UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UnB
FACULDADE DE CIÊNCIAS E
TECNOLOGIAS EM SAÚDE (FCTS)
CURSO DE FARMÁCIA

RAISSA RODRIGUES DE ALBUQUERQUE

Ativação do receptor PPARγ na modulação da expressão proteica de iNOS em macrófagos.

BRASÍLIA, 2025

RAISSA RODRIGUES DE ALBUQUERQUE

Ativação do receptor PPARγ na modulação da expressão proteica de iNOS em macrófagos.

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, na Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências e Tecnologias em Saúde.

Orientadora: Professora Dra. Carine Royer

Co-orientadora: Professora Dra. Micheline Marie Milward de Azevedo Meiners

BRASÍLIA, 2025

RAISSA RODRIGUES DE ALBUQUERQUE

Ativação do receptor PPARγ na modulação da expressão proteica de iNOS em macrófagos.

BANCA EXAMINADORA

ORIENTADORA: Profa. Dra. Carine Royer
(UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS EM SAÚDE)

CONVIDADO: Prof. Dr.Tulio Nakazato da Cunha
(INSTITUTO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DE BRASÍLIA - IESB)

CONVIDADA: Mestranda Leilane de Morais Soares
(UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – NÚCLEO DE MEDICINA TROPICAL)

BRASÍLIA, 2025

“O cientista não é o homem que fornece as verdadeiras respostas; é quem faz as verdadeiras perguntas”.

Claude Lévi-Straus

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a Deus por me guiar ao longo da minha caminhada. Sem sua bênção este trabalho não teria sido possível. Sou imensamente grata à minha orientadora, Carine, por todo o seu conhecimento, dedicação e paciência, que nortearam o desenvolvimento deste trabalho, e que além disso, guiou minha experiência científica na UnB. Agradeço a todos os amigos que fiz durante a caminhada acadêmica. Cada conversa, risada e momento compartilhado foi essencial para tornar o percurso mais leve. Aos meus pais, Evandro e Railene, minha eterna gratidão por acreditarem em mim e por todo o esforço e cuidado que guiaram a minha caminhada ao longo da vida. Por fim, quero agradecer o meu namorado, Italo, por estar ao meu lado, compartilhando os momentos de alegria e tristeza e sempre me encorajando a seguir em frente. Sua paciência, amor e compreensão foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Regulação bioquímica do PPAR.....20
Figura 2. Biossíntese de NO a partir da família de enzimas NOS. 24
Figura 3. Efeito do tratamento com LPS sobre a expressão proteica de iNOS em células RAW 264.7. 31
Figura 4. Efeito de agonistas de PPARγ na expressão proteica da iNOS na ausencia de LPS em células RAW 264.7.. 32
Figura 5. Efeito da rosiglitazona e GQ-16 sobre a expressão proteica de iNOS estimulada por LPS em células RAW 264.7. 33
Figura 6. Bandas de western blot**.** 35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação do estado nutricional segundo o IMC. 15
Tabela 2. Critérios laboratoriais para diagnóstico de DM. 18
Tabela 3. Aumento da expressão de iNOS após estímulo inflamatório com LPS (100 ng/mL) em relação ao controle (DMSO 0,01%) expresso % para cada experimento analisado.. 32
Tabela 4. Valores de densitometria obtidos por western blot para a expressão de iNOS em células tratadas rosiglitazona (10^{-5} M).. 34
Tabela 5. Valores de densitometria obtidos por western blot para a expressão de iNOS em células tratadas com GQ-16 (10^{-5} M). 35

LISTA DE ABREVIAÇÕES

ABESO	Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica
AGEs	Produtos finais de glicação avançada
AKT	Proteína quinase B
ATP	Adenosina trifosfato
AVC	Acidente vascular cerebral
C-CBL	Linfoma de linhagem B de Casitas
CCL2	Quimiocina ligante 2
CCL3	Quimiocina ligante 3
CDK5	Quinase dependente de ciclina 5
COX	Ciclooxigenase
COX-2	Ciclooxigenase 2
DHA	Ácido docosahexaenóico
DM	Diabetes Mellitus
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DMEM	Meio Modificado de Eagle de Dulbecco
DMSO	Dilmetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
eNOS	Óxido nítrico sintase endotelial
EPM	Erro padrão da média
FABP4	Proteína 4 de ligação a ácidos graxos
GIP	Polipeptideo inibitório gástrico
GLP-1	Peptídeo 1 semelhante ao glucagon
GLUT4	Tranportador de glicose tipo 4
GY	Gray
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HSP70	Proteína 70 de choque térmico
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IDF	Federação internacional de diabetes
IFN-γ	Interferon gama
IKK	I kappa beta quinase
IL-17A	Interleucina 17 a
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4

IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corporal
INOS	Óxido nítrico sintase induzível
IRS	Substrato do receptor de insulina
IRS-1	Substrato 1 do receptor de insulina
IRS-2	Substrato 2 do receptor de insulina
JNK	Cinase c-Jun N-terminal
LPL	Lipoproteína lipase
LPS	Lipopolissacarídeo
M1	Macrófago do tipo 1
M2	Macrófago do tipo
MAPK	Quinase ativada por mitógeno
MTOR	Alvo da rapamicina em mamíferos
NFK	Fator nuclear kappa beta
nNOS	Óxido nítrico sintase neuronal
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORX	Xantina oxidase
P38 MAPK	Proteína 38 quinase da família das quinases ativadas por mitógeno
PI3K	Fosfatidilinositol 3-quinase
PKC	Proteína quinase C
PPAR	Receptor ativado por proliferadores peroxissomais
PPARα	Receptor alfa ativado por proliferadores peroxissomais
PPARβ/δ	Receptor beta/delta ativado por proliferadores peroxissomais
PPARγ	Receptor gama ativado por proliferadores peroxissomais
PPRE	Elemento responsivo ao PPAR
PVDF	Polifluoreto de vinilideno
PYY	Peptídeo plasmático de jejum YY
RANTES/CCL5	Quimiocina ligante 5
RBP44	Proteína 44 ligadora de RNA
RNS	Espécies reativas de nitrogênio
RPM	Rotações por minuto
RXR	Receptor do retinóide X
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SREBP	Proteína de ligação ao elemento regulador de esteróis

TLR4	Receptores semelhantes a Toll 4
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
TTGO	Teste oral de tolerância à glicose
TZDs	Tiazolidinedionas
UCP-1	Proteína desacopladora 1
VIGITEL	Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

