças atingem os indivíduos de acordo com o sexo biológico. Normalmente mulheres apresentam maior prevalência de obesidade, e apresentam uma maior sensibilidade à insulina, com uma tendência maior de acumular gordura subcutânea, enquanto homens tendem a ser mais frequentemente diagnosticados com DM2 de forma mais precoce, entretanto, após a menopausa, o risco metabólico em mulheres é aumentado e possuem uma maior tendência de comorbidades associadas (De Mutsert et al., 2018; Delaney; Santosa, 2022; Kautzky-Willer; Harreiter; Pacini, 2016)

Um dos principais fatores de risco para essas patologias é o consumo elevado

de dietas hiperlipídicas (DHs), logo, o comportamento alimentar, tem grande impacto nos desfechos metabólicos das mesmas (Hargrave et al., 2016; Jokinen, 2015; WHO, 2022).

Além dos impactos metabólicos sistêmicos, a obesidade e a DM2 podem afetar o sistema nervoso central (SNC). Isso pode levar a alterações estruturais e funcionais no encéfalo, promover neuroinflamação, declínio cognitivo, e o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas (Mazon et al., 2017; Russo et al., 2021; Szmygin et al., 2023).

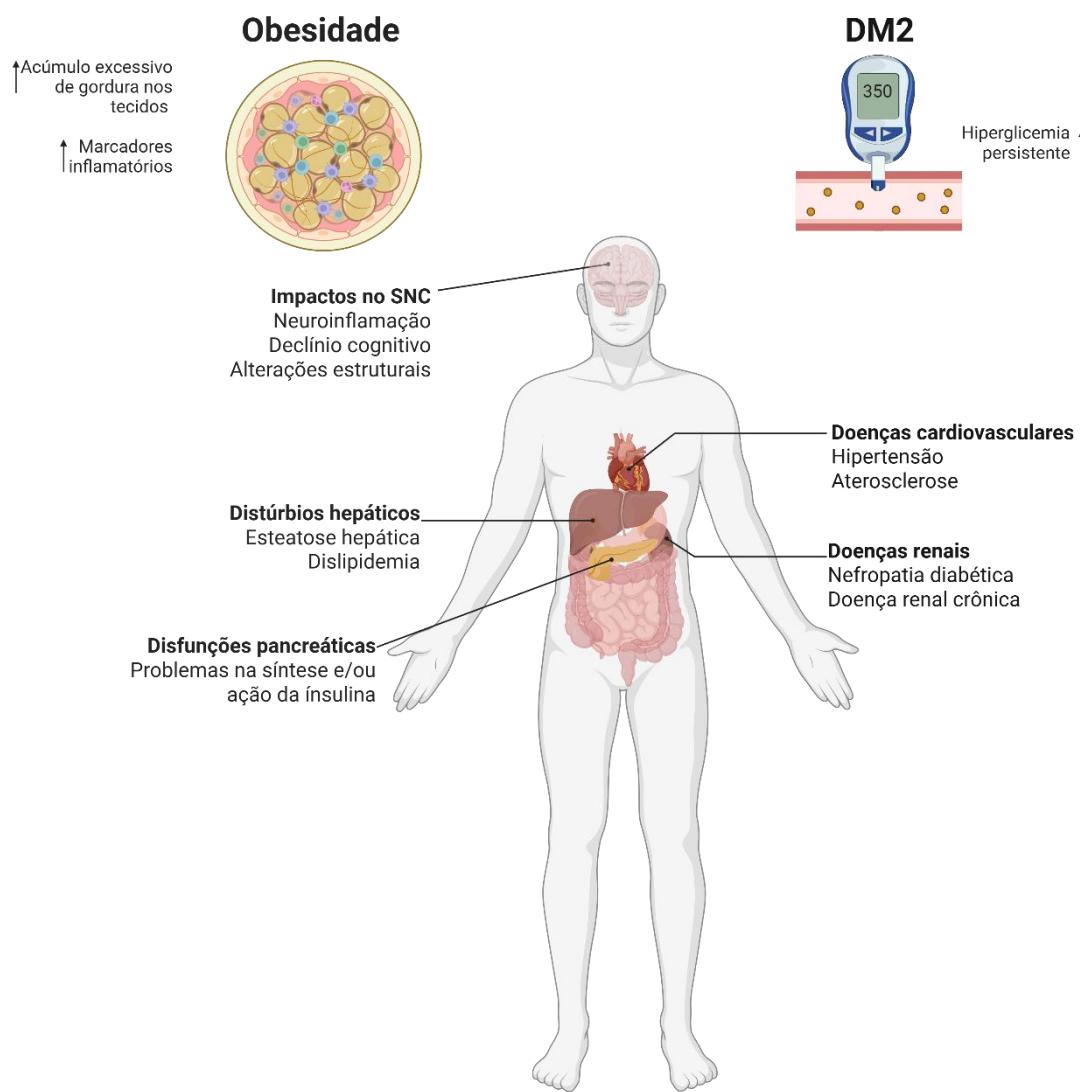


Figura 1. Comorbidades centrais e periféricas associadas à DM2 e à obesidade. A DM2 e a obesidade são doenças metabólicas que a longo prazo podem resultar em diversas comorbidades. O depósito excessivo de gordura nos tecidos e o aumento da circulação de marcadores inflamatórios da obesidade, em conjunto com a hiperglicemia persistente da DM2, podem resultar em impactos periféricos, como: hipertensão, aterosclerose, resistência à insulina, doenças renais e hepáticas. Ambas

as doenças também podem impactar o SNC, aumentando o risco para o desenvolvimento de neuroinflamação, declínio cognitivo e alterações estruturais. Fonte: do autor. Criado com BioRender.

1.2 ALTERAÇÕES COGNITIVAS NA DM2 E NA OBESIDADE

Memória é definida como a capacidade de recuperar e armazenar informações obtidas, processo que envolve uma série de mecanismos neurobiológicos e cognitivos (Kandel; Dudai; Mayford, 2014; Ortega-De San Luis; Ryan, 2022; Zlotnik; Vansintjan, 2019). Pode ser classificada em vários tipos e subtipos, como a memória de curto prazo, relacionada com o processamento e armazenamento de informações por um curto período de tempo, a memória de trabalho, que diz respeito aos processamentos cognitivos de linguagem, raciocínio e lógica, e a memória de longo prazo, que retém as informações adquiridas por longos períodos de tempo(Camina; Güell, 2017; Cowan, 2017; Kandel; Dudai; Mayford, 2014).

Distúrbios na memória e cognição são multifatoriais e correlacionados com doenças neurodegenerativas, avanços na idade e transtornos psiquiátricos. Esses distúrbios podem ser também observados em doenças metabólicas, como na DM2 e obesidade (Guo; Ragland; Carter, 2019; Peng et al., 2020).

No estudo de Mallorquí-Bagué et al., 2018, pacientes idosos com DM2 apresentaram desempenho inferior em testes relacionados com memória de trabalho, flexibilidade cognitiva e atenção, além de um aumento de sintomas depressivos, quando comparados com pacientes sem a doença. Outros estudos observaram associações entre DM2, obesidade, e a ocorrência de comportamentos depressivos, associados com declínios cognitivos (Randväli; Toomsoo; Šteinmiller, 2024; Whitelock et al., 2021).

Para além dos impactos sistêmicos, inúmeros estudos verificaram disfunções no SNC associadas à memória e ao comportamento do tipo depressivo com o elevado consumo de DH (Al-Onaizi et al., 2023; Vinuesa et al., 2016; Zborowski et al., 2021). Ademais, já é bem estabelecido, um aumento da inflamação sistêmica em modelos de DM2 e obesidade com o uso de DH, que pode ocasionar também neuroinflamação (Cook et al., 2000; Esser et al., 2014; Marcos et al., 2023; Rohm et al., 2022).

A princípio, processos inflamatórios sistêmicos não deveriam alcançar o

encéfalo, uma vez que a barreira hematoencefálica (BHE) restringe a passagem de células do sistema imune periférico para o sistema nervoso central (SNC) (Engelhardt; Coisne, 2011; Greenwood et al., 2011; Shrestha et al., 2013). Entretanto, estudos recentes têm descrito alterações importantes na BHE devido a processos inflamatórios sistêmicos, o que resulta em aspectos inflamatórios, como ativação microglial, astrogliose, invasão e maior produção de mediadores pró-inflamatórios no SNC (Figura 2) (Takeda; Sato; Morishita, 2014). Diversos estudos indicam uma associação entre obesidade, inflamação e alterações no SNC. Alterações funcionais e estruturais vêm sendo descritas, dentre elas, inflamação hipotalâmica (De Souza et al., 2005), redução no fluxo sanguíneo cerebral (Willeumier et al., 2011) e atrofia no hipocampo (Fotuhi et al., 2012).

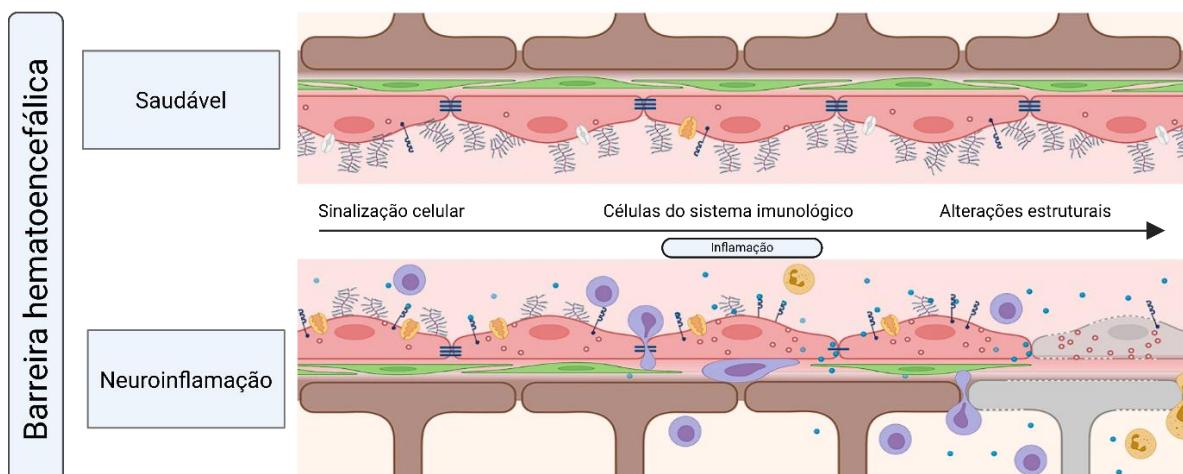


Figura 2. Impactos da neuroinflamação na BHE. A BHE funciona como uma barreira fisiológica que protege e controla a passagem de substâncias entre a periferia do organismo e o SNC. Com a ocorrência da neuroinflamação, a BHE passa por alterações que podem prejudicar o controle desse fluxo de substâncias. De acordo com a progressão dessa inflamação, podem ocorrer alterações celulares, permitindo que células do imunológico periférico consigam penetrar na SNC de forma descontrolada, ou, ainda, alterações estruturais. Fonte: adaptado de Galea, 2021. Criado com BioRender.

Paralelamente, estudos demonstraram que as DHs induzem déficits na memória espacial e contextual em camundongos (Kosari et al., 2012; Valladolid-Acebes et al., 2011). Múltiplos autores sugerem que estas alterações cognitivas seriam, muito provavelmente, decorrentes dos efeitos da dieta sobre a plasticidade sináptica hipocampal (Molteni et al., 2002; Wu et al., 2004). Estudos recentes, demonstram que camundongos submetidos à DH apresentam uma redução na

neurogênese hipocampal adulta, associada a neuroinflamação e prejuízos cognitivos (Murata et al., 2017; Park et al., 2010; Vinuesa et al., 2016), com desempenho deficiente em avaliações cognitivas de memória espacial, devido a mudanças na estrutura das células nervosas do hipocampo. Nesse caso, observa-se a ativação das células astrocíticas e redução de marcadores relacionados à plasticidade sináptica envolvendo as regiões do hipotálamo, cerebelo e córtex cerebral (Trevino et al., 2015; Trevino et al., 2017).

Além dos efeitos sistêmicos e centrais, o alto consumo de DH pode estar associado também com distúrbios mitocondriais em diversos tecidos que estão envolvidos na progressão da DM2 e obesidade, como o pâncreas, fígado, cérebro e o tecido adiposo, levando ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), diminuindo a biogênese mitocondrial, e prejudicando o metabolismo energético (Chen et al., 2018; Cioffi et al., 2022; Defronzo, 2009; Xia et al., 2024)

Em suma, o consumo de elevado de DH pode estar intimamente ligado com a fisiopatologia do DM2 e obesidade, e seus prejuízos perturbam a homeostase dos tecidos periféricos e do SNC, além de ocasionar disfunções mitocondriais.

1.3 Metabolismo energético cerebral na DM2 e obesidade

O metabolismo energético cerebral é essencial para a homeostase no SNC, contribuindo para a neurotransmissão, a manutenção da plasticidade sináptica, a produção de energia, e mecanismos neuroprotetores (Magistretti; Allaman, 2015; Roh; Song; Kim, 2016; Vogt; Brüning, 2013).

O SNC possui uma alta demanda energética, e utiliza a glicose como principal fonte de energia (Bordone et al., 2019; Roh; Song; Kim, 2016). No final da década de 1970, acreditava-se que o SNC não era um tecido dependente de respostas à insulina, entretanto, atualmente, já se sabe que os receptores de insulina (IR, do inglês insulin receptor), estão amplamente distribuídos pelo SNC, em diversas estruturas como no bulbo olfatório, córtex cerebral, hipocampo e hipotálamo, sugerindo que a insulina influencia diretamente na bioenergética mitocondrial (Blázquez et al., 2014)

A insulina realiza sua ação através da ligação à subunidade α do IR, que ativa a tirosina quinase da subunidade β do receptor, resultando na autofosforilação do

receptor em resíduos de tirosina e fosforilação de proteínas substrato do receptor de insulina (IRS) (Scherer; Sakamoto; Buettner, 2021). Quando fosforiladas, as proteínas IRS promovem a ligação da fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K), que converte lipídeo o fosfatidilinositol (3,4)-bifosfato (PIP2) em fosfatidilinositol (3,4,5)-trifosfato (PIP3). Esse processo atrai e ativa a quinase 1 dependente de fosfoinositídeo (PDK1), enzima que promove a fosforilação da proteína quinase B (Akt) (Scherer; Sakamoto; Buettner, 2021; Yang et al., 2022).

