UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA

LARISSA SAMANTA HARTZ BARRETO

EFEITO DA SEMAGLUTIDA E A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS EM RATOS FEBRIS

BRASÍLIA, 2024

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA

LARISSA SAMANTA HARTZ BARRETO

EFEITO DA SEMAGLUTIDA E A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS EM RATOS FEBRIS

Monografia de Conclusão de Curso apresentada
como requisito parcial para obtenção do grau de
Farmacêutico, na Universidade de Brasília, Faculdade de
Ceilândia.

Orientadora: Prof. Dr. Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza

Co-orientadora: Dra. Bruna Rafaela Bezerra Gomes

BRASÍLIA, 2024

CIP - Catalogação na Publicação

Samanta Hartz Barreto, Larissa.
SB273e EFEITO DA SEMAGLUTIDA E A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS EM RATOS FEBRIS / Larissa Samanta Hartz Barreto; orientador Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza; co-orientador Bruna Rafaela Bezerra Gomes. -- Brasília, 2024.
40 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2024.

1. Febre. 2. LPS. 3. Semaglutida. 4. Espécies reativas de oxigênio. I. Hiratsuka Veiga de Souza, Fabiane , orient. II. Rafaela Bezerra Gomes, Bruna, co-orient. III. Título.

LARISSA SAMANTA HARTZ BARRETO

EFEITO DA SEMAGLUTIDA E A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS EM RATOS FEBRIS

BANCA EXAMINADORA

Orientador(a): Prof. Dra. Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza
(Universidade de Brasília/ FCE)

Prof. Aldo Henrique Pacheco Tavares
(Universidade de Brasília/ FCE)

Doutoranda Gabriela Luna Soares de Sousa
(Universidade de Brasília/UnB)

BRASÍLIA, 2024

Dedico a realização desse sonho a Deus e aos meus pais Elaine e Joaquim, a quem devo tudo que sou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me permitir realizar este sonho que compartilho com todos que amo. Por me dar saúde, perseverança, por me educar e amadurecer nessa trajetória de muitos percalços.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais Joaquim e Elaine, por jamais medirem esforços para que mais essa fase fosse concluída na minha vida, a minha amada avó por todo cuidado e apoio durante esses anos, as minhas tias Elis e Elen por me encorajarem a ser cada vez mais perseverante nos meus objetivos, ao meu tio e anjo da guarda que me acompanha na eternidade, a minha afilhada Alana que trouxe luz nos dias mais difíceis, muito obrigada, eu amo vocês.

Agradeço imensamente à minha orientadora, prof[a]. Fabiane Souza, por me escolher e me acolher tão bem, por todo o conhecimento, experiência e habilidades compartilhadas, por me ajudar a amadurecer como aluna e pesquisadora, pelo carinho, paciência e dedicação comigo.

Agradeço à minha co-orientadora, Bruna Gomes, que se disponibilizou para me ajudar e dar suporte.

Aos meus amigos de graduação e da vida, especialmente a Vanessa, por ser minha parceira de pesquisa e tornar meus dias mais leves, a Luana e Ana Clara por trazer alegria nesses 5 anos, pelas horas de estudo em conjunto e por me ajudar a crescer com suas experiências.

Ao grupo de febre, por toda ajuda nos experimentos, além de todo companheirismo. Foi um prazer imenso dividir bancada com vocês.

À Universidade de Brasília, sou grata por me proporcionar momentos inesquecíveis, amizades para toda a vida, oportunidades imensuráveis e ensinamentos que vão além do nível acadêmico.

Aos professores que participaram dessa jornada, em especial, ao Aldo que me inseriu na pesquisa científica, ao Luís que me inspirou imensamente e ao Paulo do Instituto de Física, que me ajudou na análise das minhas amostras.

Ao programa PIBIC/CNPq pela bolsa concedida.

RESUMO

A febre é uma elevação controlada da temperatura corporal, geralmente desencadeada por processos inflamatórios ou infecciosos, com o objetivo de estimular a resposta imune. No entanto, quando essa resposta é exagerada, pode resultar em efeitos adversos, como o aumento da frequência cardíaca e danos às proteínas do corpo. O processo febril começa com a ação de pirogênios exógenos, como bactérias, que induzem a produção de mediadores inflamatórios, incluindo citocinas e prostaglandina E2 (PGE2). Esses mediadores são responsáveis por ativar mecanismos no corpo que elevam a temperatura. Em modelos experimentais, o lipopolissacarídeo (LPS), um componente presente na parede celular de bactérias gram-negativas, é frequentemente utilizado para induzir febre, simulando uma infecção bacteriana. Durante o processo inflamatório, ocorre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que desempenham um papel crítico em doenças inflamatórias e na modulação da resposta imune. Recentemente, os análogos de GLP-1, desenvolvidos inicialmente para o tratamento de diabetes tipo 2 e obesidade, têm mostrado potenciais benefícios em outras áreas de pesquisa, incluindo suas possíveis aplicações no controle de processos inflamatórios. Em um estudo anterior realizado em nosso laboratório, observou-se que, durante a resposta febril, há um aumento significativo na produção de ERO no fígado, tecido adiposo marrom (TAM) e hipotálamo de ratos. No presente trabalho, investigamos o efeito da semaglutida (SMG), um análogo do GLP-1, sobre a febre induzida por LPS e as mudanças na produção de ERO no fígado e no tecido muscular esquelético. Utilizando espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE). Os resultados indicaram que o pré-tratamento com SMG foi capaz de inibir a febre nos ratos, além de reduzir a produção de ERO no fígado. No entanto, esse efeito não foi observado no músculo gastrocnêmio. Estudos adicionais estão em andamento para esclarecer os mecanismos pelos quais a SMG atua na inibição da febre e na modulação das respostas inflamatórias associadas.

Palavras-chave: febre, LPS, semaglutida, ERO.

ABSTRACT

Fever is a controlled elevation of body temperature, usually triggered by inflammatory or infectious processes, with the aim of stimulating the immune response. However, when this response is exaggerated, it can lead to adverse effects, such as increased heart rate and damage to body proteins. The febrile process begins with the action of exogenous pyrogens, such as bacteria, which induce the production of inflammatory mediators, including cytokines and prostaglandin E2 (PGE2). These mediators are responsible for activating mechanisms in the body that raise the temperature. In experimental models, lipopolysaccharide (LPS), a component present in the cell wall of gram-negative bacteria, is frequently used to induce fever, simulating a bacterial infection. During the inflammatory process, reactive oxygen species (ROS) are produced, playing a critical role in inflammatory diseases and in modulating the immune response. Recently, GLP-1 analogs, initially developed for the treatment of type 2 diabetes and obesity, have shown potential benefits in other areas of research, including their possible applications in the control of inflammatory processes. In a previous study conducted in our laboratory, it was observed that during the febrile response, there is a significant increase in ROS production in the liver, brown adipose tissue (BAT), and hypothalamus of rats. In the present study, we investigated the effect of semaglutide (SMG), a GLP-1 analog, on LPS-induced fever and changes in ROS production in the liver and skeletal muscle tissue, using electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. The results indicated that pretreatment with SMG was able to inhibit fever in rats, in addition to reducing ROS production in the liver. However, this effect was not observed in the gastrocnemius muscle. Additional studies are underway to clarify the mechanisms by which SMG acts in fever inhibition and modulation of associated inflammatory responses.