RESUMO

Como medida farmacológica contra DM2, as tiazolidinedionas, como a rosiglitazona e pioglitazona, atuam como agonistas totais do receptor PPARγ e são eficazes no que se diz respeito à sensibilização de insulina, porém efeitos adversos graves condenam a utilização segura desses medicamentos. Logo, a procura do desenvolvimento de agonistas parciais do PPARγ como o GQ-16, inspira e visa a segurança clínica, a fim de evitar a toxicidade induzida por agonistas totais, propondo uma ativação mais equilibrada do receptor. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da rosiglitazona e GQ-16 na expressão proteica de iNOS em cultura de macrófagos 264.7 com ou sem presença de estímulo inflamatório, e analisar o envolvimento do receptor PPARγ com o antagonista, T007. As células foram tratadas com LPS (100 ng/ml), após 30 minutos, com o T007 (20 μM), e após 60 minutos, com a rosiglitazona (10^{-5} M), GQ-16 (10^{-5} M) ou DMSO (0,01%) por 24 horas. Após o tratamento, as células foram coletadas, lisadas, e analisadas por *western blot*, utilizando anticorpos anti-iNOS (1:1000) e anti-GAPDH (1:4000). As bandas foram quantificadas por densitometria por meio do software Image J, e os dados foram processados estatisticamente e apresentados na forma de média +/- erro padrão da média (EPM), sendo comparados por teste U de Man-Whitney para 2 amostras ou Kruskal-Wallis para avaliação de múltiplos grupos experimentais com $p < 0,05$. Contudo, resultados obtidos não apresentaram significância estatística devido ao número limitado de experimentos (n=3), indicando a necessidade de estudos adicionais para confirmar essa hipótese. Logo, conclui-se que os agonistas de PPARγ são alvos promissores para o tratamento da obesidade e de doenças inflamatórias, porém novos experimentos devem ser executados.

Palavras-chave: PPARγ, GQ-16, rosiglitazona, LPS, iNOS.

ABSTRACT

As a pharmacological measure against DM2, thiazolidinediones, such as rosiglitazone and pioglitazone, act as full agonists of the PPARγ receptor and are effective in terms of insulin sensitization, but serious adverse effects condemn the safe use of these medications. Therefore, the search for the development of partial PPARγ agonists such as GQ-16, inspires and aims at clinical safety, in order to avoid toxicity induced by full agonists, proposing a more balanced activation of the receptor. The objective of this study was to evaluate the effects of rosiglitazone and GQ-16 on the protein expression of iNOS in cultured 264.7 macrophages with or without the presence of an inflammatory stimulus, and to analyze the involvement of the PPARγ receptor with the antagonist, T007. The cells were treated with LPS (100 ng/ml), after 30 minutes, with T007 (20 μM), and after 60 minutes, with rosiglitazone (10^{-5} M), GQ-16 (10^{-5} M) or DMSO (0,01%) for 24 hours. After treatment, cells were collected, lysed, and analyzed by *western blot,* using anti-iNOS (1:1000) and anti-GAPDH (1:4000) antibodies. The bands were quantified by densitometry using the Image J software, and the data were statistically processed and presented as mean +/- standard error of the mean (SEM), being compared using the Man-Whitney U test for 2 samples or the Kruskal-Wallis test for evaluating multiple experimental groups with $p < 0.05$. However, results obtained did not show statistical significance due to the limited number of experiments (n=3), indicating the need for additional studies to confirm this hypothesis. Therefore, it is concluded that PPARγ agonists are promising targets for the treatment of obesity and inflammatory diseases, but new experiments must be carried out.

Keywords: PPARγ, GQ-16, rosiglitazone, LPS, iNOS.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 14

1.1. Obesidade e inflamação 14

1.2. Diabetes Mellitus 16

1.3. PPARγ e seus agonistas 19

1.4. Óxido Nítrico Sintase Induzível 23

2. JUSTIFICATIVA 26

3. OBJETIVOS 27

3.1. Objetivo Geral 27

3.2. Objetivos Específicos 27

4. METODOLOGIA 28

4.1. Cultura celular 28

4.2. Tratamento e lise celular 28

4.3. *Western Blot* 29

4.4. Análise estatística 30

5. RESULTADOS 31

5.1. Efeito do LPS e de agonistas PPARγ na expressão proteica da iNOS com 24 horas de tratamento em células RAW 264.7. 31

5.2. Efeito da rosiglitazona, GQ-16 e T007 na expressão proteica da iNOS estimulada pelo LPS em células RAW 264.7. 33

6. DISCUSSÃO 36

7. CONCLUSÃO 40

8. REFERÊNCIAS 41

1. INTRODUÇÃO

1.1. Obesidade e inflamação

A obesidade é uma condição crônica definida como o acúmulo excessivo de gordura em diversas partes do corpo. De acordo com a OMS, em 2022, uma em cada oito pessoas vivia com obesidade no mundo, e 43% dos adultos com mais de 18 anos estavam acima do peso (World Health Organization, 2022).

O ambiente moderno e a urbanização são estímulos influentes para o desenvolvimento da obesidade, resultantes da diminuição dos níveis de atividades físicas, hábitos alimentares calóricos, aumento do estresse e de outros fatores ambientais. A obesidade é considerada uma inflamação crônica de baixo grau (Yende; Sharma, 2024) e contribui para o aumento do risco de doenças subjacentes, como Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), doenças cardiovasculares, osteoartrite, insuficiência renal, disfunção hepática e vários tipos de câncer (ABESO, 2016).

O diagnóstico de obesidade é realizado a partir de três avaliações: índice de massa corporal (IMC), que é calculado pela divisão do peso em quilograma pela altura em metros elevada ao quadrado (kg/m²), sendo o valor indicativo de obesidade igual ou maior a 30, avaliação antropométrica do percentual de gordura, que considera valores superiores a 30% para homens e superiores a 35% para mulheres, e a medida da circunferência abdominal, com valores de referência que variam de acordo com a etnia e sexo. Para sul-americanos, os valores de referência são ≥90cm para homens e ≥80 cm para mulheres (ABESO, 2016). Estudos realizados por Carreras-Torres e colaboradores (2017) evidenciam que o aumento do IMC está relacionado a um maior risco de câncer pancreático.

A tabela 1 mostra a classificação de obesidade de acordo com a ABESO (2016). No entanto, o resultado do IMC, por si só, não é suficiente para o diagnóstico de obesidade, já que não ocorre a diferenciação entre massa magra e gordura, especialmente em indivíduos idosos (Kok; Seidell; Meinders, 2004), portanto, a combinação dos métodos ajuda a minimizar as limitações de cada uma das avaliações (ABESO, 2016).

Tabela 1. Classificação do estado nutricional segundo o IMC.

IMC	CLASSIFICAÇÃO	GRAU DE OBESIDADE
<18,5	Baixo peso	0
18,5-24,9	Normal	0
25-29,9	Sobrepeso	0
30-34,9	Obesidade	I
30-39,9	Obesidade	II
≥40,0	Obesidade grave	III

Fonte: ABESO, 2016.

O tecido adiposo é subdividido em tecido adiposo branco e tecido adiposo marrom (Koenen et al., 2021). O tecido adiposo branco é especializado em armazenar energia na forma de triglicerídeos, atua como isolante térmico e é regulador endócrino, sendo composto por células chamadas adipócitos (Longo et al., 2019). Durante a obesidade, há aumento do tecido adiposo branco, que se acumula ectopicamente em áreas mesentéricas, omentais ou retroperitoneais (Chandrasekaran; Weiskirchen, 2024).