A via PI3K – AKT (Figura 3) atua em mecanismos essenciais de sobrevivência neuronal, plasticidade, memória, regula processos do metabolismo cerebral, participa de respostas ao estresse oxidativo, ou seja, exerce diversas funções neuroprotetoras (Savova et al., 2023; Yang et al., 2022). Disfunções nessa via são relatadas na patogênese de doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson, assim como, na DM2 e obesidade (Huang et al., 2018; Kumar; Bansal, 2022; Long et al., 2021; Yin et al., 2017).

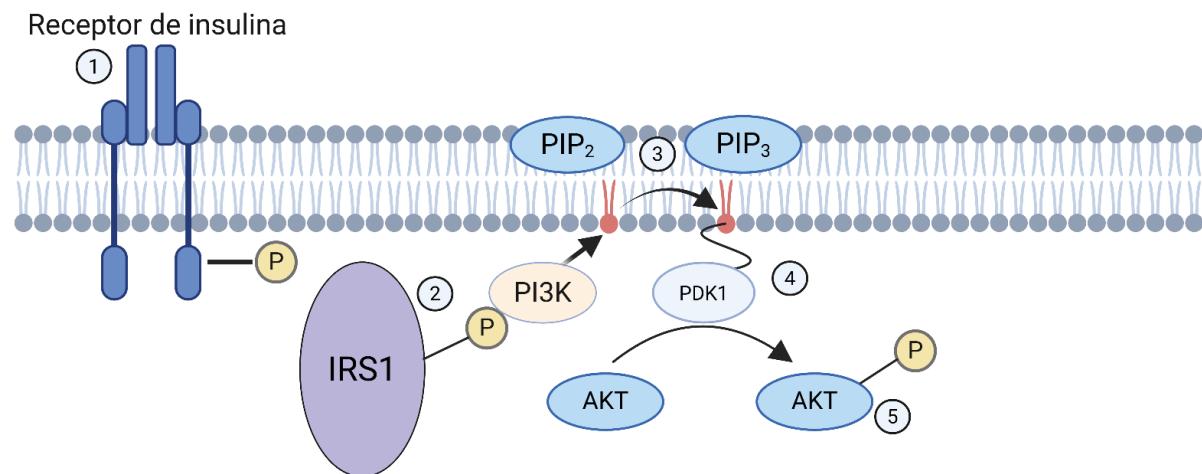


Figura 3. Via de sinalização PI3K-Akt. A sinalização da via PI3K-Akt é desencadeada a partir da ligação da insulina com o receptor específico de insulina, que autofosforila resíduos de tirosina do próprio receptor, e fosforila proteínas de IRS1 (1). As IRS fosforiladas realizam a ativação da PI3K (2), que converte o PIP2 em PIP3 (3). Essa conversão atrai e faz a ativação da PDK1 (4), enzima responsável pela fosforilação da AKT. Fonte: Adaptado de Scherer; Sakamoto; Buettner, 2021.

Diante do exposto, os prejuízos presentes na patologia do DM2 e obesidade, como por exemplo, a resistência à insulina e hiperglicemia, podem impactar negativamente o SNC, causando declínio cognitivo, neuroinflamação e prejuízo do metabolismo energético cerebral (Arnold et al., 2018; Blázquez et al., 2014; Nelson et al., 2008). Criado com BioRender.

Um outro parâmetro fisiológico de extrema importância no contexto de bioenergética cerebral, diz respeito a cadeia transportadora de elétrons (CTE) (Figura 4). Presente nas membranas internas das mitocôndrias, a CTE é um complexo sistema de enzimático responsável pela produção de adenosina trifosfato (ATP) através da fosforilação oxidativa (Zhao et al., 2019). Durante o ciclo de Krebs, são formadas moléculas de NADH e FADH₂, que sofrem oxidação na fase final do ciclo, e os elétrons provenientes dessas 2 moléculas são transportados para a CTE através dos complexos I, II, III, e IV, criando um gradiente de prótons entre a matriz mitocondrial e o espaço intermembrana, que será utilizado pela ATP sintase, para produção de ATP (Figura 4) (Nolfi-Donegan; Braganza; Shiva, 2020). Durante esse processo, também são formadas ROS, que em excesso, podem causar estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, inflamação crônica, e danos celulares (Ježek; Cooper; Strich, 2018; Venditti; Di Meo, 2020).

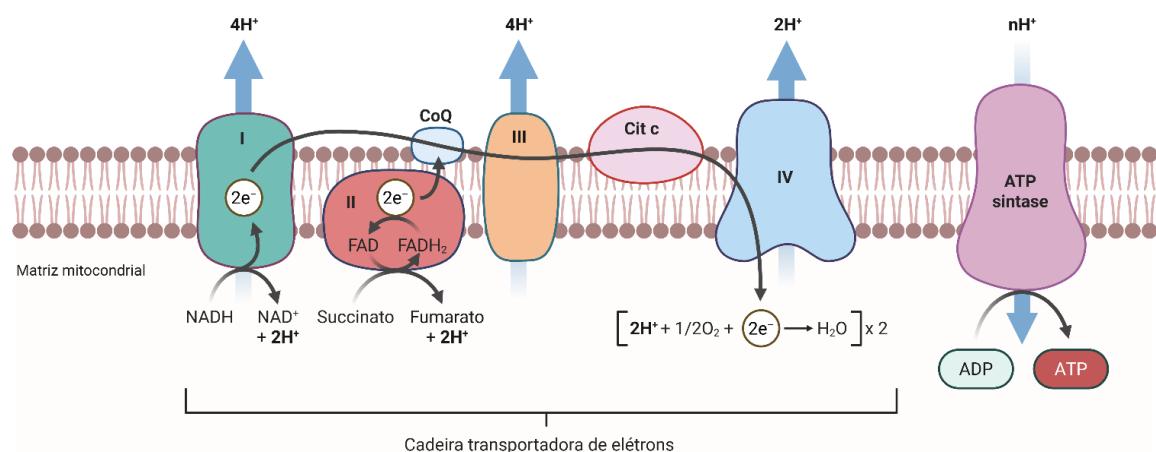


Figura 4. Representação esquemática da cadeia transportadora de elétrons. Os elétrons do NADH percorrem pelo Complexo I, e do FADH₂ pelo Complexo II, sendo transportados para o Complexo III por meio da Coenzima Q (CoQ). A transferência dos elétrons do Complexo III para o IV é feito pelo citocromo C (Cit C). No Complexo IV ocorre a redução de O₂ para formação de H₂O. Durante o percurso de elétrons ocorre o bombeamento de prótons, da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar pelos Complexos I, III, e IV, o que gera um gradiente prótons que é utilizado para que a ATP sintase converta o ADP em ATP. Fonte: Adaptado de Putman; Contreras; Mottillo, 2023. Criado com BioRender.

No contexto de DM2 e obesidade, evidências crescentes investigam as possíveis disfunções mitocondriais que prejudicam o metabolismo energético cerebral. Esses distúrbios podem resultar na diminuição da atividade enzimas da CTE, redução nos níveis de expressão de genes mitocondriais reguladores da fosforilação oxidativa, além do aumento da produção de ROS (Duarte; Moreira; Oliveira, 2012; Grillo et al.,

2009; Ritov et al., 2005). Ademais, isso pode comprometer processos neuroprotetores, reduzir a plasticidade sináptica, induzir o declínio cognitivo, e favorecer a ocorrência de doenças neurodegenerativas (Arnold et al., 2018; Peng et al., 2020; Yang et al., 2022).

1.4 ANTIDIABÉTICOS

O tratamento da DM2 envolve tanto o uso de medicamentos antidiabéticos quanto a mudança do estilo de vida. Fazem parte do tratamento farmacológico (Tabela 1) da DM2 a as sulfonilureias e as glinidas, que estimulam a secreção de insulina, as biguanidas, que reduzem a produção de glicose hepática, as tiazolidinedionas, que aumentam a sensibilidade à insulina, e a insulina para reposição direta (Dahlén et al., 2022; Lyra et al., 2024). Também são medicamentos antidiabéticos os inibidores da α -glicosidase, que atuam retardando a absorção dos carboidratos pelo intestino, diminuindo os níveis de glicose, e os inibidores do cotransportador de sódio e glicose do tipo 2 (SGLT2), que estimulam a excreção de glicose pela urina (Dahlén et al., 2022; Lyra et al., 2024; Tahrani et al., 2011).

Por último, existem os fármacos que atuam nos mecanismos relacionados com as incretinas, como os inibidores da dipeptidil peptidase 4 (DPP-4), que melhoram a ação do peptídeo semelhante ao glucagon tipo 1 (GLP-1), e os agonistas de GLP-1 e/ ou polipeptídeo insulinotrópico dependente de glicose (GIP), que diminuem a hiperglicemia, reduzem o peso, e controlam o apetite (Krentz; Patel; Bailey, 2012; Shi et al., 2023; Tahrani; Barnett; Bailey, 2016).

Tabela 1. Classes farmacológicas para o tratamento de DM2 no Brasil.

Classe	Exemplos de fármacos	Mecanismo de ação
Biguanidas	Metformina	Ativa a AMPK, melhorando o metabolismo energético, consequentemente, diminui a produção hepática de glicose e aumenta a sensibilidade à insulina.
Sulfonilureias	Glibenclamida, Gliclazida	Estimula a secreção de insulina pelas células β pancreáticas
Glinidas	Repaglinida	Estimula a secreção de insulina pelas células β pancreáticas

Tiazolidinedionas	Pioglitazona	Ativa o receptor PPAR- γ , aumenta a sensibilidade à insulina nos tecidos adiposo, muscular e hepático.
Inibidores da alfa-glicosidase	Acarbose	Inibe enzimas intestinais que degradam carboidratos, retardando a absorção de glicose e reduzindo glicemia pós-prandial.
Inibidores da DPP-4	Vitagliptina, Vildagliptina	Inibe a enzima DPP-4, prolongando a ação das incretinas (GLP-1 e GIP)
Agonistas do receptor de GLP-1	Liraglutida, Semaglutida	Mimetiza o GLP-1 endógeno, aumenta a secreção de insulina, retarda o esvaziamento gástrico e aumenta a saciedade.
Inibidores do SGLT2	Dapagliflozina, Empagliflozina	Inibe a ação do transportador de SGLT2, reduz a reabsorção de glicose renal, aumenta a excreção urinária de glicose
Agonistas duplos de GIP/GLP-1	Tirzepatida	Agonista dos receptores de GIP e GLP-1; estimula secreção de insulina, reduz peso corporal, melhora perfil lipídico e possui baixa incidência de hipoglicemias, sendo considerada segura para indivíduos não diabéticos.

Fonte: Adaptado de Lyra et al., 2024.

1.4.1 INCRETINOMIMÉTICOS COMO ESTRATÉGIA TERAPÊUTICA PARA DISTÚRBIOS DO SNC

As incretinas são hormônios intestinais liberados em resposta à ingestão de alimentos, e participam de diversas funções fisiológicas. O GIP é produzido pelas células K intestinais, e o GLP-1 pelas células L intestinais. Ambos participam da homeostase da glicose, secreção de insulina e controle do apetite (Baggio; Drucker, 2007; Nauck et al., 2021; Seino; Fukushima; Yabe, 2010). O GIP e o GLP-1 possuem receptores que são amplamente distribuídos por todo o organismo, como no cérebro, tecido adiposo e rins (Hansotia et al., 2007; Samms; Coghlan; Sloop, 2020).

As incretinas exercem seus efeitos insulinotrópicos através de receptores específicos presentes nos pâncreas, o GIPR e GLP-1R (Figura 5). Após a ligação com seus receptores, ocorre a ativação da adenilato ciclase, que aumenta os níveis de AMPc (El et al., 2021; Hammoud; Drucker, 2022; Liu, 2024). Esse aumento resulta na ativação da proteína quinase A (PKA) e da proteína de troca ativada por

AMPc (EPAC2). PKA e EPAC2 estimulam o fechamento dos canais de potássio sensíveis a ATP (KATP) facilitando a despolarização da membrana, que resulta na abertura dos canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem (VDCC), promovendo o aumento de Ca^{2+} intracelular, o que resulta na fusão de grânulos que contêm insulina com a membrana plasmática, o que libera a insulina para a circulação (Seino; Fukushima; Yabe, 2010).