Keywords: fever, LPS, semaglutide, ROS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Efeito da SMG sobre a febre induzida por LPS.....28

Figura 2: Pré-tratamento com SMG e o efeito sobre a concentração de CM• no fígado de ratos febris …….....……30

Figura 3: Pré-tratamento com SMG e o efeito sobre a concentração de CM• no musculo de ratos
febris……...32

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

4-AA	4-aminoantipirina
4-MAA	4-metilaminoantipirina
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ANOVA	Análise de variância
APOHA	Área pré-óptica do hipotálamo anterior
CEUA	Comitê de ética no uso animal
CM$^{\bullet}$	3-metoxi-carbonil-proxilnitróxido
COX	Ciclooxigenase
COX 1	Ciclo-oxigenase-1
COX 2	Ciclo-oxigenase-2
EPM	Erro padrão da média
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ERON	Espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
GSH	Glutationa
SOD	Superóxido desmutase
H	Horas
HPA	Hipotálamo-hipófise-adrenal
IB	Instituto de Biologia
IL-1β	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
Ip	Intraperitoneal
MAPKs	Proteínas Quinases Ativadas por Mitógenos
MDA	Malondialdeído
NAFLD	Esteatose hepática não alcoólica

NF-KB	Fator nuclear Kappa B
LBQP	Laboratório de Bioquímica e Química Proteínas
LPS	Lipopolissacarídeo
ms	Milissegundos
ng	Nanogramas
PGE_2	Prostaglandina E_2
Sal	Salina
SMG	Semaglutida
RPE	Ressonância paramagnética eletrônica
TAM	Tecido adiposo marromtam
TNF-α	Fator de necrose tumoral
alfa	

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....15
2.1. FEBRE …….....15
2.2. ANTIPIRESE.....16
2.3. ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO 18
2.4 SEMAGLUTIDA …….....……... ……19
3. JUSTIFICATIVA 22
4. OBJETIVOS.....23
4.1. GERAL.....23
4.2. ESPECÍFICOS.....23
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....24
5.1. ENSAIO IN VIVO 24
5.2. CIRURGIA PARA MENSURAÇÃO DE TEMPERATURA 24
5.3. ACOMPANHAMENTO DA TEMPERATURA.....25
5.4. ADMINISTRAÇÃO DA SEMAGLUTIDA E LPS.....25
5.5. QUANTIFICAÇÃO DE ERO…….....…… ……26
5.6.ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....27
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....28
6.1. EFEITOS DA SEMAGLUTIDA SOBRE A FEBRE INDUZIDA POR LPS.....29
6.2. EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO COM SMG SOBRE A PRODUÇÃO DE ERO.....27
7. CONCLUSÃO.....34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....35
ANEXOS 40

1. INTRODUÇÃO

A febre é uma elevação controlada da temperatura corporal, resultante de processos inflamatórios ou infecciosos, cujo objetivo é estimular a resposta imune. No entanto, quando excessiva, pode causar efeitos adversos, como o aumento da frequência cardíaca e danos às proteínas. (KNUT, 2013). A febre é desencadeada por pirogênios exógenos, como bactérias, que induzem a produção de mediadores inflamatórios, como citocinas e PGE_2, os quais ativam mecanismos responsáveis pelo aumento da temperatura corporal. (ROTH, J.; BLATTEIS, C. M., 2014).

Embora a febre possa ser benéfica ao induzir a resposta imune, quando se torna excessiva, pode acarretar sérias consequências, como aumento da frequência cardíaca e do metabolismo energético, danos às proteínas, comprometimento da consciência, alterações sensoriais e até convulsões, entre outros efeitos prejudiciais (PRAJITHA, N.; ATHIRA, S. S.; MOHANAN, P. V., 2018).

Para controlar a febre, são usados antipiréticos como dipirona, paracetamol e AINEs, como o ibuprofeno. (PEREIRA et al., 2013). Em experimentos, o LPS, componente de bactérias gram-negativas, é utilizado para induzir febre, imitando uma infecção bacteriana. (PEREIRA et al., 2016; EVANS, S. S.; REPASKY, E. A.; FISHER, D. T., 2015; ZAMPRONIO, A. R.; SOARES, D. M.; SOUZA, G., 2015).

Durante a inflamação, ocorre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que têm papel crucial em doenças inflamatórias e na modulação da resposta imune. A terminologia espécies reativas de oxigênio (ERO) abrange tanto radicais livres, quanto outras moléculas que, apesar de não possuírem elétrons desemparelhados, são bastante reativas, devido sua instabilidade (RIBEIRO et al., 2005; REUTER et al., 2010).

Além disso, análogos de GLP-1, inicialmente desenvolvidos para tratar diabetes tipo 2 e obesidade, estão sendo explorados por seus potenciais benefícios em processos inflamatórios. Neste trabalho, investigamos o efeito da SMG, um análogo de GLP-1, na febre induzida por LPS e na produção de ERO no fígado e no músculo esquelético. Usando RPE, foi demonstrado que a SMG inibe a febre e reduz a produção de ERO no fígado, mas não no músculo gastrocnêmio. Estudos adicionais estão sendo realizados para esclarecer os mecanismos pelos quais a SMG inibe a febre e modula as respostas inflamatórias.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. FEBRE

O controle preciso da temperatura corporal é crucial para a sobrevivência dos mamíferos. Circuitos no sistema nervoso central desempenham papel fundamental na regulação e manutenção dessa temperatura, a qual é tipicamente mantida dentro de uma faixa estreita por meio da ativação de várias respostas termorregulatórias. Mecanismos termorregulatórios importantes evoluíram para manter o calor nos tecidos em níveis adequados, otimizando assim as reações enzimáticas e as funções celulares, ao mesmo tempo que evitam variações bruscas na temperatura corporal que poderiam danificar as células através da desnaturação de proteínas (MADDEN; MORRINSON, 2019).

O circuito neural essencial para a homeostase da temperatura corporal envolve a entrada de sinais térmicos que afetam neurônios localizados na área pré-óptica do hipotálamo (APOHA), desencadeando respostas termorregulatórias. Essas respostas abrangem vias neurais específicas que regulam processos de dissipação, produção ou retenção de calor, como a termogênese no tecido adiposo marrom, tremores, vasoconstrição ou vasodilatação cutânea, dissipação de calor por meio da sudorese (e saliva em roedores), além de respostas comportamentais (MADDEN; MORRINSON, 2019).

Durante processos infecciosos ou inflamatórios é comum ocorrer aumento na temperatura corporal, um evento fisiológico que faz parte de um conjunto complexo de respostas não específicas mediadas pelo cérebro em resposta à invasão do organismo por patógenos. Esse aumento na temperatura é conhecido como febre (ROTH; BLATTEIS, 2014).

Diferentes substâncias podem desencadear a resposta febril, sendo elas chamadas de pirógenos, classificados como endógenos ou exógenos. Os pirógenos endógenos são produzidos pelo organismo e liberados na corrente sanguínea em resposta a um estímulo proveniente de pirógenos exógenos (ROTH et al., 2009). Os principais pirógenos endógenos são as citocinas e os eicosanóides (DINARELLO, 2004). Já os pirógenos exógenos são os estímulos que induzem a resposta febril, incluindo microorganismos, seus subprodutos e também substâncias não infecciosas como antígenos, drogas, entre outros (ROTH; BLATTEIS, 2014).

O processo febril é iniciado pela ação de pirogênios exógenos, como componentes bacterianos, que ativam células imunes e levam à produção de citocinas pró-inflamatórias. Essas citocinas, por sua vez, estimulam a enzima ciclo-oxigenase-2 (COX-2), que é responsável pela conversão do ácido araquidônico em PGE_2, um mediador chave na febre. A PGE_2 se difunde para os neurônios da área pré-óptica do hipotálamo (APOHA), que é a região do cérebro responsável pela regulação da temperatura corporal. No hipotálamo, a PGE_2 se liga a receptores específicos chamados EP_3 (receptores de prostaglandina E_3), localizados nos neurônios termorreguladores, desencadeando uma série de sinais que levam ao aumento da temperatura corporal. (ROTH, J.; BLATTEIS, C. M., 2014).

O mediador final produzido frequentemente pelo corpo durante estados inflamatórios ou infecciosos, é a PGE_2. Esta substância atua como um mediador chave no processo inflamatório e também tem uma função crucial na ativação da APOHA. A elevação nos níveis de PGE_2 pode resultar em uma ativação mais intensa do centro termorregulador no cérebro, levando a um aumento na temperatura corporal e consequente desenvolvimento de febre (SEABRA, 2015).