Por outro lado, o tecido adiposo marrom, que representa em média 4,3% de todo tecido adiposo em humanos, é encontrado em depósitos cervicais, supraclaviculares, axilares, paraespinhais, mediastinais, abdominais e interescapulares em recém-nascidos. Esse tipo de tecido está associado à termogênese sem tremores, a partir da desacoplação da fosforilação oxidativa da produção de ATP pela UCP-1, o que ajuda a proteger os animais da hipotermia (Koenen et al., 2021).

Os adipócitos secretam diversas adipocinas, como adiponectina, leptina, visfatina, resistina, apelina, omentina, RBP4, vaspatina, entre outras, que desempenham papéis significativos em diversos órgãos (Chandrasekaran; Weiskirchen, 2024), além disso, liberam diversos tipos de quimiocinas, hormônios e fatores de crescimento que atuam na relação entre a obesidade e a inflamação (Lumeng; Bodzin; Saltiel, 2007).

Durante a obesidade, o tecido adiposo favorece a polarização dos macrófagos, promovendo a transição do fenótipo anti-inflamatório (M2) para o fenótipo pró-inflamatório (M1), devido ao desequilíbrio das adipocinas presentes, resultando no aumento da adiponectina, que possui características pró-inflamatórias, pró-angiogênicas e pró-proliferativas. Ao mesmo tempo, ocorre a diminuição da leptina, que possui propriedades anti-inflamatórias, antiangiogênicas e antiproliferativas. Esse desequilíbrio contribui para o recrutamento de diversas quimiocinas, que promovem o estado de inflamação crônica (Lumeng; Bodzin; Saltiel, 2007).

Em resposta ao acúmulo excessivo de gordura, os adipócitos sofrem hipertrofia e remodelação, causando morte celular e hipóxia, o que facilita a ruptura celular e impulsiona a infiltração de macrófagos que detém o objetivo de fagocitar os adipócitos além de aumentar o nível de ácidos graxos devido a ruptura celular, se ligando a agonistas de TLR4, induzindo resposta inflamatória (Ren et al., 2022).

Outrossim, os adipócitos e macrófagos secretam quimiocinas como CCL2, CCL3 e RANTES/CCL5, as quais atuam recrutando ainda mais macrófagos para o tecido adiposo, culminando na alteração da regulação de citocinas e ativando vias inflamatórias como: MAPK; p38MAPK, JNK, NFκB, mTOR, aumento da produção de TNF-α, IL-6, IL-2, IL1β, COX-2, geração de espécies reativas de oxigênio, como óxido nítrico (NO), por meio da ativação de iNOS e diversas proteínas quinases que estão relacionadas à resistência de insulina pela fosforilação da serina no substrato do receptor de insulina (IRS) (Ren et al., 2022).

Estudos de Kanda (2006), demonstraram que a redução do recrutamento de macrófagos em tecidos diminui a resistência à insulina em modelos animais.

1.2. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) é um importante problema de saúde mundial, e afeta mais de 800 milhões de pessoas mundialmente (Zhou et. al., 2024). No Brasil, a

prevalência do diabetes é de 10,5%, posicionando o país em 6º lugar entre os que possuem o maior número de pessoas com diabetes tipo 2 (IDF, 2021).

A crescente incidência do diabetes está relacionada à rápida urbanização, transição epidemiológica e nutricional, resultando em maior prevalência do estilo de vida sedentário devido a mudanças significativas do estilo de vida e padrão alimentar, fatores que promovem o excesso de peso, além do envelhecimento da população, estando intimamente relacionado a mudanças fisiológicas e fatores de risco cumulativos (SBD, 2020).

O DM2 corresponde a 90% dos casos de DM. É uma doença poligênica, genética com tendências a fatores ambientais. Fatores de risco para DM2 como idade, etnia, histórico familiar, obesidade, hipertensão arterial, histórico de doenças cardiovasculares são peças fundamentais para a investigação do diagnóstico de DM2 (Skyler, et al., 2017).

A prevalência do DM aumenta com a idade, sendo mais elevada entre os brasileiros com 65 anos ou mais (30,3%), seguida pelas faixas etárias de 56 a 64 anos (22,4%) e 45 a 54 anos (10,4%), conforme dados do VIGITEL em 2023.

O desenvolvimento do DM2 ocorre devido à deficiência na síntese e secreção de insulina pelas células β pancreáticas, além de estar associado à resistência à insulina nos tecidos periféricos resultando em hiperglicemia plasmática, hiperglucagonemia, disfunção incretínica, aumento da lipólise, aumento de ácidos graxos livres circulantes e aumento da reabsorção renal de glicose (SBD, 2020).

Os sintomas típicos de hiperglicemia incluem poliúria, polidipsia, polifagia, perda de peso inexplicada e desidratação. Além disso, podem surgir sintomas sugestivos, como noctúria, visão turva, cansaço, infecções recorrentes e dificuldade na cicatrização de feridas (SBD, 2024).

As complicações decorrentes do diabetes são classificadas como distúrbios microvasculares e macrovasculares, que ocasionam retinopatia, nefropatia, neuropatia, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, além de estarem associadas a diversos tipos câncer (Gregg, et al., 2016).

Para o diagnóstico de DM são validadas três formas principais de exames, sendo eles o exame da dosagem de glicose em jejum, que mede a glicemia após jejum

de no mínimo 8 horas, o teste oral de tolerância à glicose (TTGO), que consiste na ingestão de uma solução padronizada com 75g de glicose dissolvida em água, a fim de avaliar após 1 ou 2 horas, como o corpo metaboliza a glicose, e o teste da hemoglobina glicada (HbA1c), que fornece uma média da glicose sanguínea periférica ao longo dos últimos três meses, sofrendo menos variabilidade do dia a dia (American Diabetes Association, 2019). Para obter uma compreensão clara, a tabela 2 explicita os valores de glicose determinados pela SBD para normoglicemia, pré-diabetes e diabetes estabelecido, de acordo com cada exame.

Tabela 2. Critérios laboratoriais para diagnóstico de DM.

	Glicose em jejum (mg/dL)	**(TTGO) glicose 1 hora após sobrecarga com 75g de glicose (mg/dL)**	**(TTGO) glicose 2 horas após sobrecarga com 75g de glicose (mg/dL)**	**Glicose ao acaso (mg/dL)**	**HbA1c (%)**
Normoglicemia	< 100	< 155	< 140	-	< 5,7
Pré-diabetes	100 - 125	155 - 208	140 - 199	-	5,7 -6,4
Diabetes estabelecido	≥ 126	≥ 209	≥ 200	≥ 200	≥ 6,5

Fonte: SBD, 2024.