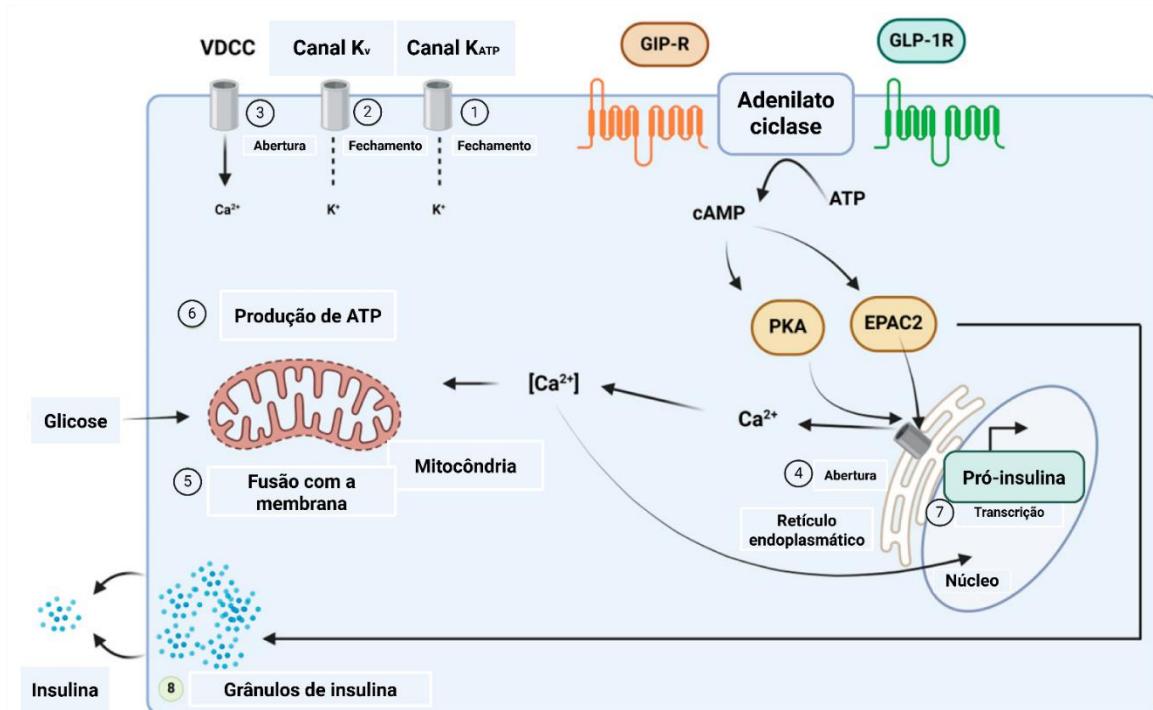


Figura 5. Mecanismo de ação de GIP e GLP-1. Após a ligação do GIP e GLP-1 aos seus receptores específicos ocorre a ativação da adenilato ciclase, que estimula a elevação de cAMP, e ativa a PKA e EPAC2. Quando ativada, a PKA promove o fechamento do canal de KATP e Kv. Assim, ocorre a despolarização da membrana, que abre o canal VDCC, e aumenta os níveis de Ca^{2+} dos estoques intracelulares por mecanismos dependentes de PKA e EPAC2. O aumento de Ca^{2+} desencadeia a fusão de grânulos de insulina com a membrana plasmática e a secreção do hormônio pelas células beta, assim como promove a transcrição do gene da pró-insulina. Fonte: Adaptado de Al Musaimi, 2024. Criado com BioRender.

Os agonistas do receptor de GLP-1 têm demonstrado potencial para tratar disfunções cognitivas em alguns estudos, por causa de suas propriedades neuroprotetoras, como a promoção da neurogênese no hipocampo (Hunter and Holscher, 2012; Wicinski et al., 2019; Kopp et al., 2022; Zhao et al., 2021). Esses medicamentos também têm a capacidade de reduzir a inflamação e melhorar a função das sinapses, o que pode ter efeitos positivos na cognição (Du et al., 2022).

Estudos pré-clínicos indicam que os agonistas do receptor de GLP-1 (Salcedo et al., 2012), como a liraglutida, podem estimular a neurogênese no hipocampo, uma região cerebral importante para a memória espacial. Além disso, outros medicamentos dessa classe, como dulaglutida e a semaglutida, podem promover a formação e a estabilização de sinapses, melhorando assim a plasticidade sináptica, facilitando a transmissão eficiente de informações e melhorando a capacidade de aprendizado e memória (Yang et al., 2019; Zhao et al., 2021; Zhou et al., 2019).

A tirzepatida (TZP), um novo incretinomimético, que além de ser agonista de GLP-1, também atua nos receptores do GIP, tem demonstrado potencial superior ao de outros medicamentos dessa classe, como a semaglutida, para o tratamento de DM2 e obesidade (Frias et al., 2021; Vadher et al., 2022). Por conta de seu agonismo duplo, a TZP promove a perda de peso, a diminuição de gordura corporal, melhora o controle da glicemia, consegue atuar reduzindo apetite, a ingestão calórica, melhora o perfil lipídico e diminui a resistência à insulina, efeitos observados em estudos com camundongos e seres humanos (Karagiannis et al., 2022; Ludvik et al., 2021; Syed, 2022; Willard et al., 2020).

Em modelos experimentais, a TZP demonstrou possuir propriedades neuroprotetoras, participando na ativação da via AKt, e de proteínas importantes para neuroplasticidade e função cerebral, como a proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMPc (CREB) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) (Fontanella et al., 2024). Em estudos com camundongos submetidos a DH, foi possível observar uma melhora significativa no aprendizado espacial e na memória, e uma diminuição de marcadores de estresse oxidativo. Ainda, em linhagem celular de neuroblastoma, foi observado um aumento de marcadores de crescimento neuronal (Delvadia et al., 2025; Guo et al., 2023; Ma et al., 2024).

Apesar disso, ainda são poucos os estudos que investigaram os possíveis efeitos neuroprotetores da TZP. Entender os efeitos dos novos incretinomiméticos na cognição e no metabolismo no SNC é de fundamental importância para determinar se eles proporcionam neuroproteção e qual o impacto exercem na cognição. Hipotetiza-se que esses medicamentos possuem potencial neuroprotetor, atuando na prevenção de déficits cognitivos, regulando a homeostasia energética central, e atenuando a neuroinflamação.

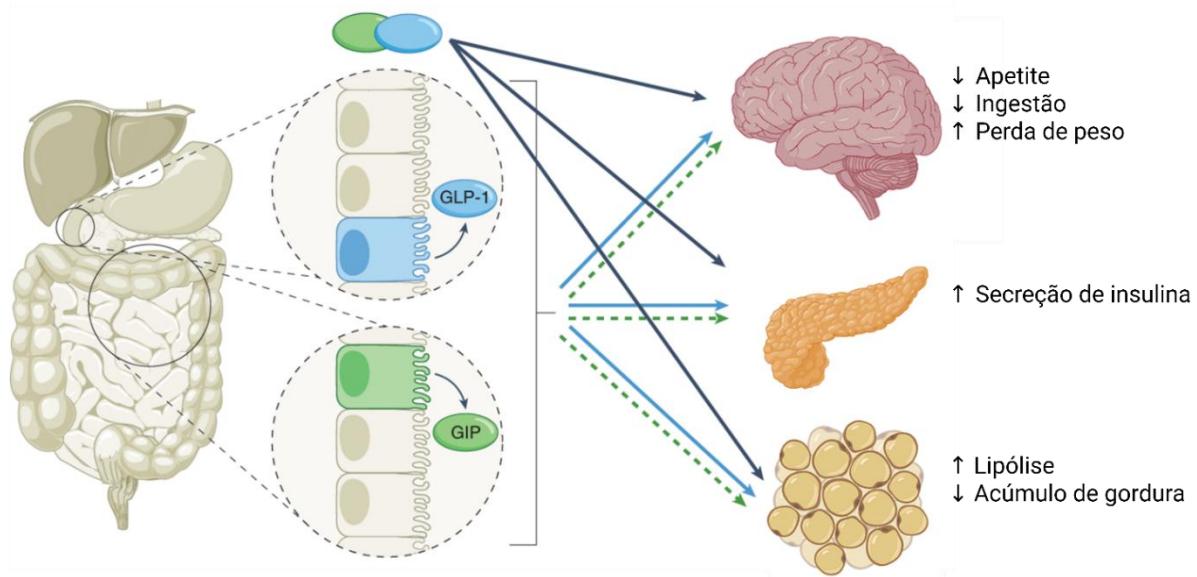


Figura 6. Efeitos da tirzepatida no organismo. A TZP exerce uma série de funções benéficas para o tratamento de DM2. Por ser um agonista duplo, esse medicamento consegue atuar em mecanismos que resultam na diminuição do apetite, da quantidade de alimentos ingeridos, e do acúmulo de gordura. Além disso, promove a perda de peso, a secreção de insulina e a lipólise. Fonte: Adaptado de Moura; Scirica; Ruff, 2022. Criado com BioRender.

Nesse contexto, existe uma lacuna importante de conhecimento: ainda são poucos os estudos que exploraram os efeitos da tirzepatida no SNC, principalmente sobre a cognição e bioenergética mitocondrial no hipocampo. Além disso, animais fêmeas ainda são pouco utilizados em modelos experimentais de diabetes e obesidade, apesar das evidências crescentes sobre a influência do dimorfismo sexual em distúrbios metabólicos. Logo, o presente estudo se diferencia ao investigar os efeitos neuroprotetores da TZP especificamente em camundongos fêmeas.

Como o potencial neuroprotetor desse medicamento ainda não foi totalmente elucidado, existe uma lacuna significativa no entendimento de seus possíveis benefícios no SNC, em especial em uma sociedade em que há aumento da prevalência de demência e de outras doenças neurodegenerativas associadas com DM 2 e obesidade.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O presente projeto teve como objetivo geral avaliar o potencial neuroprotetor da tirzepatida em camundongos fêmeas submetidos a modelo de diabetes e obesidade.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos compreenderam:

- Validar o modelo de DM2 e obesidade através da análise de peso e da tolerância à glicose;
- Avaliar a proteção da tirzepatida frente às alterações de memória induzidas por dieta hiperlipídica;
- Avaliar a proteção da tirzepatida frente ao comportamento tipo-depressivo por dieta hiperlipídica.
- Avaliar a proteção da tirzepatida frente às alterações na bioenergética mitocondrial hipocampal promovidas em modelo de dieta hiperlipídica.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Modelo animal

O presente estudo foi realizado em camundongos fêmeas C57BL/6. Os animais foram adquiridos do biotério de criação da UNICAMP e acondicionados no biotério do Núcleo de Medicina Tropical da UnB, com temperatura controlada 23- 25 °C e ciclo claro/escuro de 12h. Água e dietas foram fornecidas *ad libitum*. Todos os procedimentos realizados nos animais estavam de acordo com a Lei no 11.794/2008 e com os princípios éticos do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) (Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações, 2016), e cumpriram as diretrizes sobre cuidados com animais do Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA/UnB), ao qual o presente projeto foi submetido e aprovado antes do início da execução dos experimentos (SEI 23106.067420/2023-98 – ANEXO I).

Camundongos fêmeas (♀) C57BL/6 com 8 semanas de idade foram submetidos à alimentação com dieta controle (DC; 15% de lipídios) ou hiperlipídica (60% de lipídios) por 12 semanas (Tabela 2). Camundongos submetidos a uma DH são modelos experimentais para indução de DM2 e obesidade, já que esse tipo de dieta mimetiza o padrão de dieta alimentar ocidental rica em gordura, e consegue induzir o ganho de peso, o aumento da gordura corporal, hiperglicemia, resistência à insulina, e distúrbios metabólicos observados em ambas as doenças em humanos (Buettner; Schölmerich; Bollheimer, 2007; Hargrave; Jones; Davidson, 2016).

Tabela 2. Composição da dieta hiperlipídica 60%

Ingrediente	Porcentagem (%)
Amido de milho	15,95%
Caseina	20%
Amido dextrinizado	10%
Sacarose	10%
Oleo de soja	4%
Celulose microcristalina	5%
Mix de minerais ain 93 g	3,5%
Mix vitaminas ain 93	1%
L cistina	0,30%
Bitartarato de colina	0,25%

Butil-hidroxitolueno	0,0010%
Banha	30%

Oito semanas após a introdução da DH, os animais passaram pelo tratamento com tirzepatida (Adipogen) 10 nmol/Kg/dia por via subcutânea, conforme descrito anteriormente (Samms et al., 2021). Foi realizada a pesagem dos animais 1 vez por semana. Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais, com 10 animais cada, definido de acordo com estudos anteriores (De Bem et al., 2018; Santos et al., 2017) .

- (1) ♀ + DC + veículo;
- (2) ♀ + DH + veículo;
- (3) ♀ + DH + tirzepatida 10 nmol/Kg/dia; +

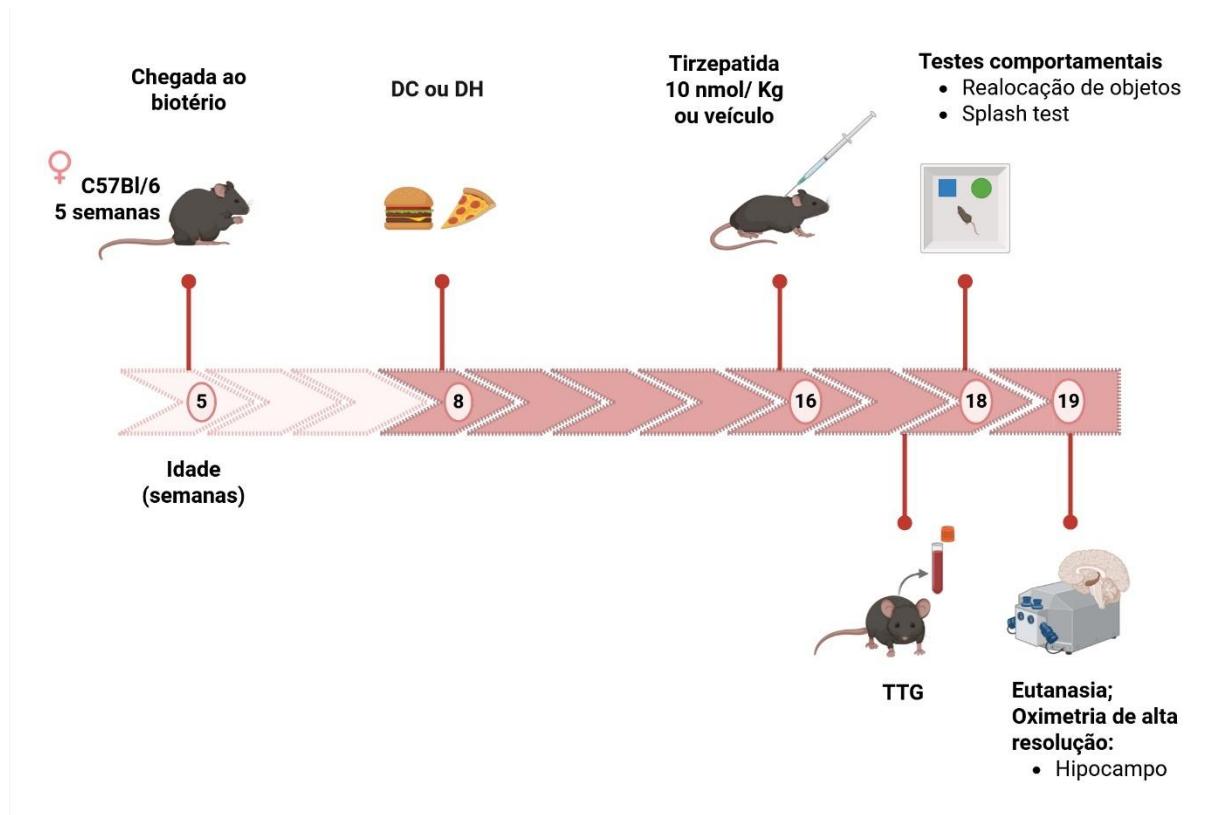


Figura 7. Protocolo experimental. Camundongos fêmeas C57BL/6 com 8 semanas de idade foram submetidos a uma DH ou DC. Após 8 semanas do início das dietas, foi feito tratamento com TZP, e, nas semanas subsequentes, realizados o TTG e testes comportamentais. Posteriormente, foi realizada a eutanásia e coleta de hipocampo para realização da oximetria de alta resolução. Fonte: do autor. Criado com BioRender.