Um dos modelos experimentais mais utilizados para reproduzir o que ocorre nos processos infecciosos, quando se trata de febre, é a indução por meio da administração sistêmica de LPS, visto que produz aumento de temperatura que permanece por várias horas. O LPS é um pirógeno exógeno componente da membrana externa de bactérias gram-negativas, fundamental para a estabilidade membranar. É o componente da bactéria que confere maior patogenicidade e que dificulta a ação de neutralização pelos anticorpos e a ação dos antibióticos. Estudos realizados com injeção de LPS têm sido de suma importância para a compreensão e caracterização dos mecanismos moleculares subjacentes à febre (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

2.2. ANTIPIRESE

A antipirese endógena ocorre por meio da ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), um processo neuroendócrino que acompanha a resposta febril. Esse mecanismo atua como um feedback capaz de neutralizar o agravamento da resposta imune e controlar a duração e a intensidade da febre (ROTH, BLATTEIS,

2014). Estudos indicam que exposições constantes a pirógenos externos na infância prolongam essa ação por meio do eixo HPA, defendendo o organismo dos efeitos adversos da febre (MOUIHATE, 2013).

A antipirese endógena periférica é mediada por glicocorticoides, citocinas com propriedades antipiréticas, mediadores lipídicos e outros hormônios. Os agentes com atuação central incluem neuropeptídeos, eicosanoides, óxido nítrico (NO) e neurotransmissores gasosos (PRAJITHA; ATHIRA; MOHANAN, 2019).

Durante a resposta febril, o ponto de ajuste da temperatura no centro regulador do hipotálamo é restaurado quando as concentrações de PGE_2 diminuem ou quando são administrados antipiréticos, os quais podem inibir a síntese de PGE_2. Isso desencadeia respostas fisiológicas, como o aumento do fluxo sanguíneo na pele, resultando na dissipação de calor (SANJUANELO, 2013).

O paracetamol é um dos fármacos mais utilizados mundialmente para o tratamento da febre e de dores agudas. Apesar de estar em uso clínico há mais de um século, ainda não há consenso sobre o mecanismo de ação deste fármaco. A teoria predominante sugere que o paracetamol atue através da inibição de uma enzima variante da ciclooxigenase-1 (COX-1) para mediar suas ações analgésicas e, particularmente, termorregulatórias (antipirética e hipotermia). Apesar de possuir uma janela terapêutica larga e baixa toxicidade, o paracetamol possui pouca atividade anti-inflamatória (AYOUB, 2021; CASTRO, 2014).

Da mesma maneira, a dipirona se demonstra carente de atividade anti-inflamatória significativa, esta é um pró-fármaco que gera metabólitos responsáveis pela forte atividade antipirética e analgésica (QUEIROZ, 2016). A dipirona passa por rápida hidrólise no trato gastrointestinal, transformando-se em 4-metil-amino-antipirina (4-MAA). Este composto é então metabolizado em outros produtos, incluindo o 4-formil-amino-antipirina (4-FAA) e o 4-amino-antipirina (4-AA), sendo este último convertido em 4-acetil-amino-antipirina (4-AAA) por meio de acetilação subsequente. O 4-MAA e 4-AA são considerados os principais metabólitos responsáveis pelo efeito antipirético durante a febre induzida por LPS (MALVAR et al., 2014).

Os medicamentos conhecidos como AINEs exercem sua função principal ao bloquear a ação da enzima ciclooxigenase (COX). Esta enzima desempenha papel crucial na conversão do ácido araquidônico em diversas substâncias, entre as quais estão as PGE. A PGE_2, em particular, desempenha um papel significativo na regulação da temperatura corporal (SEABRA, 2015).

Ao interromper a produção de PGE_2, os AINEs agem reduzindo a ação do centro regulador da temperatura no hipotálamo. Portanto, esses medicamentos são frequentemente utilizados para diminuir a febre e aliviar os sintomas associados a condições inflamatórias, proporcionando um alívio eficaz para os pacientes afetados por essas condições (SEABRA, 2015).

2.3 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

A relação das ERO com a produção de febre, tem sido demonstrada ao longo dos anos. As ERO são produzidas por células do sistema imune, como neutrófilos, e podem levar a disfunção endotelial por oxidação de proteínas de sinalização celular, como por exemplo as tirosinas fosfatases, ou por danos a outras estruturas celulares (MITTAL et al., 2014). O aumento na produção de ERO tem sido verificado em modelos de choque séptico, inflamação, dor, asma, doenças neurodegenerativas, dentre outros (CLOSA; FOLCH-PUY, 2004; GELDERMAN et al., 2007; KIM et al., 2015; PRAUCHNER, 2016; VIGGIANO et al., 2005).

Para manter o equilíbrio no sistema redox, o organismo desenvolveu uma variedade de sistemas antioxidantes para combater o estresse oxidativo causado pelas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERON). Esses mecanismos incluem defesas preventivas, de reparo e antioxidantes, tanto enzimáticos quanto não enzimáticos. Entre os sistemas enzimáticos fundamentais estão a catalase, que converte peróxido de hidrogênio em água e oxigênio, a glutationa peroxidase, que oxida a glutationa (GSH) usando hidroperóxidos e a superóxido dismutase (SOD), encontrada em três formas distintas nos mamíferos (CuZnSOD no citoplasma, MnSOD nas mitocôndrias e uma forma extracelular - EC-SOD), responsável por converter superóxido em peróxido de hidrogênio (YOUNG; WOODSIDE, 2001).

A inflamação representa um cenário no qual esse desequilíbrio entre a produção de ERO e os mecanismos antioxidantes se manifesta. Durante esse processo inflamatório, uma variedade de substâncias são geradas, incluindo os radicais livres, desempenhando um papel crucial no surgimento e na evolução da reação. Desde as fases iniciais desse processo, os radicais podem ativar fatores de transcrição nucleares, como o fator nuclear κB (NF-κB), que, por sua vez, estimulam a síntese de citocinas (CLOSA; FOLCH-PUY, 2004).

Em síntese, a partir de um estímulo, como danos nos tecidos, diversas fontes

de ERO são ativadas (como mitocôndrias, xantina oxidase e neutrófilos). Essas ERO geradas, por sua vez, têm a capacidade de ativar vias de sinalização, como as proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPKs) e o NF-kB, que, por sua vez, estimulam moléculas essenciais para as respostas celulares, como as citocinas, desencadeando assim a resposta inflamatória sistêmica (CLOSA; FOLCH-PUY, 2004).

A resposta febril é um processo desencadeado por múltiplos fatores e embora seja uma situação clínica bastante comum, seus mecanismos moleculares ainda não estão claros, assim como o mecanismo de ação dos antitérmicos. A investigação da concentração de ERO durante a antipirese é capaz de revelar vias de sinalização que podem contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos e a produção de novas terapias anti-inflamatórias e anti-térmicas.

2.4. SEMAGLUTIDA

A SMG é um agonista do receptor do peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1RA) mais recentemente aprovado dessa classe de fármacos, pela Food and Drug Administration dos EUA para o controle crônico do peso, além de ser o único GLP-1RA atualmente disponível como formulação subcutânea e oral (SMITS, M.M.; RAALTE, D.H., 2021; CHAO et al., 2023).

Originalmente, os análogos do GLP-1 eram usados como fármacos hipoglicemiantes de segunda linha, entretanto pesquisas posteriores demonstraram que esses fármacos promovem efeitos anti-inflamatórios e neuroprotetores, bem como a capacidade de melhorar a disfunção cognitiva em pacientes com doença de Alzheimer e Parkinson e ação anti-inflamatória, por diminuir a produção de mediadores inflamatórios (WANG et al., 2021; MERT et. al., 2022). Em 2023, o uso deste medicamento foi aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária para auxiliar no tratamento contra a obesidade.