O uso de certos medicamentos representa um fator de risco para o desenvolvimento de DM2, devido à hiperglicemia induzida. Medicamentos como glicocorticoides, quando utilizados em doses altas associados a longos períodos de tratamento, são responsáveis pelo risco, além da associação a fatores de risco como idade avançada, IMC elevado, histórico prévio de hiperglicemia, histórico familiar de diabetes e HbA1c ≥ 6%, que contribuem para o aumento da probabilidade do desenvolvimento da doença (Suh; Park, 2017).

Adicionalmente, o uso de antipsicóticos tem sido associado ao risco de DM através da alteração da sensibilidade e secreção de insulina ou ganho de peso. Os fármacos mais associados a esse risco incluem clorpromazina, clozapina, olanzapina, quetiapina e risperidona (Holt, 2019).

A evolução do DM2 pode ser prevenida ou atrasada por meio de alterações do estilo de vida, abrangendo intervenções não farmacológicas que incluem o hábito de alimentação saudável e práticas de atividades físicas. Estudos conferem que a perda de peso é essencial para reduzir o risco de DM2 (Lindstrom et al., 2006), melhorando o controle glicêmico, aumentando as chances de remissão e diminuindo o risco de complicações microvasculares (Lean et al., 2019).

A redução de HbA1c para níveis abaixo de 7% está associada à melhoria nos desfechos microvasculares, como retinopatia, doença renal e neuropatia (UKPDS, 1998). A cada 1% de redução na HbA1c resulta em uma redução 14% no risco de infarto agudo do miocárdio (IAM) e 12% no risco de acidente vascular cerebral (AVC) fatal e não fatal (Holman et al., 2008).

O rastreamento de DM2 apresenta um bom custo-benefício. Estudos de Chatterjee e colaboradores em 2010 indicam que, em um período de três anos, os custos associados ao rastreamento e às intervenções, como o uso de metformina e mudanças no estilo de vida, são menores do que os custos de não realizar o diagnóstico, reduzindo a propensão para o desenvolvimento de DM.

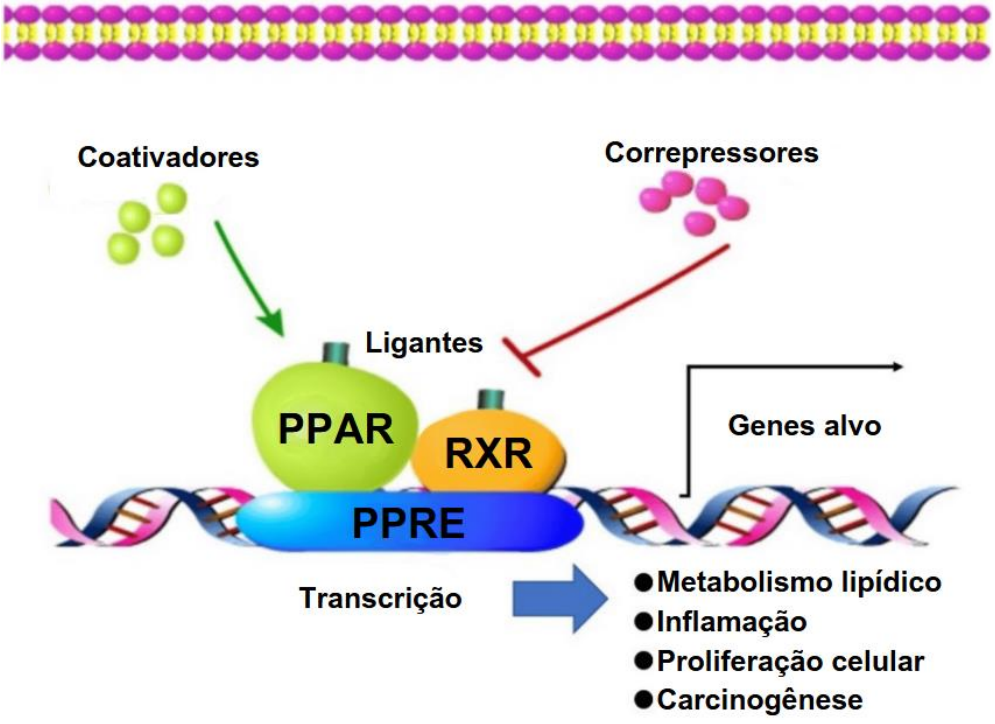
No entanto, como as medidas farmacológicas para doença já estão estabelecidas, a escolha se baseia em antidiabéticos que estimulam a secreção de insulina pelo pâncreas, como as sulfonilureias e glinidas. Já os inibidores das alfaglicosidades retardam a velocidade de absorção e digestão de glicose, enquanto as biguanidas diminuem a secreção hepática de glicose. Além disso, as glitazonas são sensibilizadores de insulina em músculos, adipócitos e hepatócitos, enquanto os que exercem efeito incretínico são mediados pelos hormônios são os GLP-1 e GIP (SBD, 2020).

1.3. PPARγ e seus agonistas

Os PPARs são membros da superfamília de receptores nucleares e desempenham um papel crucial na regulação do metabolismo de componentes lipídicos, homeostase energética, desenvolvimento e diferenciação de adipócitos (Cheng et al., 2019), modulação inflamatória, proliferação celular, apoptose e progressão tumoral (Li et al., 2014). Além disso, desempenham papéis reconhecidos em diabetes, câncer e aterosclerose (Wu; Zhang; Faircloth, 2022).

Os PPARs possuem um domínio A/B N-terminal, domínio C de ligação ao DNA, domínio D e um domínio o domínio E/F de ligação ao ligante C-terminal (Zieleniak; Wójcik; Wozniak, 2008). Após a ligação do ligante no domínio E/F, os PPARs se translocam para o núcleo, onde se heterodimerizam com o receptor RXR nuclear, formando o complexo PPAR-RXR que posteriormente se liga aos elementos de resposta do proliferador de peroxissomo (PPREs) pelo domínio C, localizado em promotores do gene-alvo para regular a transcrição (Chan; Wells, 2009). O nível da expressão de cofatores é essencial para a especificidade das respostas fisiológicas aos agonistas de PPAR ou RXR (WU, Zhang, Faircloth, 2022). A figura 1 demonstra a regulação bioquímica do PPAR.

Figura 1. Regulação bioquímica do PPAR. Os ligantes se ligam ao domínio E/F do PPAR, promovendo sua translocação nuclear e formando um heterodímero com o RXR. Esse complexo se conecta ao PPRE nos genes alvo. Esses genes estão envolvidos em situações de metabolismo lipidico, inflamação, proliferação celular e carcinogenese. A ligação do ligante causa alterações confomacionais que facilitam a interação com complexos coativadores ou correpressores.



Fonte: Adaptado de Wu; Zhang; Faircloth, 2022.

A família PPAR consiste em três membros: PPARα, PPARβ/δ e PPARγ. Com relevância notável, os PPARs são reguladores significativos da imunidade inata e da resposta inflamatória. Eles exercem uma função vital na conexão entre distúrbios

metabólicos e inflamação crônica de baixo grau, que se interrelacionam em doenças metabólicas crônicas (Wahli; Michalik, 2012).