3.2 Teste de tolerância à glicose (TTG)

Foi realizado após um jejum de 6 horas, sem restrição hídrica. Os testes foram conduzidos após 14 dias de tratamento farmacológico. Amostras de sangue caudal foram coletadas para determinar a glicose basal (tempo 0 min) e, em seguida, os animais receberam uma injeção intraperitoneal de glicose (2g/kg), para o TTG. As amostras de sangue caudal foram coletadas 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após a injeção de glicose e analisadas com tiras reativas em um glicosímetro (Accu Chek, modelo Active, Roche).

3.3 Avaliações comportamentais

Todos os aparelhos utilizados durante os testes comportamentais foram higienizados com álcool 70% entre os testes com cada animal, para evitar influências relacionadas com odores ou rastros pelos animais. Os animais permaneceram em ambiente controlado, sem restrição de água ou alimento, exceto durante o TTG, que seguiu protocolo de jejum de 6 horas. Para ambientação, os animais mantidos por 30 minutos na sala de realização do teste antes do início do mesmo, com ambiente controlado de luminosidade e ruído reduzido.

O presente estudo seguiu as diretrizes internacionais ARRIVE (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments), para realização dos testes experimentais.

3.3.1 Teste de realocação de objeto (TRLO)

O teste foi conduzido 24 horas após a exposição inicial à arena como etapa de habituação. Durante a sessão de treino, os animais foram colocados no centro da arena contendo dois objetos idênticos posicionados paralelamente, e tiveram 10 minutos para explorar livremente os objetos. Após essa fase de treino, os camundongos foram removidos da arena e mantidos em repouso por uma hora e meia. Após o intervalo entre o treino e o teste, um dos objetos foi movido para uma nova posição na arena. Em seguida, os camundongos foram reintroduzidos na arena e tiveram 10 minutos para explorar novamente os objetos. O tempo gasto

na exploração do objeto realocado (R) e do objeto não realocado (NR) foi registrado manualmente. Para avaliar a memória espacial, foi calculado um índice de localização (IL) usando a seguinte equação: $IL = TR * 100 / (TR + TNR)$, onde TR representa o tempo de exploração do objeto realocado e TNR representa o tempo de exploração do objeto não realocado. Esse índice de localização proporciona uma medida quantitativa da capacidade dos camundongos em reconhecer e preferencialmente explorar o objeto que foi movido para uma nova posição, em comparação com o objeto que permaneceu no mesmo local(Vogel-Ciernia; Wood, 2014).

3.3.2 *Splash test*

Uma solução de sacarose a 10% foi borrifada no dorso dos camundongos, que foram colocados individualmente em um aparato transparente para observação do comportamento de autolimpeza. A latência para início e a duração da autolimpeza foram registrados manualmente por 5 minutos. Esse modelo foi usado para avaliar comportamentos do tipo depressivo, já que camundongos com sintomas depressivos tendem a demorar mais para iniciar a limpeza e apresentam menor atividade de autolimpeza (Powell; Fernandes; Schalkwyk, 2012)

3.5 Oximetria de alta resolução

O consumo de oxigênio (O_2) foi avaliado por meio da Respirometria em Alta Resolução (RAR), utilizando um respirômetro Oxygraph-2k (Oroboros Instruments, Innsbruck, Áustria) de acordo com protocolos anteriores (Dias et al., 2018, 2025). Os animais foram eutanasiados utilizando o anestésico isoflurano e em seguida submetidos ao deslocamento cervical.

Foram coletados os hipocampos dos dois hemisférios cerebrais de cada animal, e feita a homogeneização em 300uL de meio de reação (MR: sacarose 125 mM, KCl 65 mM, K_2HPO_4 2 mM, $MgCl_2$ 1 mM, Hepes 10 mM, EGTA 0,2 mM) usando um homogeneizador tipo Dounce de 5 mL, feito de vidro-teflon. Aproximadamente 0,200 mg/mL de amostra foi colocada no respirômetro contendo 2 mL de MR e, em seguida, foram adicionados alguns substratos para avaliar as condições respiratórias de cada tecido. Foram adicionados piruvato + malato (PM: 5 e 2,5 mM) + succinato

(S: 10 mM) para avaliar o sistema de transporte de elétrons (ETS), através de substratos ligados ao complexo 1 e 2, respectivamente. O estado fosforilante foi avaliado após a adição de adenosina difosfato (ADP: 500 µM) e o vazamento de prótons após a adição de oligomicina (OMY: 0,1 µg/mL). A capacidade respiratória máxima foi avaliada após a titulação com cianeto de carbonila 3-clorofenil-hidrazona (CCCP: concentração final de 1-3 µM).

3.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o programa estatístico Prisma GraphPad Prism 8. Os dados estão apresentados como média ± erro padrão da média. Antes de realizar cada comparação, foi feita uma avaliação da normalidade dos dados, pelos testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov, tendo sido verificada uma distribuição normal. Os dados de peso, TTG e oximetria foram submetidos ao teste de outlier de Grubbs e os dados dos testes comportamentais ao teste de outlier pelo intervalo interquartil. Valores que representavam outliers foram excluídos das análises. No teste de realocação de objetos, animais que apresentaram preferência intrínseca a um dos objetos no treino (mais de 2/3 do tempo explorando um dos objetos) também foram excluídos das análises. Os dados de massa corporal e TTG foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias. Os dados de realocação de objetos foram analisados por teste t contra valor hipotético de 50%. Os dados de *splash test* e oximetria de alta resolução foram analisados por ANOVA de uma via.

4. RESULTADOS

4.1 A tirzepatida consegue reverter o ganho de peso induzido por DH

A introdução da DH influenciou de forma distinta o ganho de massa corporal entre os 2 grupos alimentados com a DH. Um dos grupos teve um ganho de peso mais significativo no decorrer das 8 primeiras semanas. Para retirar o possível viés, tal grupo foi submetido ao tratamento com tirzepatida, e houve uma redução significativa do peso quando comparado com o grupo DH (Figura 8A). Ao final do protocolo de pesagem, o grupo DH registrou um peso significativamente superior em relação ao grupo Controle (Figura 8B).

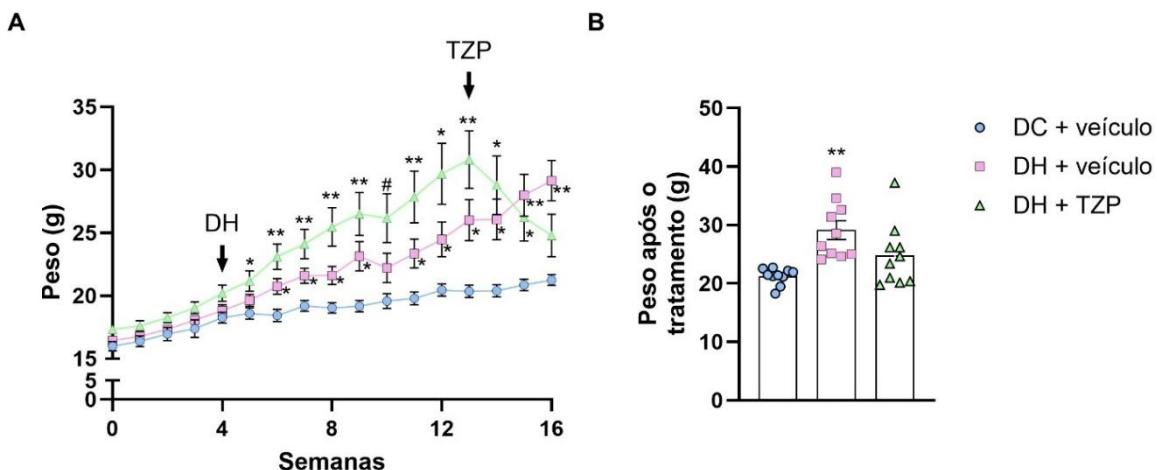


Figura 8. Peso dos camundongos C57Bl/6 durante o protocolo experimental. A: Peso dos animais ao longo do experimento. B: Comparação do peso entre os grupos antes da eutanásia. * $p<0,05$ vs CD; ** $p<0,01$ vs CD; # $p<0,05$ vs DH. Dados analisados por ANOVA de duas vias (A) ou ANOVA de uma via (B), $n = 10$.

4.2 A tirzepatida reduz a hiperglicemia induzida pela DH.

O grupo DH teve um aumento significativo nos valores de glicose durante os tempos de estímulo do TTG (Figura 9A), aumento da área sob a curva (ASC, Figura 9B) e um aumento da glicemia basal após jejum de 6 h (Figura 9C) quando comparado ao grupo DC. O grupo DH + TZP teve uma redução nos

parâmetros do TTG, ASC e glicemia basal em relação ao grupo DH, sugerindo que a TZP conseguiu reverter a hiperglicemia causada pela DH.

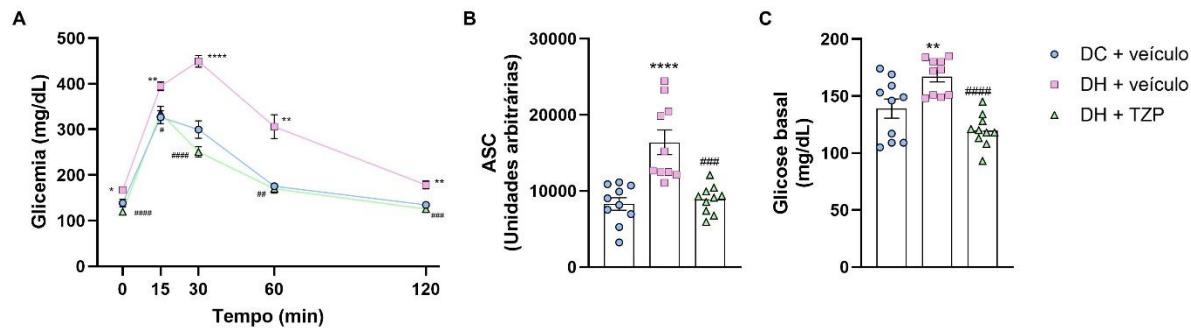


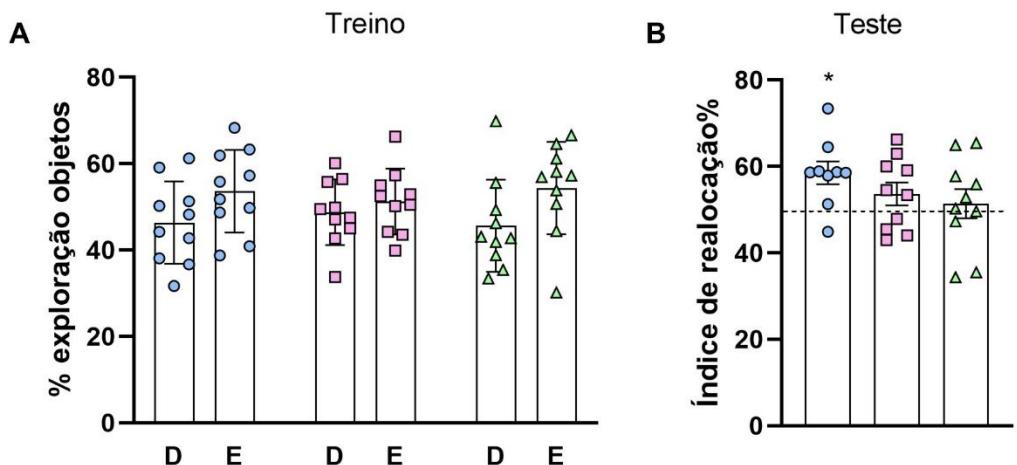
Figura 9. T Efeitos da TZP na glicemia e no teste de tolerância à glicose em modelos de DM2 e obesidade. A: Níveis de glicemia basal e nos tempos de 0, 15, 30, 60 e 120 minutos após o estímulo com glicose. **B:** Área sob a curva do teste de tolerância à glicose. **C:** Glicose basal dos animais. *p<0,05 vs CD; **p<0,01 vs CD; ***p<0,0001 vs CD; #p<0,001 vs DH; e #####p<0,0001 vs DH. Dados analisados por ANOVA de uma via, n = 10.

4.3 A tirzepatida não consegue reverter o déficit de memória e o comportamento do tipo depressivo induzidos por DH.

O teste de realocação do objeto funciona como um modelo para avaliação da memória espacial de animais. No teste, um objeto que já foi explorado pelo animal em uma fase inicial, é realocado em uma diferente localização (Vogel-Ciernia; Wood, 2014). O grupo DC teve um índice de realocação com valor maior que 50%, sugerindo que esse grupo teve a memória espacial preservada durante o teste. Os grupos DH e DH + TZP apresentaram índice de realocação semelhante a 50%, sugerindo que a DH induziu comprometimento de memória espacial nesses 2 grupos, ou seja, a DH induziu comprometimento cognitivo. Os animais submetidos à DH e tratados com TZP também apresentaram déficit cognitivo, sugerindo que o fármaco não foi capaz de reverter esse desfecho (Figura 10B).