A SMG é uma versão modificada da liraglutida, resistente à protease por meio de uma alteração no aminoácido na posição 8, e inclui um espaçador estendido com um ácido graxo anexado, aumentando assim o tempo de circulação do peptídeo na corrente sanguínea, ou seja, possui uma meia-vida prolongada de aproximadamente 1 semana, o que permite a administração subcutânea uma vez por

semana (LAU et al., 2015; MARSO et al, 2016). Estudos indicam que a SMG tem o efeito mais significativo na perda de peso entre os GLP-1RAs atualmente disponíveis no Brasil. Entretanto, seu impacto na musculatura esquelética ainda carece de esclarecimentos (TRUJILLO et al., 2021).

Evidências recentes sugerem que a SMG exerce efeitos significativos sobre o músculo através da regulação do metabolismo de lipídios musculares e ácidos orgânicos, conforme demonstrado em estudos com camundongos. Esses estudos indicam que a SMG promove uma notável redução do peso corporal e do acúmulo de gordura intramuscular. Além disso, ela estimula a síntese de proteínas musculares, contribuindo para um aumento na proporção relativa de músculo esquelético. Essa regulação metabólica resulta em melhorias substanciais na função muscular, especialmente em camundongos obesos. Os achados de Ren et al. (2022) destacam o potencial da SMG como uma intervenção eficaz para melhorar a saúde muscular e combater a obesidade, ao promover um perfil metabólico mais favorável e um melhor desempenho muscular.

Recentemente, estudos clínicos e não-clínicos têm relatado que os GLP-1RAs podem diminuir o acúmulo de lipídios no fígado (GASTALDELLI et al., 2020; ZHOU et al., 2019). Os mecanismos subjacentes a esses benefícios envolvem diversas modalidades, como a redução da síntese lipídica hepática, a mitigação da lipotoxicidade e da inflamação hepática, além da ativação da mitofagia, entre outros (ZHOU et al., 2019; YU et al., 2019). Um estudo recente demonstrou que a SMG pode efetivamente reduzir a esteatose hepática, diminuindo o acúmulo de gordura no fígado e exercendo um papel anti-inflamatório nas vias metabólicas desse órgão. Isso a torna uma candidata promissora para intervenção no diabetes tipo 2 associado à esteatose hepática não alcoólica (NAFLD) (NIU et al., 2022; LI et al., 2023; MOLLERHOJ et al., 2022).

Após a administração crônica de SMG, observou-se uma redução significativa nos níveis de expressão de NF-κB, fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e interleucina-1 beta (IL-1β) em modelos animais. Esses resultados sugerem que a SMG pode desempenhar um papel importante na inibição da resposta inflamatória, ao reduzir a expressão de proteínas associadas a esse processo. A diminuição da atividade dessas proteínas inflamatórias é essencial, pois elas estão frequentemente implicadas na mediação e amplificação da resposta inflamatória (QIANG, 2020).

Com a inibição dessas proteínas, a SMG potencialmente protege o tecido miocárdico dos danos que a resposta inflamatória pode causar, preservando assim a integridade e a funcionalidade do coração. Esses achados, apresentados por Qiang L. e colaboradores em 2020, abrem novas perspectivas para o uso terapêutico da SMG em condições inflamatórias e cardiovasculares, destacando seu potencial como agente protetor contra danos inflamatórios.

Estudos adicionais são essenciais para compreender os impactos desse medicamento em pessoas sem diabetes ou obesidade, dado que as informações disponíveis se concentram principalmente em pacientes diabéticos ou obesos.

3. JUSTIFICATIVA

Os análogos de GLP-1 têm sido amplamente utilizados para o tratamento de DM-2 e obesidade. Entretanto, à medida que são publicados mais estudos sobre os efeitos desse grupo de medicamentos, outros potenciais benefícios têm surgido. Desta forma, mais pesquisas são necessárias para expandir a compreensão sobre os efeitos agudos e crônicos desses medicamentos em indivíduos não diabéticos, para permitir seu uso de maneira segura e eficaz, pois os dados existentes se concentram principalmente em indivíduos diabéticos. Os dados obtidos desta pesquisa poderão auxiliar na descoberta de novos alvos moleculares, além de contribuir para o melhor entendimento sobre o uso da SMG na redução da temperatura corporal e em condições de estresse oxidativo.

4. OBJETIVOS

4.1 GERAL

Este estudo tem por objetivo investigar os efeitos do tratamento com SMG sobre a febre e a produção de ERO em ratos.

4.2 ESPECÍFICOS

- Analisar se a SMG possui efeitos antitérmicos na febre induzida por LPS.
- Quantificar a produção de ERO no tecido muscular esquelético dos ratos;
- Quantificar a produção de ERO no fígado dos ratos.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 ENSAIO IN VIVO

Os ensaios farmacológicos foram realizados utilizando ratos (*Rattus norvegicus*) da variedade Wistar, machos, pesando entre 180 e 220 g. Os animais foram provenientes do Biotério da UniEvangélica (Anápolis, GO) e alojados no Biotério da Faculdade de Medicina (FM) da Universidade de Brasília (UnB) e em ambiente com temperatura de 24º ± 1 ºC, sob um ciclo claro-escuro de 12 h, com água e alimentos fornecidos *ad libitum*. Os procedimentos cirúrgicos e os experimentos farmacológicos foram realizados no Laboratório de Bioquímica e Química de Proteínas do IB/UnB, no período entre 8:00h e 18:00h. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília (SEI 23106.018435/2024-11).

5.2 CIRURGIA PARA MENSURAÇÃO DE TEMPERATURA

Foi realizada uma cirurgia na cavidade peritoneal para implante de transmissores (Data Loggers Subcue, Calgary Canadá) com 1,5 cm de diâmetro x 0,5 cm de espessura, que mensuram a temperatura corporal dos animais. Previamente, os ratos foram anestesiados por via intraperitoneal (ip) com combinação de cetamina (Cloridrato de cetamina 10%, Ketamina Agener®, Agener União, São Paulo, Brasil), xilazina 2% (Calmiun®, Agener União, São Paulo, Brasil) e acepromazina (Acepran® 0,2%, Vetnil, São Paulo, Brasil) nas doses de 60 mg/kg, 10
mg/kg e 1 mg/kg, nesta ordem.

Em seguida, realizou-se a laparotomia para implantação dos transmissores de temperatura. Foi realizada a tricotomia e assepsia da pele da região peritoneal, seguida por uma incisão de aproximadamente 2cm, necessária para inserção do transmissor limpo com solução salina estéril na cavidade peritoneal, após sua desinfecção em solução de álcool 70% por 30 min. Os animais foram suturados no músculo e na pele isoladamente, por meio de sutura contínua simples. Logo após, receberam antibioticoterapia mediante injeção intramuscular de cloridrato de oxitetraciclina (Terramicina®, Pfizer, São Paulo, Brasil) na dose de 10 mg/kg e meloxicam (Maxicam 2%, Ourofino, Minas Gerais, Brasil) na dose de 1 mg/kg. Após a cirurgia, os animais passaram por um período de 48 horas em observação, e

administração de meloxicam a cada 24h durante 2 dias. Os experimentos foram realizados 7 dias após as cirurgias.

5.3 ACOMPANHAMENTO DA TEMPERATURA

Os ratos tiveram sua temperatura aferida a partir dos transmissores implantados. O ambiente de experimento teve a temperatura controlada a 27 ± 1 ºC, por no mínimo 12 h antes do início da indução de febre e antipirese. A aferição de temperatura teve o início 2 h antes dos experimentos até o final do procedimento, com intervalos de 15 min, que se estendeu por mais 5 h depois da injeção do LPS (Sigma-Aldrich, EUA).