A ativação de PPARα regula o metabolismo de aminoácidos, carboidratos e lipídios, estimulando o catabolismo de ácidos graxos e desencadeando a redução de triglicerídeos e aumento do nível plasmático de HDL (lipoproteína de alta densidade), pois regula a expressão de lipoproteína lipase (LPL), genes de apolipoproteína, genes de transporte e oxidação de ácidos graxos, genes para metabolismo de HDL e síntese de cetonas. Logo, o uso de agonistas do PPARα é valido para tratar hiperlipidemia e doenças cardiovasculares (Contreras; Torres; Tovar, 2013).

O papel fisiológico da ativação do PPARβ/δ é desempenhar a atuação no metabolismo lipídico que envolve o catabolismo de ácidos graxos e desacoplamento de energia, já que favorece a β-oxidação nos músculos esqueléticos, aumentando a resistência muscular durante exercícios físicos. Com essa atividade mitocondrial, o receptor PPARβ/δ contribui para a manutenção das células β pancreáticas, e, consequentemente, na secreção de insulina diante de exposição de lipotoxicidade (Fan et al., 2017).

O papel do PPARγ é fundamental para a expressão de genes envolvidos na adipogênese e sensibilização de insulina. Ele ativa a expressão de genes envolvidos na adipogênese, a partir da interação com SRBP e FABP4 (Malodobra-Mazur; Oldakowska; Dobosz, 2024). O PPARγ estimula a captação de lipídios e a lipogênese nos tecidos adiposos, reduzindo a presença de triglicerídeos circulantes e ácidos graxos livres. Ademais, os genes responsáveis pela captação de glicose dependente de insulina (GLUT4, IRS-1, IRS-2 e C-CBL) e adipocinas respondem ao PPARγ, influenciando na sinalização da insulina (Ahmadian et al., 2013). O PPARγ conta com alguns ligantes naturais, como ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos monoinsaturados, ácido docosahexaenóico, ácido eicosatetraenóico, diversos alimentos, poluentes ambientais e ftalatos. Também conta com ligantes sintéticos como os fibratos e tiazolidinedionas (TZDs) (Bertschi et al., 2023).

O PPARγ humano possui duas isoformas: hPPARγ^1 e γ^2. A isoforma hPPARγ^2 é predominantemente expressa no tecido adiposo, enquanto a hPPARγ^1 é amplamente expressa em outros tecidos (Zieleniak; Wójcik; Wozniak, 2008).

O PPARγ sofre regulação epigenética. A interrupção do gene do PPARγ tem consequências em diversas patologias, como obesidade e resistência insulínica. Em obesos, o promotor do PPARγ é hipermetilado, resultando na regulação negativa de diversos genes essenciais da resposta insulínica (Malodobra-Mazur; Oldakowska; Dobosz, 2024).

Devido sua importância regulatória do metabolismo, diversos agonistas (aprovados e experimentais) foram sintetizados, como pioglitazona, rosiglitazona, GSK376501, CHS-131, PN2034, FK614, MK0533, rivoglitazona e balaglitazona para tratar pacientes com DM2 (Cheng et al., 2019).

Ainda que os agonistas totais do PPARγ atuem melhorando as anormalidades lipídicas e glicêmicas, sua utilização para controle de peso não é o ideal pois induzem ganho de peso proveniente do acúmulo e redistribuição de depósitos de gordura e retenção de líquidos corporais. Estudos constataram que pacientes que receberam rosiglitazona obtiveram menor expressão do hormônio Peptídeo Plasmático de Jejum YY (PYY), que é envolvido na regulação do apetite, logo, vivenciaram aumento da fome, o que pode explicar o ganho de peso induzido por TZDs. Evidências demonstram que o uso de agonistas PPARγ não são recomendados para controle de peso (Ko; Kim; Lee, 2017; Berberoglu, et al., 2011). Além do ganho de peso, uma série de eventos adversos acompanham os agonistas totais do receptor PPARγ, advindos pelo risco de retenção de líquidos, perda óssea, risco de câncer de bexiga e insuficiência cardíaca congestiva (Ahmadian et al., 2013).

O desenvolvimento de uma nova TZD que preserve a eficácia antidiabética e que evoque menos efeitos adversos graves associados à ativação completa do PPARγ, suscita a criação do agonista parcial GQ-16 (5-(5-bromo-2-metoxi-benzilideno)-3-(4-metil-benzil)-tiazolidina-2,4- diona) (Amato, et al., 2012).

O GQ-16 exibe atividade antidiabética em camundongos, e sem efeitos adversos graves (Amato, et al., 2012). Estudos mostraram que o GQ-16 inibe a fosforilação do Ser-273 mediada por CDK5, estabilizando a porção folha β do receptor PPARγ, prevenindo a desregulação de genes-alvo da adiponectina e resistência à insulina (Choi, et al., 2010). Logo, o desenvolvimento de agonistas parciais abre possibilidades para o manejo de tratamentos para pacientes com DM2 sem riscos graves à saúde.