No *splash test*, os grupos DH + veículo e DH + TZP tiveram uma grande redução no tempo de comportamento de autolimpeza em relação ao grupo DC (Figura 10C), sugerindo uma indução de comportamento do tipo depressivo pela DH, que não foi revertido pela TZP. Não houve alteração na latência para iniciar o comportamento de autolimpeza entre os grupos (Figura 10D).

Teste de Realocação de Objetos



Splash test

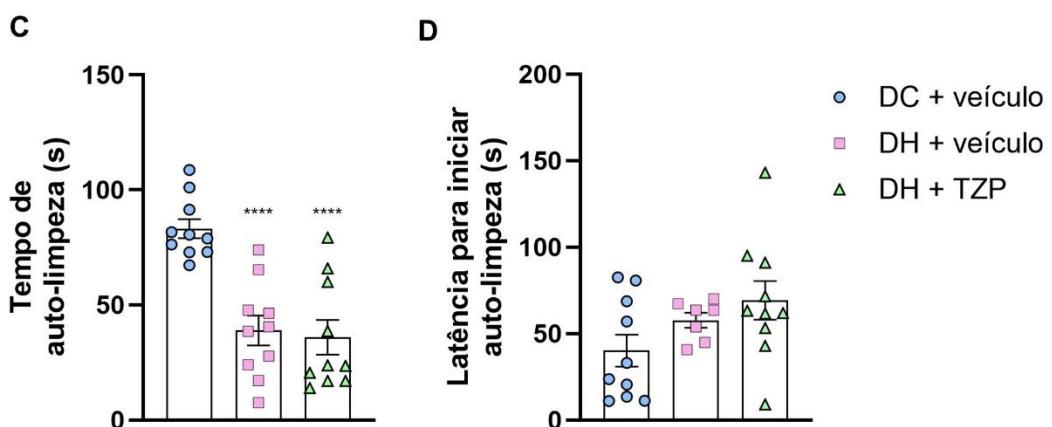


Figura 10. Efeitos da TZP nos testes comportamentais em modelos de DM2 e obesidade. **A:** Porcentagem de exploração dos objetos na fase de treino, no teste de realocação do objeto. **B:** Índice de realocação na fase de teste, no teste de realocação do objeto. **C:** Tempo (segundos) de auto-limpeza no *splash test*. **D:** Latência para início da auto-limpeza no *splash test*. * $p<0,05$ vs 50%, no teste de realocação de objetos; *** $p<0,0001$ vs CD. Dados analisados por teste t vs 50% (A, B) ou ANOVA de uma via (C, D), $n = 10$.

4.4 Não houve alteração da bioenergética mitocondrial hipocampal

A RAR foi realizada para avaliar os estados respiratórios mitocondriais das amostras de hipocampo dos animais, que foram processadas em homogenatos.

Nas figuras 11 A e B, é possível observar que a DH e a TZP não exerceram influências significativas no metabolismo energético relacionados com os complexos I e II, quando comparados com o grupo DC e entre si. O estado fosforilante (OXPHOS) não sofreu influências relevantes pelo tipo de dieta ou pelo tratamento com TZP (Figura 11 C). Os parâmetros de capacidade respiratória máxima (Figura 11 D) e consumo de oxigênio ligado à ATP-sintase (Figura 11 E) também não apresentaram diferenças relevantes entre os grupos experimentais.

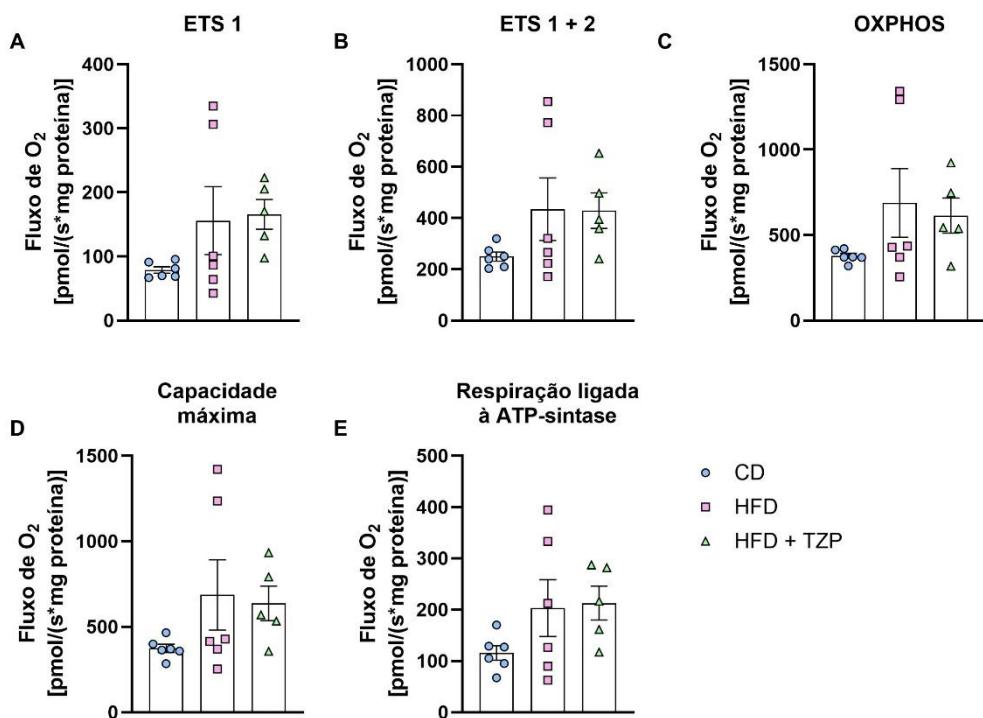


Figura 11. Efeitos da TZP na bioenergética mitocondrial do hipocampo em modelos de DM2 e obesidade. A: Substratos ligados ao complexo 1. B: Substratos ligados aos complexos 1 e 2. C: OXPHOS. D: Capacidade respiratória máxima. E: Consumo de oxigênio ligado à ATP-sintase. ETS 1 (PM), ETS 1+2 (PM+S), OXPHOS (ADP), Capacidade máxima (CCCP). Dados analisados por ANOVA de uma via (C, D), n = 6.

5. DISCUSSÃO

O presente estudo investigou se a TZP pode exercer efeitos metabólicos na bioenergética cerebral, bem como na memória espacial e no comportamento do tipo depressivo em modelo animal de DM2 e obesidade. Para isso, camundongos fêmeas C57BL/7 foram submetidos a uma dieta rica em gordura para indução de DM2 e obesidade. Além dos possíveis efeitos no SNC, foram avaliados o ganho de peso e a glicemia dos animais. Dentre os resultados, a TZP conseguiu diminuir o ganho de peso dos animais submetidos à DH, e reverter a tolerância à glicose no TTG. Entretanto, o fármaco não conseguiu reverter os possíveis prejuízos na memória, e nem a indução do comportamento do tipo depressivo nos grupos submetido à DH. Além disso, nem o modelo e nem o tratamento proposto foram capazes de originar alterações na respiração mitocondrial em homogenatos de hipocampo. Um modelo experimental bem estabelecido para induzir DM2 e obesidade em camundongos é através do uso de DH, uma vez que, esse tipo de dieta consegue induzir o aumento do peso, o acúmulo de gordura nos tecidos, hiperlemicia persistente, e aumento de marcadores inflamatórios periféricos (Borozdina et al., 2024; Parkman et al., 2021; Surwit et al., 1988). Além dos efeitos periféricos, as DH conseguem afetar o SNC, já que, diversos estudos relataram que camundongos alimentados com esse tipo de dieta apresentaram uma piora no desempenho em testes comportamentais de memória e uma indução de comportamento do tipo depressivo (De Paula et al., 2021; Vagena et al., 2019; Zhuang et al., 2022)

O modelo de DM2 e obesidade foi reproduzido eficientemente no estudo, já que os grupos submetidos à DH tiveram um aumento de peso superior quando comparados ao grupo controle, e um aumento nos níveis da glicose no TTG, corroborando com os resultados que já eram esperados de acordo com outros estudos (Chen et al., 2025; Hoffler et al., 2009; Winzell; Ahrén, 2004). O grupo tratado com a TZP apresentou uma redução no peso no decorrer das semanas de tratamento em relação ao grupo tratado somente com veículo, o que está de acordo com os achados da literatura sobre eficácia da TZP na perda de peso em camundongos e indivíduos com obesidade. Esse efeito parece estar relacionado com a ação da TZP em várias vias fisiológicas relacionadas com a ingestão alimentar, com o apetite e o gasto energético, mecanismos mediados, principalmente, pelo hipotálamo e por hormônios

intestinais, como as incretinas GLP-1 e GIP (Aronne et al., 2025; Farooqi, 2022; Gan; Cerbone; Dattani, 2024; Sahu, 2004).

Além da redução de peso, a TZP conseguiu reduzir de forma significativa a glicemia basal, aumentada no grupo submetido à DH. Esse fato reforça a evidência de eficácia da TZP no tratamento de diabetes, já que, por ser um agonista duplo dos receptores de GLP-1 e GIP, ela consegue atuar na melhora da síntese e sensibilidade da ação da insulina, mecanismo que é prejudicado na DM2 (Ludvik et al., 2021; Moura; Scirica; Ruff, 2022; Syed, 2022).

A TZP aparentemente atua também no metabolismo lipídico, já que diferentes doses do fármaco conseguiram reduzir os níveis de triglicerídeos, colesterol total, LDL, e aumentar os níveis de HDL de pacientes obesos e com DM2 (Mahar et al., 2024; Mather et al., 2024; Ruotolo et al., 2020). Entretanto, a confirmação dessa ação é um fator limitante do presente estudo, já que não foram realizadas as dosagens dos níveis séricos desses lipídios dos animais.

Referente ainda aos efeitos periféricos de incretinomiméticos, foi observado em outros trabalhos que a semaglutida conseguiu melhorar a eficiência mitocondrial do coração, fígado e músculo esquelético em modelos de diabetes e obesidade (Choi et al., 2025; Ma et al., 2024; Zhu et al., 2025), o que corrobora com os possíveis efeitos que a TZP pode exercer na bioenergética mitocondrial. No estudo de Ravussin et al., 2025, foi observado que a TZP pode atuar no metabolismo energético, aumentando a oxidação de gorduras, de acordo com resultados obtidos através da avaliação de troca respiratória, um tipo de método que consegue estimar se o gasto energético está utilizando mais carboidratos ou lipídeos (Frayn, 1983). Entretanto, ainda existem poucos estudos que abordaram de forma mais profunda o papel da TZP no contexto de metabolismo e bioenergética.

Já é bem definido que doenças metabólicas podem ser marcadas pelo aumento de marcadores inflamatórios periféricos, como a infiltração de macrófagos no tecido adiposo, e consequentemente uma maior liberação de TNF- α , IL-1 β e IL-6, o que pode contribuir para o aumento da resistência à insulina, ou seja, disfunções relacionadas com DM2 e obesidade (Esser et al., 2014; Reddy et al., 2019; Rohm et al., 2022) Alguns trabalhos investigaram se a TZP consegue atuar diminuindo biomarcadores inflamatórios em modelos murinos e humanos, dentre os achados foi relatado que o incretinomimético reduziu os níveis de TNF- α , IL-6, PCR, e a Molécula de Adesão Intercelular-1 (ICAM-1) (Sattar et al., 2024; Wilson et al., 2022; Xia et al., 2024). Apesar

dos avanços, ainda existem muitas lacunas de conhecimento envolvendo os marcadores inflamatórios e outros efeitos sistêmicos que podem ser influenciados pela TZP, o que servirá de base para perspectivas futuras do estudo.

Entretanto, sabe-se que marcadores periféricos, aumentados em distúrbios do metabolismo, podem promover disfunções na BHE (Enache; Pariante; Mondelli, 2019; Lai et al., 2017; Ponce-Lopez, 2025), e consequentemente causar alterações no SNC. Nesse contexto, o uso de DH também é capaz de induzir declínios cognitivos, reproduzindo déficits na memória espacial, aprendizagem e indução do comportamento do tipo depressivo em modelos animais (Abbott et al., 2019; Mackey-Alfonso et al., 2024; Martínez-Orozco et al., 2022). Baseado nesses modelos de estudo, o presente trabalho realizou avaliações comportamentais para investigar se a TZP conseguia reverter o prejuízo da memória espacial e o comportamento do tipo depressivo nos animais submetidos à DH. De acordo com os resultados obtidos no teste de realocação do objeto, o grupo controle apresentou o comportamento de aprendizagem e memória relacionada com o objeto realocado intacto, validando o modelo experimental. A DH, por sua vez, induziu déficit na memória espacial. Entretanto, a TZP não conseguiu reverter o déficit de memória induzido pela DH.

No estudo conduzido por Guo e colaboradores (Guo et al., 2023) foi realizado o teste do Labirinto Aquático de Morris (LAM) em modelo animal submetidos à DH, e tratado com TZP. De maneira diferente do presente estudo, o teor de gordura da DH no trabalho de Guo e colaboradores (Guo et al., 2023) foi menor, foram utilizados ratos Sprague Dawley, e foi usada uma droga tóxica para indução de diabetes, a streptozotocina. Contudo, foi observada uma melhora significativa no grupo tratado com a TZP em comparação ao grupo submetido à dieta rica em gordura. Apesar de avaliar parâmetros relacionados com a memória espacial e áreas do hipocampo, o LAM é mais estressante, feito em um ambiente diferente do habitual dos animais, e, consequentemente, pode exercer diferentes estímulos em subáreas específicas do hipocampo (Othman; Hassan; Has, 2022; Vorhees; Williams, 2006). Ademais, houve diferenças consideráveis no modelo, o que pode ter dificultado a visualização de um efeito da TZP no presente estudo. Além disso, o LAM avalia uma memória forma de memória espacial de longo prazo mais consolidada, que pode envolver vias moleculares diferentes em relação ao teste de realocação do objeto, que depende da memória de curta duração.