5.4 ADMINISTRAÇÃO DA SEMAGLUTIDA E LPS

Para a avaliação da dose de SMG a ser usada, fizemos levantamento da literatura, buscando estudos que investigaram a ação anti-inflamatória ou neuroprotetora do fármaco em questão. Como as doses variam bastante, percebeu-se a necessidade de realizar estudos-piloto, com o objetivo de determinar a melhor dose e reduzir o número total de animais a serem utilizados, uma vez que a dose pode variar de acordo com o modelo experimental, e que não há em nosso conhecimento, estudos que investigaram o efeito deste fármaco no modelo de febre experimental induzida por LPS.

Verificamos na literatura que as doses dos GLP1RAs variam de 60 a 900 µg/kg quando administrados por via subcutânea ou peritoneal. Nos baseamos, em conjunto, com o projeto que se encontra em andamento em nosso laboratório, no qual, com base em um estudo-piloto, foi esclarecido que a melhor dose resposta da liraglutida, outro análogo de GLP-1, foi a dose de 300 µg/kg. Devido a maior potência da SMG e sua meia-vida mais longa, optamos por não utilizar doses maiores que 300 µg/kg.

Dessa maneira, selecionamos os seguintes grupos:

1. Salina + LPS
2. Semaglutida + 30 µg/kg
3. Semaglutida + 100 µg/kg
4. Semaglutida + 300 µg/kg

O grupo controle positivo (Salina + LPS) e grupos de tratamento com 3 doses receberam a administração por via intraperitoneal (ip).

Nos experimentos in vivo, foi feita a avaliação do perfil de inibição da SMG, com as doses selecionadas nos estudos pilotos, sobre a febre e a neuroinflamação induzida pelo LPS, a partir do pré-tratamento com a SMG. Com base na literatura publicada, diversos estudos pré-clínicos que investigam drogas com efeitos anti-inflamatórios e imunomoduladores utilizam o tratamento prévio para melhor avaliar seu impacto preventivo, especialmente em modelos agudos, como o de indução de febre por LPS. Isso ajuda a entender se o medicamento tem potencial para impedir a ativação de vias inflamatórias cruciais.

Portanto, optamos pelo tratamento prévio com SMG, a fim de observar se há modulação da resposta inflamatória desde o início, em vez de tentar reverter um processo já instalado com o pós-tratamento.

Assim, após uma hora da injeção de SMG, a febre foi induzida pela administração de LPS 50 µg/kg via ip e a temperatura corporal foi monitorada por até 5 horas em temperatura ambiente termoneutra. Em seguida, os animais foram anestesiados e decapitados para a dissecação dos tecidos, os quais foram congelados para quantificação de espécies reativas de oxigênio.

O cálculo do índice de febre foi realizado pela diferença entre a temperatura inicial do organismo e as medições individuais após a administração do LPS, até o momento da eutanásia dos animais. A área sob a curva (ASC) foi determinada para cada animal utilizando o referido índice de febre, expresso em unidades arbitrárias.

5.5 QUANTIFICAÇÃO DE ERO

Para a quantificação de ERO, os tecidos foram lavados 3 vezes em solução de tampão Krebs Hepes e, em seguida, imersos em solução de tampão Krebs Hepes contendo o marcador de spin CMH (200 µM) e incubados durante 1h a 37°C. Em seguida, o sobrenadante foi imediatamente coletado e congelado em nitrogênio líquido para posterior análise quantitativa de ERO por espectrometria de ressonância paramagnética eletrônica. Os tecidos foram secos em speed vac e depois pesados para o cálculo da razão ERO/massa de tecido.

Sabe-se que a oxidação de CMH leva a formação de $CM^{\bullet}$ (3-metoxi-

carbonil-proxilnitróxido) paramagnético, composto estável e que permite quantificação das ERO em tempos maiores, devido a meia-vida curta dessas nas amostras coletadas. Amostras para a curva de calibração foram obtidas a partir de uma solução estoque do padrão 3-carboxi-proxil (CP·) (Noxygen, Alemanha) preparado em tampão Krebs Hepes e diluído nas concentrações de 12,5; 25; 50; 100; 200; 300; 400 e 500 µM. As medidas de RPE foram realizadas em um espectrômetro Bruker E500, pertencente ao Laboratório de RPE do Instituto de Física da UnB.

5.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As comparações estatísticas foram efetuadas por análise de variância de uma via (one-way ANOVA) seguida pelo teste de Tukey para comparações múltiplas com a utilização do programa estatístico Prism 9.0. O nível de significância considerado será de 5% ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 EFEITOS DA SEMAGLUTIDA SOBRE A FEBRE INDUZIDA POR LPS

Com a finalidade de investigar o efeito da SMG sobre a resposta febril, as doses de 30 µg/kg, 100 µg/kg, 300 µg/kg (ip) foram administradas por via intraperitoneal (ip) 1 hora antes da injeção de LPS (ip). Na **Figura 1A**, é possível observar que os animais do grupo controle positivo (Sal/LPS) tiveram um aumento significativo da temperatura corporal em relação à temperatura basal, o que indica que houve febre após indução por LPS.

Os grupos que receberam tratamento mostraram que a administração prévia do medicamento resultou na inibição da febre induzida por LPS, em comparação ao grupo controle nas três doses do tratamento mencionadas. Assim, observa-se que a inibição ocorreu de maneira dose-dependente e demonstrou um efeito antitérmico.

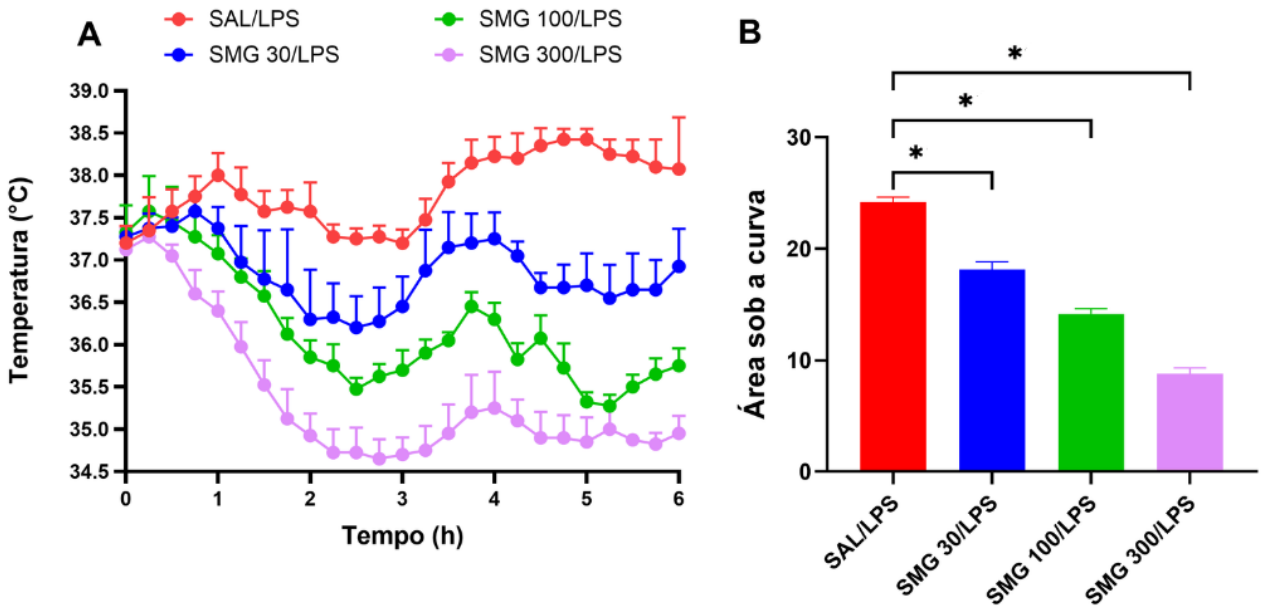


Figura 1: Efeito da SMG sobre a febre induzida por LPS. A SMG foi administrada por via ip nas doses de de 30 µg/kg, 100 µg/kg, 300 µg/kg, após 1 hora foi administrado o LPS (n=4). Os animais do grupo controle receberam salina (2,5 mL/kg). No gráfico **A**, está demonstrada a mudança na temperatura corporal no transcorrer do tempo em horas. O tempo 0 (zero) indica a aplicação de SMG i.p. e o tempo 1 (um) indica a aplicação de LPS. Os pontos indicam a média ± EPM da temperatura corporal dos animais. No gráfico **B**, as barras indicam a área sob a curva durante todo o período

observado. Os dados foram analisados por one-way ANOVA, seguido pelo teste de Tukey. *p<0,05.