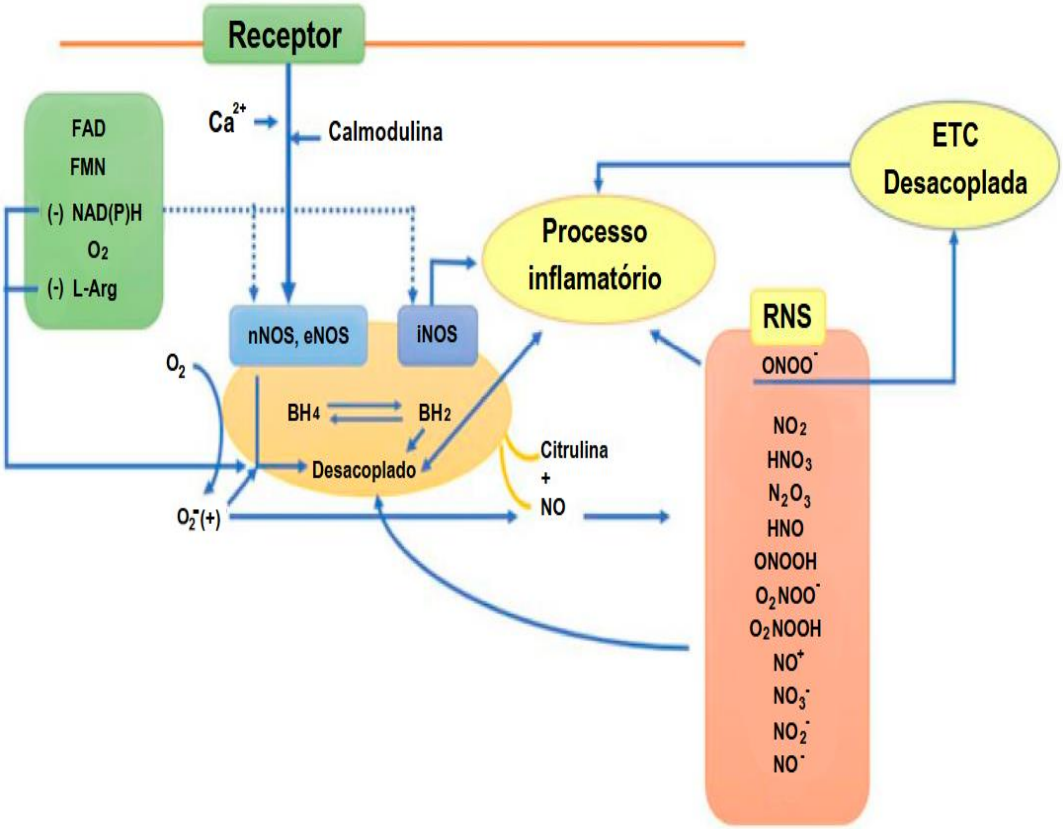
1.4. Óxido Nítrico Sintase Induzível

As RNS (espécies reativas de nitrogênio) são metabólitos da oxidação do óxido nítrico e são sintetizadas quando os níveis de NO aumentam exacerbadamente, portanto, está envolvida na patogênese de diversos distúrbios (Pérez-Torres et al., 2017; Lancaster, 2006).

O NO é sintetizado pela família de enzimas óxido nítrico sintases (NOS) que possuem três isoformas: neuronal (nNOS), induzível (iNOS) e endotelial (eNOS). O substrato dessas enzimas é o aminoácido L-arginina, e a reação requer como cofatores a molécula de O2, dinucleotídeo flavina adenina (FAD), mononucleotídeo flavina (FMN), Ca^{2+}, calmodulina, BH4 e NAD(P)H (Tegeder, 2019).

Para a ativação enzimática, é necessário processo de homodimerização, logo, a L-arginina sofre hidroxilação por 2 moles de O_2 e 1,5 mol de NADPH formando a N^G-hidroxi-l-arginina, que após oxidação se transforma em L-citrulina, H_2O e NO (Arral; Halpern, 2018). As etapas são catalisadas pelo complexo de ferro heme presente na enzima (Tegeder, 2019). O O_2^- necessário pode vir da cadeia de transporte de elétrons na mitocôndria, de peroxissomos, NAD(P)H oxidases, xantina oxidases (ORX), citocromo p450 ou das vias da ciclooxigenase (COX) (Chakravarti; Chakravarti, 2017). Os processos bioquímicos envolvidos na formação do NO são representados na figura 2.

Figura 2. Biossíntese de NO a partir da família de enzimas NOS. O NO é sintetizado pelas isoformas nNOS, eNOS e iNOS e requer L-arginina como substrato. Em seguida é convertida em L-citrulina, resultando em NO.



Fonte*:* Adaptado de Pérez-Torres et al., 2020*.*

A iNOS funciona independente de íons de cálcio, ao contrário de outros tipos de NOS. Essa característica permite que a iNOS sustente altos níveis de produção de NO durante a resposta inflamatória (Shan et al., 2024).

O óxido nítrico liberado pela iNOS é responsável pela vasodilatação e resistência a vasoconstritores característicos do choque séptico (Epstein; Moncada; Higgs, 1993). Além disso, a iNOS é a isoforma associada ao início e progressão do câncer (Burke et al., 2013) devido papéis como dano ao DNA, ativação de oncogenes, inibição de enzimas de reparo de DNA e genes supressores de tumor, modulação de apoptose e metástase (Kashfi; Kannikal; Nath, 2021).

Diversos mediadores, incluindo espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, desencadeiam a superexpressão da iNOS durante o processo inflamatório, modulando condições inflamatórias agudas e crônicas (Laroux et al., 2000). A isoforma iNOS é ausente em células em repouso sendo induzida por citocinas e lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) (Kashfi; Kannikal; Nath, 2021).

As vias de sinalização MAPK e NF-κB são reguladoras da expressão gênica da iNOS. Na via NF-κB, o dímero p65-p50 se transloca para o núcleo a partir do citoplasma para induzir a expressão do gene da iNOS. Logo, sob estímulo de LPS, se liga ao TLR4 na superfície das membranas dos macrófagos, leva à ativação das vias de sinalização MAPK ou NF-κB e à expressão do gene iNOS. Além disso, citocinas inflamatórias como TNF-α, IL-1β, IFN-γ, LPS, hipóxia, estresse oxidativo e a proteína Hsp70 são reguladores não genéticos da iNOS. (Kashfi; Kannikal; Nath, 2021).

A hiperglicemia, sinal típico do DM, causa disfunção das células endoteliais e das células do sistema imune, com subsequente ativação da proteína quinase C (PKC). Com isso, o aumento da glicemia plasmática induz a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) que resultam em muitas das complicações subjacentes da doença. A formação acelerada não enzimática de AGEs na hiperglicemia aumenta a expressão e a atividade da NAD(P)H oxidase, que então gera mais O_2^- via ativação PKC. Essa condição inflamatória leva ao aumento da expressão da iNOS que utiliza o NADPH como cofator e, consequentemente, ao aumento da produção de NO (Guzik et al., 2000).

2. JUSTIFICATIVA

A obesidade é considerada um estado de inflamação crônica de baixo grau, estando diretamente ligada a doenças metabólicas, como DM2. Estudos demonstraram que a ativação do receptor PPARγ por agonistas totais tem efeitos eficazes no tratamento de resistência à insulina e DM2, porém estão associados a efeitos adversos, como ganho de peso, retenção de líquidos, perda óssea e toxicidade cardiovascular. O GQ-16, como agonista parcial do receptor PPARγ, por outro lado, mostrou efeito sensibilizador de insulina, sem efeitos adversos graves.

A iNOS é uma enzima que produz NO, e sua superexpressão está associada a várias doenças crônicas inflamatórias, incluindo DM2. A partir dessa informação, o ajuste fino do estudo dos agonistas parciais do receptor PPARγ e a modulação da expressão proteica de iNOS surge como uma opção viável para abrir novos caminhos para o tratamento de DM2.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Analisar experimentalmente como os agonistas do receptor PPARγ afetam a expressão proteica da iNOS em macrófagos murinos cultivados da linhagem RAW 264.7, quando expostos ou não a um estímulo inflamatório.

3.2. Objetivos Específicos

- Estudar o efeito da rosiglitazona e GQ-16 em 24 horas de tratamento sobre a expressão proteica de iNOS, com e sem LPS, em cultura de macrófagos.
- Estudar o efeito do antagonista de PPARγ T007 sobre a expressão proteica de iNOS em cultura de macrófagos.