O comportamento do tipo-depressivo também pode ser induzido por DH e avaliado pelo *splash test*, teste usado e padronizado em outros estudos (Deal et al., 2020; Isingrini et al., 2010; SCHELL et al., 2022; Zhuang et al., 2022). Já foi observada uma redução no início e frequência de autolimpeza dos camundongos submetidos à DH, o que caracteriza sintomas semelhantes aos de anedonia e desmotivação, uma vez que a tendência natural dos animais é de iniciar rapidamente a auto higiene ou *grooming*. No presente estudo, foi observado que apesar da indução do comportamento tipo-depressivo por DH, não houve modulação pela TZP. Uma perspectiva futura para avaliar de forma mais abrangente se a TZP não consegue atuar nesse comportamento, será a realização do teste do nado forçado, para avaliação de sintomas depressivos (Powell; Fernandes; Schalkwyk, 2012), e os testes do campo aberto e labirinto em cruz elevado, para investigação da atividade locomotora e ansiedade, respectivamente (Ying et al., 2024).

Outros estudos relataram melhoras cognitivas por outros incretinomiméticos, agonistas de GLP-1, como a liraglutida, na reversão de danos na memória em modelos de danos cerebrais (Bader et al., 2020) e da semaglutida, na melhora de sintomas depressivos e ansiosos (De Paiva et al., 2024), e melhoria no desempenho cognitivo.

Apesar de não terem sido encontrados efeitos neuroprotetores da TZP relacionados com testes comportamentais, o alto teor de gorduras da dieta pode ter sido um intenso fator limitante do estudo, já que talvez fosse necessário um maior tempo de tratamento com o fármaco para observação de melhorias nos testes comportamentais. Já foi relatado que a TZP pode exercer outros efeitos neuroprotetores relacionado com vias moleculares e componentes celulares (Fontanella et al., 2024; Guo et al., 2023; Hassan et al., 2024; Yang et al., 2024), perspectivas que serão investigadas futuramente.

Na análise da bioenergética mitocondrial hipocampal do atual estudo, não foram encontradas diferenças relevantes entre os grupos, relacionadas com o consumo de oxigênio associadas ao complexo I, complexo II, ao estado fosforilante, nem à capacidade respiratória máxima ou respiração acoplada à síntese de ATP. Apesar disso, é o primeiro estudo que avaliou a bioenergética do hipocampo em relação ao uso de incretinomiméticos. O tempo de exposição à dieta e o seu teor de lipídios podem não ter sido o suficiente para induzir disfunções mitocondriais no SNC ou, ainda, especificamente no hipocampo. Ademais, apesar de rica em gordura, a DH

60% pode influenciar de forma diferente a bioenergética cerebral, quando comparada com a dieta ocidental (DO). O alto teor de lipídios é determinante para rápida indução de obesidade e DM2, porém, para afetar a bioenergética do SNC talvez seja necessário um intervalo maior de exposição a esse tipo de dieta. A DO possui um teor menor de gordura, aproximadamente 40% de lipídeos, uma quantidade superior de glicose em relação à DH, e se assemelha mais com a alimentação humana (Hariri; Thibault, 2010). A DO pode induzir disfunções mais atenuadas no SNC (Beilharz; Maniam; Morris, 2016; Bello et al., 2020), entretanto demanda de um maior tempo para indução de doenças metabólicas, logo, a associação entre o tempo de exposição e o teor de gordura da DH pode ter influenciado e limitado algumas das hipóteses do estudo. É possível também, que as alterações induzidas pela DH no hipocampo envolvam danos estruturais permanentes, o que poderia explicar a ausência de resposta aos efeitos neuroprotetores da tirzepatida.

É ainda importante ressaltar que o presente estudo foi conduzido em fêmeas, enquanto diversos estudos são conduzidos em machos. A preferência pelo uso de camundongos machos em modelos de diabetes e obesidade se dá pelo fato de que animais machos não sofrem influência de intensas variações hormonais decorrentes de ciclos reprodutivos, o que aumenta a reproduzibilidade de protocolos experimentais. Sendo assim, os machos possuem comportamentos mais padronizados de alimentação, com isso tendem a ganhar mais peso e desenvolver resistência à insulina de forma mais rápida com o uso de DH. Por outro lado, não representam tão bem a variabilidade interindividual que ocorre em humanos, sendo de extrema importância conduzir experimentos em fêmeas ou com a avaliação de ambos os sexos (De Souza; Wasinski; Donato, 2022; Ingvorsen; Karp; Lelliott, 2017).

Além das diferenças citadas, outros fatores podem ser influenciados de forma distinta em relação ao dimorfismo sexual, como no acúmulo de gordura, que é mais acumulada na forma subcutânea em fêmeas, e na forma visceral em machos; na quantidade de massa muscular, que é maior em machos; no metabolismo basal, que é mais rápido no sexo masculino; e regulação do apetite, normalmente mais controlada e inibida nas fêmeas (Casimiro et al., 2020; Clegg et al., 2006; Herz et al., 2021; Mauvais-Jarvis, 2015).

Camundongos fêmeas possuem níveis de estrogênios mais elevados do que machos, o que resulta em uma maior ação termogênica pelo tecido adiposo marrom, promoção de uma maior proteção no metabolismo energético, e influência direta na

ingestão alimentar e gasto calórico de acordo com as fases do ciclo reprodutivo (Casimiro et al., 2020; Mauvais-Jarvis, 2015). Estudos relataram efeitos protetores contra disfunções metabólicas exercidos por estrogênios em camundongos fêmeas, envolvendo principalmente mecanismos fisiológicos do tecido adiposo (Herz et al., 2021; Pettersson et al., 2012).

Diante do exposto, o dimorfismo sexual é um fator extremamente relevante a ser considerado em estudos que envolvem DH, modelos de DM2 e obesidade. A influência protetora dos estrogênios pode ter contribuído para os dados obtidos no estudo, o que pode ter impactado os testes comportamentais e avaliações metabólicas, sendo um ponto limitador que reforça a ideia da importância da realização dos estudos com a TZP em ambos os sexos.

6. CONCLUSÃO

No presente estudo, foram demonstrados os impactos que a DH pode exercer no metabolismo em modelos de DM2 e obesidade, assim como os impactos relacionados no SNC, como comprometimento da memória e indução do comportamento do tipo depressivo. Além disso, foi observado os efeitos benéficos da TZP na redução do peso e melhora da hiperglicemia induzidos pela DH em camundongos fêmeas, apesar do fármaco não ter sido capaz de reverter o déficit de memória e o comportamento tipo-depressivo. Em resumo, como perspectivas futuras, estão a condução de experimentos em animais machos, a realização de outros testes comportamentais e a realização de experimentos que envolvam análises histológicas e moleculares para uma maior compreensão das possíveis ações neuroprotetoras da tirzepatida.

REFERÊNCIAS

ABBOTT, Kirsten N. *et al.* The effect of high fat, high sugar, and combined high fat-high sugar diets on spatial learning and memory in rodents: A meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, v. 107, p. 399–421, 1 dez. 2019.

AL MUSAIMI, Othman. Exploring FDA-Approved Frontiers: Insights into Natural and Engineered Peptide Analogues in the GLP-1, GIP, GHRH, CCK, ACTH, and α-MSH Realms. *Biomolecules*, v. 14, n. 3, 1 mar. 2024.

AL-ONAIZI, Mohammed *et al.* Glucose intolerance induces anxiety-like behaviors independent of obesity and insulin resistance in a novel model of nutritional metabolic stress. *bioRxiv*, p. 2023.08.17.553760, 20 ago. 2023.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, v. 34, n. Supplement_1, p. S62–S69, jan. 2011.

ARNOLD, Steven E. *et al.* Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: concepts and conundrums. *Nature reviews. Neurology*, v. 14, n. 3, p. 168, 1 mar. 2018.

ARONNE, Louis J. *et al.* Tirzepatide as Compared with Semaglutide for the Treatment of Obesity. *New England Journal of Medicine*, 3 jul. 2025.

BADER, Miaad *et al.* Neuroprotective Effects and Treatment Potential of Incretin Mimetics in a Murine Model of Mild Traumatic Brain Injury. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, v. 7, p. 356, 10 jan. 2020.

BAGGIO, Laurie L.; DRUCKER, Daniel J. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*, v. 132, n. 6, p. 2131–2157, 2007.

BARNES, J. Aaron *et al.* Epidemiology and risk of amputation in patients with diabetes mellitus and peripheral artery disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, v. 40, n. 8, p. 1808–1817, 1 ago. 2020.

BEILHARZ, J. E.; MANIAM, J.; MORRIS, M. J. Short-term exposure to a diet high in fat and sugar, or liquid sugar, selectively impairs hippocampal-dependent memory, with differential impacts on inflammation. *Behavioural Brain Research*, v. 306, p. 1–7, 1 jun. 2016.

BELLO, Nicholas T. *et al.* Western Diet: Implications for Brain Function and Behavior. *Frontiers in Psychology*, v. 11, p. 564413, 23 nov. 2020.

BLÁZQUEZ, Enrique *et al.* Insulin in the Brain: Its Pathophysiological Implications for States Related with Central Insulin Resistance, Type 2 Diabetes and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Endocrinology*, v. 5, n. OCT, p. 161, 2014.

BORDONE, Melina Paula *et al.* The energetic brain – A review from students to students. *Journal of Neurochemistry*, v. 151, n. 2, p. 139–165, 1 out. 2019.

BOROZDINA, N. A. *et al.* Characterization of Risk Factors for Modeling of Type 2 Diabetes Mellitus Induced by a High-Fat Diet in C57BL/6 Mice. *Bulletin of experimental biology and medicine*, v. 176, n. 4, p. 461–465, 1 fev. 2024.

BUETTNER, Roland; SCHÖLMERICH, Jürgen; BOLLHEIMER, L. Cornelius. High-fat Diets: Modeling the Metabolic Disorders of Human Obesity in Rodents. *Obesity*, v. 15, n. 4, p. 798–808, 1 abr. 2007.

CAMINA, Eduardo; GÜELL, Francisco. The neuroanatomical, neurophysiological and psychological basis of memory: Current models and their origins. *Frontiers in Pharmacology*, v. 8, n. JUN, p. 260416, 30 jun. 2017.

CASIMIRO, Isabel et al. Phenotypic sexual dimorphism in response to dietary fat manipulation in C57BL/6J mice. *Journal of diabetes and its complications*, 18 jun. 2020.

CHEN, Dan et al. A high-fat diet impairs mitochondrial biogenesis, mitochondrial dynamics, and the respiratory chain complex in rat myocardial tissues. *Journal of Cellular Biochemistry*, v. 119, n. 11, p. 9602, 1 nov. 2018.

CHEN, Xingtong et al. [Construction of a mouse model of type 2 diabetes induced by high fat diet alone and evaluation of pathological changes]. *Sheng li xue bao : [Acta physiologica Sinica]*, v. 76 3, n. 5, p. 385–393, 1 mar. 2025.

CHOI, Ran Hee et al. Semaglutide-induced weight loss improves mitochondrial energy efficiency in skeletal muscle. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, v. 33, n. 5, p. 974, 1 maio 2025.

CIOFFI, Federica et al. Altered Mitochondrial Quality Control in Rats with Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) Induced by High-Fat Feeding. *Genes* 2022, Vol. 13, Page 315, v. 13, n. 2, p. 315, 8 fev. 2022.

CLEGG, Deborah J. et al. Gonadal Hormones Determine Sensitivity to Central Leptin and Insulin. *Diabetes*, v. 55, n. 4, p. 978–987, 1 abr. 2006.

COOK, Derek G. et al. C-reactive protein concentration in children: relationship to adiposity and other cardiovascular risk factorsAtherosclerosis. [S.l.: S.n.]. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/atherosclerosis>.

COWAN, Nelson. The many faces of working memory and short-term storage. *Psychonomic Bulletin and Review*, v. 24, n. 4, p. 1158–1170, 28 nov. 2017.

DAHLÉN, Amelia D. et al. Trends in Antidiabetic Drug Discovery: FDA Approved Drugs, New Drugs in Clinical Trials and Global Sales. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, p. 807548, 19 jan. 2022.

DE BEM, Grazielle Freitas *et al.* Euterpe oleracea Mart. (açaí) seed extract associated with exercise training reduces hepatic steatosis in type 2 diabetic male rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 52, p. 70–81, 1 fev. 2018.

DE MUTSERT, Renée *et al.* Associations of Abdominal Subcutaneous and Visceral Fat with Insulin Resistance and Secretion Differ Between Men and Women: The Netherlands Epidemiology of Obesity Study. *Metabolic syndrome and related disorders*, v. 16 1, n. 1, p. 54–63, 1 fev. 2018.

DE PAIVA, Igor Henrique Rodrigues *et al.* Semaglutide Attenuates Anxious and Depressive-Like Behaviors and Reverses the Cognitive Impairment in a Type 2 Diabetes Mellitus Mouse Model Via the Microbiota-Gut-Brain Axis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology* 2024 19:1, v. 19, n. 1, p. 1–26, 23 jul. 2024.

DE PAULA, Gabriela Cristina *et al.* Hippocampal Function Is Impaired by a Short-Term High-Fat Diet in Mice: Increased Blood–Brain Barrier Permeability and Neuroinflammation as Triggering Events. *Frontiers in Neuroscience*, v. 15, 4 nov. 2021.

DE SILVA, N. Maneka G. *et al.* Liver Function and Risk of Type 2 Diabetes: Bidirectional Mendelian Randomization Study. *Diabetes*, v. 68, n. 8, p. 1681–1691, 1 ago. 2019.

DE SOUZA, Cláudio T. *et al.* Consumption of a Fat-Rich Diet Activates a Proinflammatory Response and Induces Insulin Resistance in the Hypothalamus. *Endocrinology*, v. 146, n. 10, p. 4192–4199, 1 out. 2005.

DE SOUZA, Gabriel O.; WASINSKI, Frederick; DONATO, Jose. Characterization of the metabolic differences between male and female C57BL/6 mice. *Life sciences*, v. 301, 15 jul. 2022.