Na Figura 1B, a área sob a curva da temperatura dos ratos foi avaliada durante as 6 horas de observação. Dessa maneira, demonstrou-se que o grupo SAL/LPS apresentou aumento da temperatura corporal, enquanto o pré-tratamento com diferentes doses de SMG não permitiu a evolução do quadro de febre. As taxas de inibição foram 63,5%, 41,4% e 24,9%, para as doses de 300 µg/kg, 100 µg/kg, 30 µg/kg de SMG, respectivamente.

6.2 EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO COM SMG SOBRE A PRODUÇÃO DE ERO

Com o objetivo de avaliar o impacto da SMG na produção de ERO no fígado durante a resposta febril, foi realizada a quantificação da concentração de $CM^{\bullet}$ nas amostras de fígado dos ratos. Os resultados indicaram uma concentração média de 380µM de $CM^{\bullet}$ no grupo controle. Quando os grupos tratados com SMG foram comparados ao controle, observou-se que o grupo que recebeu a dose de 300 µg/kg de SMG antes da indução da febre apresentou uma inibição significativa de 39,13% na produção de $CM^{\bullet}$ em comparação ao grupo controle.

No entanto, nos grupos que receberam doses de 30 µg/kg e 100 µg/kg de SMG, não foi observada uma diferença significativa na concentração de $CM^{\bullet}$ em relação ao grupo controle. Isso indica que a administração de SMG nas doses de 30 e 100 µg/kg não foi suficientemente eficaz para reduzir a produção de EROs associada à febre induzida. Esses achados estão representados na **Figura 2**, que ilustra as diferenças nas concentrações de $CM^{\bullet}$ entre os grupos experimentais.

Em 2003, Riedel e seus colaboradores realizaram um estudo que demonstrou um aumento significativo na concentração de peróxidos plasmáticos durante a febre induzida por LPS em coelhos. Esse aumento, no entanto, foi revertido com o tratamento utilizando agentes antioxidantes, como o azul de metileno e o ácido α-lipóico. Em pesquisas anteriores, esse mesmo grupo de cientistas havia demonstrado que, durante episódios febris, ocorre um aumento nos níveis de malonaldeído (MDA) nos tecidos periféricos. Como o malonaldeído é um produto da peroxidação lipídica, esses resultados indicam que as membranas celulares podem ser danificadas pelas espécies reativas de oxigênio (ERO) durante a febre (RIEDEL; MAULIK, 1999).

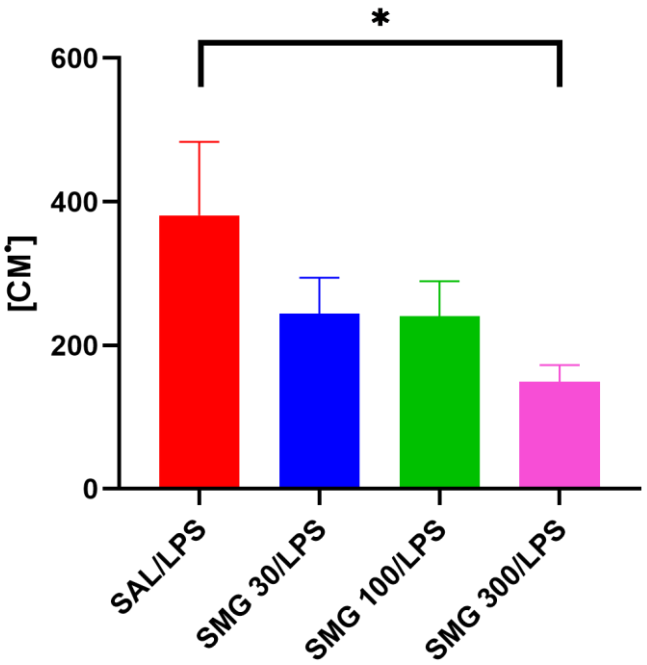


Figura 2. **Pré-tratamento com SMG e o efeito sobre a concentração de CM• no fígado de ratos febris.** Concentração de CM• no fígado de ratos. Os valores obtidos por média ± EPM (n= 4 a 6 ratos). Os dados foram analisados por one-way ANOVA.

Outro fármaco conhecido por sua ação antioxidante, que também apresenta efeito antipirético, é a N-acetilcisteína. Estudos mostraram que esse composto é capaz de reduzir a febre induzida por LPS ou turpentina em ratos (WROTEK et al., 2011). Corroborando esses achados, o nosso grupo de pesquisa demonstrou que, durante a resposta febril, há um aumento na produção de ERO no fígado, TAM e hipotálamo de ratos (GOMES et al., 2018).

Consistente com nossos achados experimentais, o estudo conduzido por Niu e colaboradores em 2022 revelou que a SMG demonstrou eficácia na redução da inflamação e da resposta ao estresse oxidativo em um modelo de NAFLD (doença hepática gordurosa não alcoólica) induzida por uma dieta hiperlipídica. O tratamento com SMG foi capaz de inibir a regulação positiva de fatores pró-inflamatórios como TNF- α, IL-6, IL-1mdaβ e MDA. Embora a SMG tenha reduzido a inflamação hepática, ela não conseguiu normalizar completamente o quadro inflamatório. Esse resultado pode estar relacionado tanto à dosagem quanto ao momento da administração da SMG no modelo experimental.

Esse estudo também observou que a dieta hipercalórica acelerou a resposta ao estresse oxidativo, o que se refletiu no aumento da expressão de MDA e na redução da expressão de SOD. No entanto, esses efeitos foram revertidos com a adição da SMG. Esses dados sugerem que a SMG pode melhorar a condição de NAFLD por meio de mecanismos que envolvem a ação anti-inflamatória e a inibição do estresse oxidativo (NIU et al., 2022).

O estudo da concentração de ERO durante a antipirese pode revelar importantes vias de sinalização, proporcionando um entendimento mais aprofundado dos mecanismos envolvidos nesse processo. Durante o processo inflamatório, os radicais livres, que são gerados, desempenham um papel fundamental no início e na progressão da reação inflamatória. Esses radicais podem ativar fatores de transcrição nucleares, como o NF-κB, que promovem a síntese de citocinas. Em resposta a estímulos como danos teciduais, diversas fontes de EROs, incluindo mitocôndrias, xantina oxidase e neutrófilos, são ativadas. As EROs então ativam vias de sinalização como MAPKs e NF-κB, que estimulam a produção de citocinas e desencadeiam a resposta inflamatória sistêmica (CLOSA; FOLCH-PUY, 2004).

Entretanto, os resultados relacionados ao efeito da SMG no músculo esquelético não demonstraram uma inibição significativa na produção de CM•. Isso sugere que, nas doses administradas, a SMG não exerce um efeito notável no combate ao estresse oxidativo associado ao processo febril induzido por LPS. (**Figura 3**) O gastrocnêmio, sendo o maior músculo do membro posterior dos camundongos, desempenha um papel crucial no sistema motor desses animais. Sua importância não se restringe apenas à locomoção, mas também à sua função como um tecido metabolicamente ativo, o que o torna um modelo relevante para estudos de saúde muscular.