4. METODOLOGIA

4.1. Cultura celular

Macrófagos murinos da linhagem 264.7 foram cultivados em meio de cultura DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) contendo 2 mM de glutamina, 50U/mL de penicilina, 50 µL/mL de estreptomicina e 10% de soro fetal bovino em atmosfera a 37ºC e 5% de CO_2. O meio de cultura foi trocado a cada 2 dias para conferir nutrição e diferenciação dos macrófagos, e após confluência celular de aproximadamente 80%, 500 mil células foram plaqueadas em placas de 6 poços.

4.2. Tratamento e lise celular

Foram realizados 9 tratamentos:

1. DMSO (0,01%)
2. LPS (100 ng/mL)
3. T007 (20 µM)
4. Rosiglitazona (10^{-5} M)
5. Rosiglitazona + LPS
6. T007 + LPS + Rosiglitazona
7. GQ-16 (10^{-5} M)
8. GQ-16 + LPS
9. T007 + LPS + GQ-16

No tempo 0, foi administrado o LPS (100 ng/mL). Após 30 minutos, foi adicionado o antagonista do receptor PPARγ, T007 (20 µM). No tempo 60 minutos foram adicionados os agonistas (GQ-16 a 10^{-5} M e rosiglitazona a 10^{-5} M) e o controle (DMSO 0,01%).

Após 24 horas de tratamento, os poços das placas foram lavados com tampão PBS-EDTA gelado. Para a lise celular, foi adicionado o tampão de lise (tampão RIPA contendo ortovanadato de sódio a 2 mM, pirofosfato de sódio a 10 mM e coquetel inibidor de proteases diluído 100x. As células aderentes foram removidas das placas utilizando um raspador de células e transferidas para microtubos tipo Eppendorf. Em

seguida, as amostras foram lisadas por meio updown com seringa e agulha. Após a lise, as amostras permaneceram no gelo por 30 minutos e então foram centrifugadas a 12.000 RPM por 10 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi coletado, transferido para novos microtubos e armazenado em freezer a -80 °C.

A dosagem de proteínas foi realizada pelo método de Bradford, utilizando leitor de placas e leitura da absorbância a 595 nanômetros. Para cada amostra, foram utilizadas 15 ou 20 µg de proteínas. Após a quantificação, as proteínas foram desnaturadas em banho seco a 95 °C por 5 minutos, previamente preparadas em tampão de amostra Laemmli à base de β-mercaptoetanol, e após isso, armazenadas em freezer a -80 °C.

4.3. *Western Blot*

As amostras foram aplicadas em gel de acrilamida a 10% e submetidas à eletroforese em voltagem de 100V por 1 hora e 30 minutos em solução de eletroforese. Após a eletroforese, os géis foram transferidos para membrana de PVDF em sistema semisseco a 24V por 1 hora e 30 minutos em tampão de tranferencia.

Em seguida, as membranas foram submetidas à solução de bloqueio (5% de leite em pó desnatado Molico em TBS-T) por 2 horas, à temperatura ambiente, sob agitação. Após o bloqueio, as membranas foram lavadas com TBS-T e incubadas com o anticorpo anti-iNOS (Ref.: ab15323, Abcam) produzido em coelho, na diluição de 1:1000 em solução de bloqueio (5% de leite em pó desnatado em TBS-T), durante a noite a 4 °C sob agitação.

Após esse período, as membranas foram lavadas novamente com TBS-T e incubadas com o anticorpo secundário anti-coelho conjugado com peroxidase, na diluição de 1:4000 em solução de bloqueio a 1%, por 1 hora à temperatura ambiente, sob agitação. Para a detecção das bandas por quimioluminescência, foi utilizado o reagente Amersham ECL Prime, seguido da revelação em um fotodocumentador.

Para o controle interno, a membrana foi submetida ao processo de lavagem, seguida de bloqueio com solução de bloto a 5%. Posteriormente, foi incubada *overnight* com o anticorpo primário anti-GAPDH (1:1000) produzido em coelho, seguido pelo anticorpo secundário anti-coelho conjugado com peroxidase (1:4000).

4.4. Análise estatística

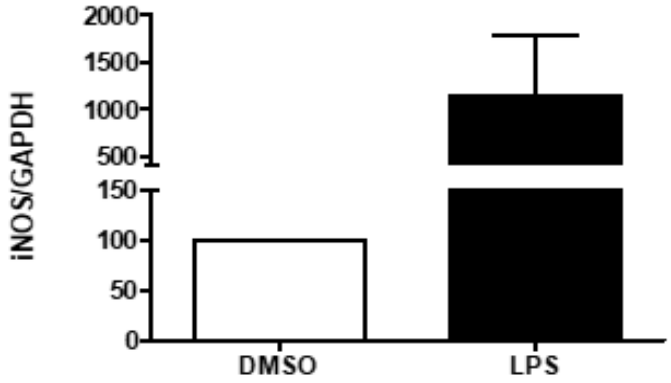
A quantificação das bandas foi realizada utilizando o software ImageJ. Os resultados foram analisados e apresentados na forma de média +/- erro padrão da média (EPM), sendo comparados por teste U de Man-Whitney para 2 amostras ou Kruskal-Wallis para avaliação de múltiplos grupos experimentais. O critério de significância das análises foi o valor de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Efeito do LPS e de agonistas PPARγ na expressão proteica da iNOS com 24 horas de tratamento em células RAW 264.7.

Na Figura 3, observa-se que o tratamento de cultura de macrófagos com LPS (100 ng/mL) por 24 horas aumentou a expressão de iNOS em comparação ao controle com DMSO (0,01%), porém não alcançou significância estatística, uma vez que o número de experimentos foi 3, tendo uma grande variação entre os experimentos, embora em todos os experimentos, o LPS (100 ng/mL) aumentou (tabela 3). O LPS foi escolhido para estimular a inflamação devido ao reconhecimento e validação em estudos inflamatórios. Sua acessibilidade permite uma fácil padronização em experimentos.

Figura 3. Efeito do tratamento com LPS sobre a expressão proteica de iNOS em células RAW 264.7. Macrófagos murinos da linhagem RAW 264.7 foram tratados com controle (DMSO 0,01%) e LPS (100 ng/mL) por 24 horas. Após o tratamento, as células foram coletadas e lisadas com tampão de lise celular, e a expressão proteica da enzima iNOS foi detectada por *western blot.* Como controle interno foi usada a GAPDH. Os resultados são expressos como média ± erro padrão da média (n=3) e $p < 0,05$. Não foi observada significância estatística, quando comparados por teste U de Man-Whitney para 2 amostras ou Kruskal-Wallis para avaliação de múltiplos grupos experimentais.



Fonte: Autoria própria, Graph Prism 5.0.