DEAL, Aaron W. et al. High fat diet negatively impacts both metabolic and behavioral health in an outbred rat model. *Physiological genomics*, v. 52, n. 9, p. 379–390, 2020.

DEFRONZO, Ralph A. From the triumvirate to the ominous octet: A new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *In: abr.* 2009.

DELANEY, Kerri Z.; SANTOSA, Sylvia. Sex differences in regional adipose tissue depots pose different threats for the development of Type 2 diabetes in males and females. *Obesity Reviews*, v. 23, n. 3, 1 mar. 2022.

DELVADIA, Prashant et al. Dual GLP-1 and GIP Agonist Tirzepatide Exerted Neuroprotective Action in a Parkinson's Disease Rat Model. *ACS chemical neuroscience*, 5 mar. 2025.

DEMIR, Sevgican et al. Emerging Targets in Type 2 Diabetes and Diabetic Complications. *Advanced Science* John Wiley and Sons Inc, , 1 set. 2021.

DIAS, Cândida et al. Analysis of respiratory capacity in brain tissue preparations: high-resolution respirometry for intact hippocampal slices. *Analytical biochemistry*, v. 551, p. 43–50, 15 jun. 2018.

DIAS, Cândida et al. High-Resolution Respirometry Methodology for Bioenergetic and Metabolic Studies in Intact Brain Slices. *Methods in molecular biology*, v. 2878, p. 35–48, 2025.

DUARTE, Ana I.; MOREIRA, Paula I.; OLIVEIRA, Catarina R. Insulin in Central Nervous System: More than Just a Peripheral Hormone. *Journal of Aging Research*, v. 2012, p. 384017, 2012.

EL, K. et al. GIP mediates the incretin effect and glucose tolerance by dual actions on α cells and β cells. *Science Advances*, v. 7, n. 11, 12 mar. 2021.

Electron Transport in the Energy Cycle of the Cell. Disponível em: <<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/Biology/etrans.html>>. Acesso em: 11 jul. 2025.

ENACHE, Daniela; PARIANTE, Carmine M.; MONDELLI, Valeria. Markers of central inflammation in major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis of studies examining cerebrospinal fluid, positron emission tomography and post-mortem brain tissue. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 81, p. 24–40, 1 out. 2019.

ENGELHARDT, Britta; COISNE, Caroline. Fluids and barriers of the CNS establish immune privilege by confining immune surveillance to a two-walled castle moat surrounding the CNS castle. *Fluids and Barriers of the CNS*, v. 8, n. 1, p. 4, 18 jan. 2011.

ESSER, Nathalie *et al.* Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* Elsevier Ireland Ltd, , 2014.

FAROOQI, I. Sadaf. Monogenic Obesity Syndromes Provide Insights Into the Hypothalamic Regulation of Appetite and Associated Behaviors. *Biological Psychiatry*, v. 91, n. 10, p. 856–859, 15 maio 2022.

FENTA, Eneyew Talie *et al.* Prevalence and predictors of chronic kidney disease among type 2 diabetic patients worldwide, systematic review and meta-analysis. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, v. 15, n. 1, p. 1–12, 1 dez. 2023.

FONTANELLA, Rosaria Anna *et al.* Tirzepatide prevents neurodegeneration through multiple molecular pathways. *Journal of Translational Medicine*, v. 22, n. 1, p. 1–15, 1 dez. 2024.

FRAYN, K. N. Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *Journal of Applied Physiology Respiratory Environmental and Exercise Physiology*, v. 55, n. 2, p. 628–634, 1983.

GALEA, Ian. The blood-brain barrier in systemic infection and inflammation. *Cellular & Molecular Immunology* 2021 18:11, v. 18, n. 11, p. 2489–2501, 30 set. 2021.

GAN, Hoong Wei; CERBONE, Manuela; DATTANI, Mehul Tulsidas. Appetite- and Weight-Regulating Neuroendocrine Circuitry in Hypothalamic Obesity. *Endocrine Reviews*, v. 45, n. 3, p. 309–342, 1 jun. 2024.

GARBER, A. J. *Obesity and type 2 diabetes: Which patients are at risk?* Diabetes, Obesity and MetabolismBlackwell Publishing Ltd, , 2012.

GREENWOOD, J. *et al.* Review: Leucocyte-endothelial cell crosstalk at the blood-brain barrier: A prerequisite for successful immune cell entry to the brain. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, v. 37, n. 1, p. 24–39, 1 fev. 2011.

GRILLO, C. A. *et al.* INSULIN-STIMULATED TRANSLOCATION OF GLUT4 TO THE PLASMA MEMBRANE IN RAT HIPPOCAMPUS IS PI3-KINASE DEPENDENT. *Brain research*, v. 1296, p. 35, 16 out. 2009.

GUO, J. Y.; RAGLAND, J. D.; CARTER, C. S. Memory and cognition in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*Nature Publishing Group, , 1 maio 2019.

GUO, Xiying *et al.* Tirzepatide ameliorates spatial learning and memory impairment through modulation of aberrant insulin resistance and inflammation response in diabetic rats. *Frontiers in Pharmacology*, v. 14, p. 1146960, 28 ago. 2023.

HAMMOUD, Rola; DRUCKER, Daniel J. Beyond the pancreas: contrasting cardiometabolic actions of GIP and GLP1. *Nature Reviews Endocrinology* 2022 19:4, v. 19, n. 4, p. 201–216, 12 dez. 2022.

HANSOTIA, Tanya *et al.* Extrapancreatic incretin receptors modulate glucose homeostasis, body weight, and energy expenditure. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 117, n. 1, p. 143–152, 2 jan. 2007.

HARGRAVE, Sara L.; JONES, Sabrina; DAVIDSON, Terry L. The Outward Spiral: A vicious cycle model of obesity and cognitive dysfunction. *Current opinion in behavioral sciences*, v. 9, p. 40, 1 jun. 2016.

HARIRI, Niloofar; THIBAULT, Louise. High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews*, v. 23, n. 2, p. 270–299, dez. 2010.

HASSAN, Noha F. *et al.* The potential role of Tirzepatide as adjuvant therapy in countering colistin-induced nephro and neurotoxicity in rats via modulation of PI3K/p-Akt/GSK3- β /NF- κ B p65 hub, shielding against oxidative and endoplasmic reticulum stress, and activation of p-CREB/BDNF/TrkB cascade. *International Immunopharmacology*, v. 135, p. 112308, 30 jun. 2024.

HERZ, Carsten T. *et al.* Sex differences in brown adipose tissue activity and cold-induced thermogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, v. 534, 20 ago. 2021.

HOFFLER, Undi *et al.* Diet-induced obesity is associated with hyperleptinemia, hyperinsulinemia, hepatic steatosis, and glomerulopathy in C57Bl/6J mice. *Endocrine*, v. 36, n. 2, p. 311–325, 2009.

HUANG, Xingjun *et al.* The PI3K/AKT pathway in obesity and type 2 diabetes. *International Journal of Biological Sciences*, v. 14, n. 11, p. 1483–1496, 6 ago. 2018.

INGVORSEN, C.; KARP, N. A.; LELLIOTT, C. J. The role of sex and body weight on the metabolic effects of high-fat diet in C57BL/6N mice. *Nutrition & Diabetes*, v. 7, n. 4, 10 abr. 2017.

ISINGRINI, Elsa *et al.* Association between Repeated Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) Procedures with a High Fat Diet: A Model of Fluoxetine Resistance in Mice. *PLoS ONE*, v. 5, n. 4, 2010.

JEŽEK, Jan; COOPER, Katrina F.; STRICH, Randy. Reactive Oxygen Species and Mitochondrial Dynamics: The Yin and Yang of Mitochondrial Dysfunction and Cancer Progression. *Antioxidants*, v. 7, n. 1, 1 mar. 2018.

KANDEL, Eric R.; DUDAI, Yadin; MAYFORD, Mark R. The molecular and systems biology of memory. *CellElsevier B.V.*, , 27 mar. 2014.

KARAGIANNIS, Thomas *et al.* Management of type 2 diabetes with the dual GIP/GLP-1 receptor agonist tirzepatide: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*, v. 65, n. 8, p. 1251–1261, 1 ago. 2022.

KAUTZKY-WILLER, Alexandra; HARREITER, Jürgen; PACINI, Giovanni. Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrine Reviews*, v. 37, n. 3, p. 278–316, 1 jun. 2016.

KERR, Jessica A. *et al.* Global, regional, and national prevalence of adult overweight and obesity, 1990–2021, with forecasts to 2050: a forecasting study for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*, v. 405, n. 10481, p. 813–838, 8 mar. 2025.

KRENTZ, Andrew J.; PATEL, Mayank B.; BAILEY, Clifford J. New Drugs for Type 2 Diabetes Mellitus. *Drugs 2008* 68:15, v. 68, n. 15, p. 2131–2162, 17 set. 2012.

KUMAR, Manish; BANSAL, Nitin. Implications of Phosphoinositide 3-Kinase-Akt (PI3K-Akt) Pathway in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, v. 59, n. 1, p. 354–385, 1 jan. 2022.

LAI, Ka Sing P. et al. Peripheral inflammatory markers in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of 175 studies. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, v. 88, n. 10, p. 876–882, 1 out. 2017.

LIU, Qiyuan Keith. Mechanisms of action and therapeutic applications of GLP-1 and dual GIP/GLP-1 receptor agonists. *Frontiers in Endocrinology*, v. 15, p. 1431292, 24 jul. 2024.

LONG, Hui Zhi et al. PI3K/AKT Signal Pathway: A Target of Natural Products in the Prevention and Treatment of Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *Frontiers in Pharmacology*, v. 12, 15 abr. 2021.

LUDVIK, Bernhard et al. Once-weekly tirzepatide versus once-daily insulin degludec as add-on to metformin with or without SGLT2 inhibitors in patients with type 2 diabetes (SURPASS-3): a randomised, open-label, parallel-group, phase 3 trial. *The Lancet*, v. 398, n. 10300, p. 583–598, 14 ago. 2021.

LYRA, Ruy et al. Manejo da terapia antidiabética no DM2. Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2024.

MA, Jingjing et al. Tirzepatide administration improves cognitive impairment in HFD mice by regulating the SIRT3-NLRP3 axis. *Endocrine*, v. 87, n. 2, p. 486–497, 1 fev. 2024.

MACKY-ALFONSO, Sabrina E. et al. Short-term high fat diet impairs memory, exacerbates the neuroimmune response, and evokes synaptic degradation via a complement-dependent mechanism in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 121, p. 56–69, 1 out. 2024.

MAGGIO, Carol A.; PI-SUNYER, F. Xavier. Obesity and type 2 diabetes. Endocrinology and Metabolism Clinics of North America W.B. Saunders, , 2003.

MAGISTRETTI, Pierre J.; ALLAMAN, Igor. A Cellular Perspective on Brain Energy Metabolism and Functional Imaging. *Neuron*, v. 86, n. 4, p. 883–901, 20 maio 2015.

MAHAR, Muhammad Umar *et al.* The Effects of Tirzepatide on Lipid Profile: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of Obesity & Metabolic Syndrome*, v. 33, n. 4, p. 348–359, 30 dez. 2024.

MALLORQUÍ-BAGUÉ, Núria *et al.* Type 2 diabetes and cognitive impairment in an older population with overweight or obesity and metabolic syndrome: baseline cross-sectional analysis of the PREDIMED-plus study. *Scientific Reports* 2018 8:1, v. 8, n. 1, p. 1–9, 31 out. 2018.

MARCOS, José Luis *et al.* Obesogenic Diet-Induced Neuroinflammation: A Pathological Link between Hedonic and Homeostatic Control of Food Intake. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol. 24, Page 1468, v. 24, n. 2, p. 1468, 11 jan. 2023.

MARTÍNEZ-OROZCO, Humberto *et al.* High-fat and combined high-fat-high-fructose diets impair episodic-like memory and decrease glutamate and glutamine in the hippocampus of adult mice. *Nutritional Neuroscience*, v. 25, n. 12, p. 2479–2489, 2022.

MATHER, Kieren J. *et al.* Improvements in post-challenge lipid response following tirzepatide treatment in patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, v. 26, n. 2, p. 785–789, 1 fev. 2024.

MAUVAIS-JARVIS, Franck. Sex differences in metabolic homeostasis, diabetes, and obesity. *Biology of Sex Differences*, v. 6, n. 1, p. 1–9, 1 dez. 2015.

MAZON, Janaína Niero *et al.* The impact of obesity on neurodegenerative diseases. Life SciencesElsevier Inc., , 1 ago. 2017.

MOURA, Filipe A.; SCIRICA, Benjamin M.; RUFF, Christian T. Tirzepatide for diabetes: on track to SURPASS current therapy. *Nature Medicine*, v. 28, n. 3, p. 450–451, 1 mar. 2022.

NAUCK, Michael A. *et al.* The evolving story of incretins (GIP and GLP-1) in metabolic and cardiovascular disease: A pathophysiological update. *Diabetes, Obesity and Metabolism*John Wiley and Sons Inc, , 1 set. 2021.

NELSON, Thomas J. *et al.* Insulin, PKC signaling pathways and synaptic remodeling during memory storage and neuronal repair. *European Journal of Pharmacology*, v. 585, n. 1, p. 76–87, 6 maio 2008.

NOLFI-DONEGAN, Deirdre; BRAGANZA, Andrea; SHIVA, Sruti. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biology*, v. 37, p. 101674, 1 out. 2020.

ONG, Kanyin Liane *et al.* Global, regional, and national burden of diabetes from 1990 to 2021, with projections of prevalence to 2050: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*, v. 402, n. 10397, p. 203–234, jul. 2023.

ORTEGA-DE SAN LUIS, Clara; RYAN, Tomás J. Understanding the physical basis of memory: Molecular mechanisms of the engram. *Journal of Biological Chemistry*American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc., , 1 maio 2022.

OTHMAN, Muhammad Zulfadhl; HASSAN, Zurina; HAS, Ahmad Tarmizi Che. Morris water maze: a versatile and pertinent tool for assessing spatial learning and memory. *Experimental Animals*, v. 71, n. 3, p. 264–280, 1 jul. 2022.