Devido aos achados que não sugerem efeito protetor da SMG sobre o músculo esquelético, torna-se pertinente aprofundar a análise de outros marcadores de inflamação neste tecido. Citocinas inflamatórias, como TNF-α, IL-6 e IL-1β, poderiam ser investigadas no gastrocnêmio para avaliar melhor o impacto da SMG na modulação da inflamação e na manutenção da função muscular em condições que envolvem estresse oxidativo e inflamatório. A análise desses marcadores no gastrocnêmio pode fornecer informações adicionais sobre como a SMG contribui para a preservação e melhora do tecido muscular, especialmente em contextos de doenças

metabólicas, inflamação crônica ou até mesmo no processo de febre.

Estudos mostraram que a SMG pode reduzir o peso corporal, aumentar a massa muscular e melhorar a composição corporal em camundongos obesos. Foi observado que o número e a área das mitocôndrias aumentaram após uma dieta rica em gordura. No entanto, de maneira interessante, a adição de SMG reverteu essas tendências nos indicadores mencionados (REN et al., 2022).

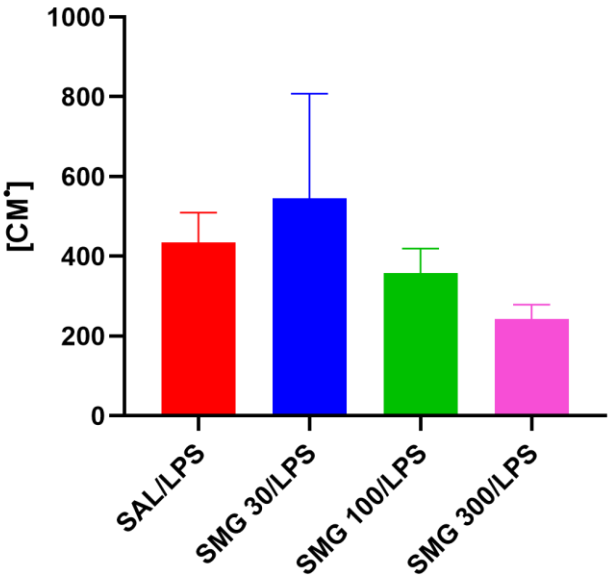


Figura 3. **Pré-tratamento com SMG e o efeito sobre a concentração de CM• no músculo esquelético (gastrocnêmio) de ratos febris.** Concentração de CM no músculo de ratos. Os valores obtidos por média ± EPM (n= 4 a 7 ratos). Os dados foram analisados por one-way ANOVA.

As mitocôndrias são fundamentais na geração de energia, e seu número pode impactar diretamente a função muscular (FRONTERA WR, OCHALA J., 2015). Por essa razão, acredita-se que a SMG possa melhorar a função muscular. O músculo esquelético é composto por diferentes tipos de fibras, e a inflamação crônica pode provocar uma mudança no tipo de fibra predominante (SCHULER M. et al., 2006). Nos estudos conduzidos por Ren et al. (2022), a marcação por fluorescência revelou um aumento na proporção de fibras musculares do tipo I/II no grupo alimentado com uma dieta rica em gordura (HFD), indicando que a obesidade levou a uma redução nas fibras musculares oxidativas e um aumento nas fibras glicolíticas, o que intensificou os distúrbios metabólicos. Após o tratamento com SMG, houve uma reversão nessa proporção de fibras musculares. Esses achados sugerem que a SMG pode reduzir o estado inflamatório, melhorar a resistência à insulina e promover uma melhor função

muscular em camundongos obesos.

Evidências acumuladas indicam que os GLP-1RAs possuem efeitos anti-inflamatórios e podem modificar a resistência à insulina (RAKIPOVSKI G, et al., 2018). Pesquisas demonstram que a obesidade pode induzir níveis baixos, porém crônicos, de inflamação, o que resulta na secreção de fatores inflamatórios como TNF-α, IL-6 e IL-1β. Essas alterações secretoras estão associadas ao desenvolvimento de resistência à insulina, inibem a diferenciação das fibras musculares, alteram as vias do metabolismo proteico, ativam o sistema de degradação de proteínas e, eventualmente, contribuem para a degeneração muscular (FORSYTHE LK, WALLACE JM, LIVINGSTONE MB., 2008; SCHARAGER MA. et al., 2006).

7. CONCLUSÃO

Conclui-se a partir dos resultados obtidos que a SMG possui potencial anti-térmico, devido à inibição significativa da febre induzida por LPS no ratos com o pré-tratamento do GLP-1RA mencionado. Também certifica o que estudos anteriores haviam relatado sobre a relação com a produção de ERO no fígado e a inibição deste com o tratamento farmacológico com a SMG. Entretanto, a SMG nas doses de de 30 µg/kg, 100 µg/kg, 300 µg/kg, no período de 6h não diminui significativamente a produção de EROs no tecido muscular esquelético.

A SMG é análogo de GLP-1 com potencial terapêutico em função de sua alta seletividade em uma via de sinalização envolvida em diversos processos celulares. Por causa de seu efeito antipirético pode ser uma nova opção de tratamento para a febre, pois age por uma via de sinalização diferente dos fármacos já utilizados, que geralmente estão envolvidos com a PGE_2. Além disso, quando utilizada clinicamente para o controle do DM2 ou obesidade, pode mascarar respostas infecciosas, por modular a febre. Sendo assim, em nosso laboratório estão sendo realizados outros estudos com a SMG para determinar como este fármaco atua na resposta febril, mediante análise de tecidos e de mediadores inflamatórios que estão envolvidos na febre.

Nossos dados contribuem para entender melhor como os efeitos decorrentes do pré-tratamento da SMG podem regular a resposta febril e a sinalização eferente que ocorrem em resposta a estímulos, como o LPS. No entanto, estudos complementares são necessários para avaliar outros marcadores inflamatórios no fígado e músculo esquelético, a fim de afirmar o potencial anti-inflamatório da SMG nos tecidos supracitados, visto que há possibilidade de observar mais alterações em estudos de tratamento crônico ou subcrônico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Imunologia Celular e Molecular. 8a. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

AYOUB S.S. Paracetamol (acetaminophen): A familiar drug with an unexplained mechanism of action. Temperature (Austin). 2021.

CASTRO, Pedro Luís Pereira de. Farmacocinética do paracetamol. 2014. Tese de Doutorado. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2014.

CHAO, A. M. et al. Semaglutide for the treatment of obesity. Trends Cardiovasc Med. v. 33(3):159-166. 2023.

CLOSA, D.; FOLCH-PUY, E. Oxygen free radicals and the systemic inflammatory response. IUBMB Life, v. 56, n. 4, p. 185–191, 2004.

DINARELLO, C. A. Infection, fever, and exogenous and endogenous pyrogens: some concepts have changed. Journal of endotoxin research, v. 10, n. 4, p. 201–22, 2004.

EVANS, S. S.; REPASKY, E. A.; FISHER, D. T. Fever and the thermal regulation of immunity: The immune system feels the heat. Nature Reviews Immunology, v. 15, n. 6, p. 335–349, 2015.

FRONTERA WR, OCHALA J. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. Calcif Tissue Int. 2015;96(3):183–195. doi:10.1007/s00223-014-9915-y

FORSYTHE LK, WALLACE JM, LIVINGSTONE MB. Obesity and inflammation: the effects of weight loss. Nutr Res Rev. 2008;21(2):117–133. doi:10.1017/S0954422408138732

GASTALDELLI, A. et al. Exenatide and dapagliflozin combination improves markers of liver steatosis and fibrosis in patients with type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab. vol. 22(3):393–403. 2020.

GELDERMAN, K. A. et al. Rheumatoid Arthritis: The Role of Reactive Oxygen Species in Disease Development and Therapeutic Strategies. Antioxidants & Redox Signaling, v. 9, n. 10, p. 1541–1568, out. 2007.

GOMES, B. R. B. Avaliação do estresse nitrosativo durante a febre e a antipirese. Tese (Doutorado em Patologia Molecular) – Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2022.