PARKMAN, Jacaline K. et al. Effects of high fat diets and supplemental tart cherry and fish oil on obesity and type 2 diabetes in male and female C57BL/6J and TALLYHO/Jng mice. *The Journal of nutritional biochemistry*, v. 94, 1 ago. 2021.

PENG, Yunhua et al. Central and peripheral metabolic defects contribute to the pathogenesis of Alzheimer's disease: Targeting mitochondria for diagnosis and prevention. *Antioxidants and Redox Signaling*, v. 32, n. 16, p. 1188–1236, 1 jun. 2020.

PETTERSSON, Ulrika S. et al. Female Mice are Protected against High-Fat Diet Induced Metabolic Syndrome and Increase the Regulatory T Cell Population in Adipose Tissue. *PLOS ONE*, v. 7, n. 9, p. e46057, 25 set. 2012.

PONCE-LOPEZ, Teresa. Peripheral Inflammation and Insulin Resistance: Their Impact on Blood–Brain Barrier Integrity and Glia Activation in Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 26, n. 9, 1 maio 2025.

POWELL, Timothy R.; FERNANDES, Cathy; SCHALKWYK, Leonard C. Depression-Related Behavioral Tests. *Current Protocols in Mouse Biology*, v. 2, n. 2, p. 119–127, jun. 2012.

PRASAD, Roshan et al. Chronic Kidney Disease: Its Relationship With Obesity. *Cureus*, v. 14, n. 10, 21 out. 2022.

PUTMAN, Ashley K.; CONTRERAS, G. Andres; MOTILLO, Emilio P. Thermogenic Adipose Redox Mechanisms: Potential Targets for Metabolic Disease Therapies. *Antioxidants* 2023, Vol. 12, Page 196, v. 12, n. 1, p. 196, 14 jan. 2023.

RANDVÄLI, Maarja; TOOMSOO, Toomas; ŠTEINMILLER, Jekaterina. The Main Risk Factors in Type 2 Diabetes for Cognitive Dysfunction, Depression, and Psychosocial Problems: A Systematic Review. *Diabetology*, v. 5, n. 1, p. 40–59, 1 mar. 2024.

REDDY, Priya *et al.* Metabolic syndrome is an inflammatory disorder: A conspiracy between adipose tissue and phagocytes. *Clinica Chimica Acta*, v. 496, p. 35–44, 1 set. 2019.

RITOV, Vladimir B. *et al.* Deficiency of subsarcolemmal mitochondria in obesity and type 2 diabetes. *Diabetes*, v. 54 1, n. 1, p. 8–14, jan. 2005.

ROH, Eun; SONG, Do Kyeong; KIM, Min Seon. Emerging role of the brain in the homeostatic regulation of energy and glucose metabolism. *Experimental & Molecular Medicine* 2016 48:3, v. 48, n. 3, p. e216–e216, 11 mar. 2016.

ROHM, Theresa V. *et al.* Inflammation in obesity, diabetes, and related disorders. *Immunity*, v. 55, n. 1, p. 31–55, 11 jan. 2022.

RUOTOLO, G. *et al.* Effects of tirzepatide, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist, on lipid profiling in patients with type 2 diabetes. *European Heart Journal*, v. 41, n. Supplement_2, 1 nov. 2020.

RUSSO, Benedetta *et al.* Autonomic nervous system in obesity and insulin-resistance— the complex interplay between leptin and central nervous system. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 10, 2 maio 2021.

SAHU, Abhiram. Minireview: A hypothalamic role in energy balance with special emphasis on leptin. *Endocrinology*, v. 145 6, n. 6, p. 2613–20, jun. 2004.

SALCEDO, Isidro *et al.* Neuroprotective and neurotrophic actions of glucagon-like peptide-1: an emerging opportunity to treat neurodegenerative and cerebrovascular disorders. *British Journal of Pharmacology*, v. 166, n. 5, p. 1586, jul. 2012.

SAMMS, Ricardo J.; COGHLAN, Matthew P.; SLOOP, Kyle W. How May GIP Enhance the Therapeutic Efficacy of GLP-1? *Trends in Endocrinology and Metabolism*, v. 31, n. 6, p. 410–421, 1 jun. 2020.

SAMUEL, Varman T.; SHULMAN, Gerald I. The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 126, n. 1, p. 12–22, 4 jan. 2016.

SANTOLERI, Dominic; TITCHENELL, Paul M. Resolving the Paradox of Hepatic Insulin Resistance. *CMGH*, v. 7, n. 2, p. 447–456, 1 jan. 2019.

SANTOS, Izabelle Barcellos *et al.* Supplementation with *Vitis vinifera L.* skin extract improves insulin resistance and prevents hepatic lipid accumulation and steatosis in high-fat diet-fed mice. *Nutrition Research*, v. 43, p. 69–81, 1 jul. 2017.

SATTAR, Naveed *et al.* Abstract 4139912: Inflammatory biomarkers in people treated with tirzepatide living with overweight or obesity, without and with T2D: a post-hoc analysis from SURMOUNT-1 and SURMOUNT-2. *Circulation*, v. 150, n. Suppl_1, p. A4139912–A4139912, 12 nov. 2024.

SAVOVA, Martina S. *et al.* Targeting PI3K/AKT signaling pathway in obesity. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, v. 159, 1 mar. 2023.

SCHELL, MAREIKE *et al.* 1398-P: *Lactobacillus rhamnosus* Attenuates Depressive-Like Behavior in High-Fat Diet Fed Mice and Regulates Tyrosine Hydroxylase. *Diabetes*, v. 71, n. Supplement_1, 1 jun. 2022.

SCHERER, Philipp E.; HILL, Joseph A. Obesity, Diabetes, and Cardiovascular Diseases: A Compendium. *Circulation research*, v. 118 11, n. 11, p. 1703–5, 27 maio 2016.

SCHERER, Thomas; SAKAMOTO, Kenichi; BUETTNER, Christoph. Brain insulin signalling in metabolic homeostasis and disease. *Nature Reviews Endocrinology* 2021 17:8, v. 17, n. 8, p. 468–483, 9 jun. 2021.

SEINO, Yutaka; FUKUSHIMA, Mitsuo; YABE, Daisuke. GIP and GLP-1, the two incretin hormones: Similarities and differences. *Journal of Diabetes Investigation*, fev. 2010.

SHI, Qingyang *et al.* Benefits and harms of drug treatment for type 2 diabetes: systematic review and network meta-analysis of randomised controlled trials. *The BMJ*, v. 381, 2023.

SHRESTHA, R. *et al.* Is central nervous system an immune-privileged site? *Kathmandu University Medical Journal*, v. 11, n. 41, p. 102–107, 2013.

SURWIT, Richard S. *et al.* Original Articles Diet-Induced Type II Diabetes in C57BL/6J Mice. [S.d.]

SYED, Yahiya Y. Tirzepatide: First Approval. *Drugs*, v. 82, n. 11, p. 1213–1220, 1 jul. 2022.

SZMYGIN, Hanna *et al.* Current Insights into the Potential Role of fMRI in Discovering the Mechanisms Underlying Obesity. *Journal of Clinical Medicine* Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 jul. 2023.

TAHRANI, Abd A. *et al.* Management of type 2 diabetes: New and future developments in treatment. *The Lancet*, v. 378, n. 9786, p. 182–197, 9 jul. 2011.

TAHRANI, Abd A.; BARNETT, Anthony H.; BAILEY, Clifford J. Pharmacology and therapeutic implications of current drugs for type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology* 2016 12:10, v. 12, n. 10, p. 566–592, 24 jun. 2016.

TAKEDA, Shuko; SATO, Naoyuki; MORISHITA, Ryuichi. Systemic inflammation, blood-brain barrier vulnerability and cognitive/non-cognitive symptoms in Alzheimer disease: relevance to pathogenesis and therapy. *Frontiers in Aging Neuroscience*, v. 6, n. JUL, p. 171, 2014.

THOMAS, Merlin C.; COOPER, Mark E.; ZIMMET, Paul. Changing epidemiology of type 2 diabetes mellitus and associated chronic kidney disease. *Nature Reviews Nephrology* 2015 12:2, v. 12, n. 2, p. 73–81, 10 nov. 2015.

VAGENA, Eirini *et al.* A high-fat diet promotes depression-like behavior in mice by suppressing hypothalamic PKA signaling. *Translational Psychiatry*, v. 9, n. 1, 1 dez. 2019.

VENDITTI, Paola; DI MEO, Sergio. The Role of Reactive Oxygen Species in the Life Cycle of the Mitochondrion. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 6, 2 mar. 2020.

VINUESA, Angeles *et al.* Juvenile exposure to a high fat diet promotes behavioral and limbic alterations in the absence of obesity. *Psychoneuroendocrinology*, v. 72, p. 22–33, 1 out. 2016.

VOGEL-CIERNIA, Annie; WOOD, Marcelo A. Examining Object Location and Object Recognition Memory in Mice. *Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N. Crawley ... [et al.]*, v. 69, p. 8.31.1, 2014.

VOGT, Merly C.; BRÜNING, Jens C. CNS insulin signaling in the control of energy homeostasis and glucose metabolism - from embryo to old age. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, v. 24, n. 2, p. 76–84, 1 fev. 2013.

VORHEES, Charles V.; WILLIAMS, Michael T. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, v. 1, n. 2, p. 848–858, jul. 2006.

WHITELOCK, Victoria *et al.* The mediating role of comorbid conditions in the association between type 2 diabetes and cognition: A cross-sectional observational study using the UK Biobank cohort. *Psychoneuroendocrinology*, v. 123, p. 104902, 1 jan. 2021.

WILLARD, Francis S. et al. Tirzepatide is an imbalanced and biased dual GIP and GLP-1 receptor agonist. *JCI Insight*, v. 5, n. 17, 3 set. 2020.

WILSON, Jonathan M. et al. The dual glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 receptor agonist tirzepatide improves cardiovascular risk biomarkers in patients with type 2 diabetes: A post hoc analysis. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, v. 24, n. 1, p. 148–153, 1 jan. 2022.

WINZELL, Maria Sörhede; AHRÉN, Bo. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes*, v. 53 Suppl 3, n. SUPPL. 3, p. 215–9, dez. 2004.

XIA, Wenmin et al. Obesity causes mitochondrial fragmentation and dysfunction in white adipocytes due to RalA activation. *Nature Metabolism* 2024 6:2, v. 6, n. 2, p. 273–289, 29 jan. 2024.

YANG, Shaobin et al. Reducing PDK1/Akt Activity: An Effective Therapeutic Target in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Cells*, v. 11, n. 11, p. 1735, 1 jun. 2022.

YANG, Shaobin et al. Tirzepatide shows neuroprotective effects via regulating brain glucose metabolism in APP/PS1 mice. *Peptides*, v. 179, p. 171271, 1 set. 2024.

YANG, Xiaoyan et al. The diabetes drug semaglutide reduces infarct size, inflammation, and apoptosis, and normalizes neurogenesis in a rat model of stroke. *Neuropharmacology*, v. 158, p. 107748, 1 nov. 2019.

YIN, Xueyao et al. Association of PI3K/AKT/mTOR pathway genetic variants with type 2 diabetes mellitus in Chinese. *Diabetes research and clinical practice*, v. 128, p. 127–135, 1 jun. 2017.

YING, Liqin *et al.* A new mouse model of depression induced by chronic restraint stress combined with lipopolysaccharide. *Journal of psychiatric research*, v. 175, p. 96–102, 1 jul. 2024.

ZBOROWSKI, Vanessa Angonesi *et al.* Memory impairment and depressive-like phenotype are accompanied by downregulation of hippocampal insulin and BDNF signaling pathways in prediabetic mice. *Physiology & Behavior*, v. 237, p. 113346, 1 ago. 2021.

ZENI, Letizia *et al.* A more tubulocentric view of diabetic kidney disease. *Journal of Nephrology*, v. 30, n. 6, p. 701–717, 1 dez. 2017.

ZHAO, Ru Zhou *et al.* Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, v. 44, n. 1, p. 3, 2019.

ZHAO, Xin *et al.* GLP-1 Receptor Agonists: Beyond Their Pancreatic Effects. *Frontiers in Endocrinology*, v. 12, p. 721135, 23 ago. 2021.

ZHOU, Mei *et al.* Dulaglutide ameliorates STZ induced AD-like impairment of learning and memory ability by modulating hyperphosphorylation of tau and NFs through GSK3 β . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 511, n. 1, p. 154–160, 26 mar. 2019.

ZHU, Yan *et al.* Semaglutide ameliorates diabetes-associated cognitive dysfunction in mouse model of type 2 diabetes. *PLOS One*, v. 20, n. 7, p. e0326897, 1 jul. 2025.

ZHUANG, Hong *et al.* Long-term high-fat diet consumption by mice throughout adulthood induces neurobehavioral alterations and hippocampal neuronal remodeling accompanied by augmented microglial lipid accumulation. *Brain, Behavior, and Immunity*, v. 100, p. 155–171, 1 fev. 2022.

ZLOTNIK, Gregorio; VANSINTJAN, Aaron. Memory: An Extended Definition. Frontiers in Psychology, v. 10, 7 nov. 2019.

ANEXO I - Certificado da Comissão de Ética no Uso Animal



Universidade de Brasília
Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 22 de setembro de 2023.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “**Avaliação do potencial neuroprotetor de incretinomiméticos em modelo de diabetes e obesidade**”, SEI nº 23106.067420/2023-98, sob responsabilidade do(a) pesquisador(a) Paula Maria Quaglio Bellozi, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, Foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília, na 13ª reunião extraordinária, em 20/09/2023. Este projeto foi aprovado para utilização de *Mus musculus* (Camundongo) (C57Bl/6J – 40 machos e 40 fêmeas), provenientes do(a) Biotério Central da Universidade Estadual de Campinas.

O presente certificado é válido pelo período de 01/10/2023 a 01/10/2025.



Dr. Bruno Stéfano Lima Dallago
Coordenador da CEUA – UnB



*Este documento se restringe à avaliação ética do projeto supracitado e não substitui outras licenças e permissões que porventura se façam necessárias.