GOTHAM, John P. et al. Quantitation of spin probe-detectable oxidants in cells using electron paramagnetic resonance spectroscopy: To probe or to trap?. Free Radical Biology and Medicine, v. 154, p. 84-94, 2020.

HAWKINS, Clare L.; DAVIES, Michael J. Detection and characterisation of radicals in biological materials using EPR methodology. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, v. 1840, n. 2, p. 708-721, 2014

KIM, G. H. et al. The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases. Experimental Neurobiology, v. 24, n. 4, p. 325. 2015.

KNUT, S. Fisiologia animal: Adaptação e meio ambiente. 5 ed. Rio de Janeiro: Livraria Santos, 2013.

LAU, J. et al. Discovery of the once-weekly glucagon-like peptide-1 (GLP-1) analogue semaglutide. J. Med. Chem. 58, 7370–7380. 2015

LI, R. et al. Semaglutide May Alleviate Hepatic Steatosis in T2DM Combined with NFALD Mice via miR-5120/ABHD6. Drug Design, Development and Therapy. 2023.

MADDEN, C.J.; MORRINSON, S.F. Central nervous system circuits that control body temperature. Neuroscience Letters. v. 696:225-232. 2019

MALVAR, D. D. C. et al. Dipyrone metabolite 4-MAA induces hypothermia and inhibits PGE 2-dependent and -independent fever while 4-AA only blocks PGE 2-dependent fever. British Journal of Pharmacology, v. 171, n. 15, p. 3666–3679, 2014.

MARSO, S.P. et al. Semaglutide and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes. N Engl J Med. v 10;375(19), p. 1834-1844. 2016.

MERT I. et al. Anti-inflammatory potential of liraglutide, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, in rats with peripheral acute inflammation. Inflammopharmacology. v. 30, p. 1093, 2022.

MITTAL, M. et al. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. Antioxidants & Redox Signaling, v. 20, n. 7, p. 1126–1167, mar. 2014.

MOLLERHOJ, M. et al. Hepatoprotective effects of semaglutide, lanifibranor and dietary intervention in the GAN diet-induced obese and biopsy-confirmed mouse model of NASH. Clin Transl Sci. v. 15:1167–1186. 2022.

MORRISON, S. F. Central control of body temperature. F1000 Research, v. 5, p. 880–890, 2016.

NIU, S. et al. Semaglutide ameliorates metabolism and hepatic outcomes in an NAFLD mouse model. Frontiers. 2022.

PEREIRA, G. L. et al. Condutas terapêuticas e uso alternado de antipiréticos no manejo da febre em crianças. Jornal de Pediatria, v. 89, p. 25-32, 2013.

PRAJITHA, N.; ATHIRA, S. S.; MOHANAN, P. V. Pyrogens, a polypeptide produces fever by metabolic changes in hypothalamus: Mechanisms and detections. Immunology letters, v. 204, p. 38-46, 2018.

PRAUCHNER, C. A. Oxidative stress in sepsis: Pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy. Burns, dez. 2016.

QIANG L., et. al. Semaglutide attenuates excessive exercise-induced myocardial injury through inhibiting oxidative stress and inflammation in rats. Life Sciences, 250 - 117531, 2020.

QUEIROZ, Marina. Efeito da dipirona, 4-MAA e 4-AA sobre a resposta febril induzida pelo LPS e seus mediadores em ratos. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

RAKIPOVSKI G, et al. The GLP-1 analogs liraglutide and semaglutide reduce atherosclerosis in ApoE(-/-) and LDLr(-/-) mice by a mechanism that includes inflammatory pathways. JACC. 2018;3(6):844–857. doi:10.1016/j.jacbts.2018.09.004

REN, Q. et al. An Effective Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists, Semaglutide, Improves Sarcopenic Obesity in Obese Mice by Modulating Skeletal Muscle Metabolism. Drug Design, Development and Therapy. Dovepress. 25;16:3723-3735, 2022

REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? Free Radic. Biol. Med, v. 49, n. 11, p. 1603–1616, 2010.

RIBEIRO, S.M.R. et al. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. Biosci. J., v. 21, n. 3, p. 133-149. 2005.

RIEDEL, W.; MAULIK, G. Fever: An integrated response of the central nervous system to oxidative stress. Molecular and Cellular Biochemistry, v. 196, n. 1-2, p. 125–132, 1999.

ROTH, J. et al. Molecular Aspects of Fever and Hyperthermia. Immunology and Allergy Clinics of North America, v. 29, n. 2, p. 229–245, 2009.

ROTH, J.; BLATTEIS, C. M. Mechanisms of fever production and lysis: lessons from experimental LPS fever. Comprehensive Physiology, v. 4, p. 1563–604, 2014.

SANJUANELO, Alexander. Fiebre: actualización en el uso de antipiréticos. Precop, v. 11, n. 4, p. 26-35, 2013.

SCHARAGER MA. et al. Sarcopenic obesity and inflammation in the InCHIANTI study. J Appl Physiol. 2007;102(3):919–925. doi:10.1152/japplphysiol.00627.2006

SCHULER M. et al. PGC1alpha expression is controlled in skeletal muscles by PPARbeta, whose ablation results in fiber-type switching, obesity, and type 2 diabetes.

Cell Metab. 2006;4(5):407–414. doi:10.1016/j.cmet.2006.10.003

SEABRA, Carolina. Farmacocinética do ibuprofeno. 2015. Tese de Doutorado. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2015.

SMITS, M.M.; RAALTE, D.H. Safety of Semaglutide. Front Endocrinol (Lausanne). 2021

TRUJILLO, J.M et al. GLP-1 receptor agonists: an updated review of head-to-head clinical studies. Ther Adv Endocrinol Metab. vol. 12. 2021.

VIGGIANO, A. et al. Trigeminal pain transmission requires reactive oxygen species production. Brain Research, v. 1050, n. 1-2, p. 72–78, jul. 2005.

WANG, L. et al. Semaglutide attenuates seizure severity and ameliorates cognitive dysfunction by blocking the NLR family pyrin domain containing 3 inflammasome in pentylenetetrazole-kindled mice. International Journal of Molecular Medicine. v. 48 Issue 6. 2021.

WROTEK, S. et al. Antipyretic activity of N-acetylcysteine. Journal of Physiology and Pharmacology, v. 62, n. 6, p. 669–675, 2011.

YOUNG, I. S.; WOODSIDE, J. V. Antioxidants in health and disease Antioxidants in health and disease. Journal of Clinical Pathology, p. 176–186, 2001.

YU, X. et al. Liraglutide ameliorates non-alcoholic steatohepatitis by inhibiting NLRP3 inflammasome and pyroptosis activation via mitophagy. Eur J Pharmacol. 2019

ZAMPRONIO, A. R.; SOARES, D. M.; SOUZA, G. E. P. Central mediators involved in the febrile response: effects of antipyretic drugs. Temperature, v. 2, n. 4, p. 506–521, 2015.

ZHOU, J.Y. et al. Liraglutide improves insulin sensitivity in high fat diet induced diabetic mice through multiple pathways. Eur J Pharmacol. 2019.

ANEXOS

Universidade de Brasília
Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 14 de maio de 2024.

DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado **"Investigação dos efeitos de fármacos multialvo sobre a febre, neuroinflamação e alterações proteômicas induzidas por LPS em ratos"**, SEI nº **23106.018435/2024-11**, sob responsabilidade do(a) pesquisador(a) **Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza**, (**fhveigas@gmail.com**), 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.

Esse projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília na 214ª reunião ordinária, em **08/05/2024** para fins de **PESQUISA** e para utilização de **216 Rattus norvegicus (Wistar, 108 machos e 108 fêmeas)** provenientes do(a) Biotério da UniEvangélica (Anápolis).

O presente certificado é válido pelo período de **14/05/2024** a **31/08/2028**.

Universidade de Brasília UnB

Dr. Bruno Stéfano Lima Dallago
Coordenador da CEUA – UnB

Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

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