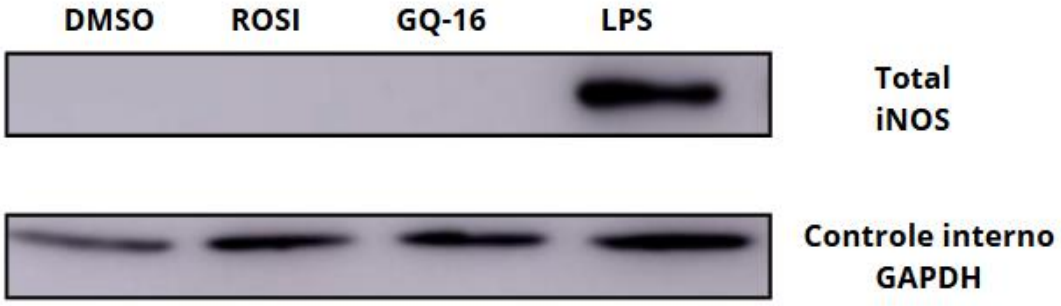
Tabela 3. Aumento da expressão de iNOS após estímulo inflamatório com LPS (100 ng/mL) em relação ao controle (DMSO 0,01%) expresso % para cada experimento analisado. Os três experimentos diferem apenas pelos dias que foram conduzidos.

Experimentos realizados	Aumento da expressão de iNOS após estímulo com LPS (%) em relação ao controle (DMSO 0,01%)
Experimento 1	2324
Experimento 2	139
Experimento 3	982

Fonte: Autoria própria.

A expressão proteica da iNOS não pode ser observada na ausência do estímulo inflamatório LPS (100 ng/mL), como pode ser observado na figura 4. Esse resultado já era esperado uma vez que essa enzima tem sua expressão mediante condições inflamatórias, e então os experimentos seguintes foram realizados utilizando apenas o tratamento com o estímulo inflamatório.

Figura 4. Efeito de agonistas de PPARγ na expressão proteica da iNOS na ausencia de LPS em células RAW 264.7. Macrófagos murinos RAW 264.7 foram tratados com controle (DMSO 0,01%), agonista total (rosiglitazona 10^{-5} M) e agonista parcial (GQ-16 10^{-5} M) ou LPS (100 ng/mL). Após 24 horas de tratamento as células foram lisadas e colhidas para detecção proteica da iNOS. A proteína GAPDH foi usada como controle interno.

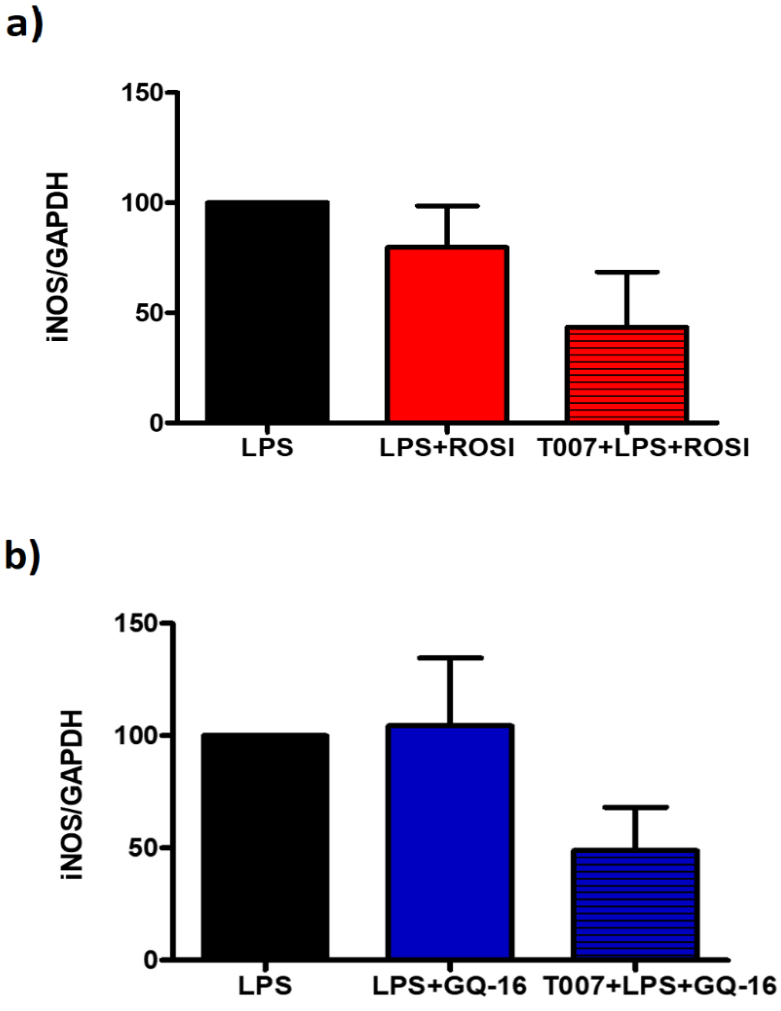


Fonte: Autoria própria.

5.2. Efeito da rosiglitazona, GQ-16 e T007 na expressão proteica da iNOS estimulada pelo LPS em células RAW 264.7.

Os tratamentos com o agonista parcial de PPARγ, GQ-16 (10^{-5} M), e o agonista total, rosiglitazona (10^{-5} M), não demonstraram efeitos significativos sobre a expressão de iNOS induzida pelo estímulo inflamatório com LPS (100 ng/mL) em 24 horas de tratamento. Da mesma forma, o antagonista de PPAR T007 (20 μM) não alterou a resposta do GQ-16 (10^{-5} M) e rosiglitazona (10^{-5} M) na presença do estímulo inflamatório (Figura 5a e 5b).

Figura 5. Efeito da rosiglitazona e GQ-16 sobre a expressão proteica de iNOS estimulada por LPS em células RAW 264.7. Inicialmente as células foram tratadas com LPS (100 ng/mL), e após 30 minutos, pelo antagonista do PPARγ, T007 (20 μM) durante 30 minutos. Após esse tempo, as células foram tratadas com rosiglitazona (10-5 M) (figura 5a) e GQ-16 (10^{-5} M) (figura 5b) por 24 horas. O imunoensaio foi realizado com os anticorpos anti-iNOS e como controle interno anti-GAPDH. Adetecção das bandas foi feita por quimioluminescência. A análise densitométrica foi realizada a partir do software Image J. Os valores são apresentados como média ± erro padrão da média (n = 3).



Fonte: Autoria própria, Graph Prism 5.0.

Devido ao pequeno número de experimentos (n=3), os resultados não apresentaram significância estatística. Contudo, a análise da tabela de densitometria das bandas (Tabela 4) sugere uma redução na expressão de iNOS no tratamento com rosiglitazona (10^{-5} M), onde parece haver participação do receptor PPARγ. Para confirmar essa observação serão necessários mais experimentos.

Tabela 4. Valores de densitometria obtidos por *western blot* para a expressão de iNOS em células tratadas rosiglitazona (10^{-5} M). Os tratamentos incluem LPS + ROSI, LPS + T007 + ROSI. Os valores representam a intensidade das bandas de iNOS em três experimentos que variam apenas pelos dias que foram realizados.

LPS	Tratamento	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
100	LPS+ROSI	113	78,6	47,4
	LPS+ROSI+T007	15,1	93,5	21,6

Fonte: Autoria própria.

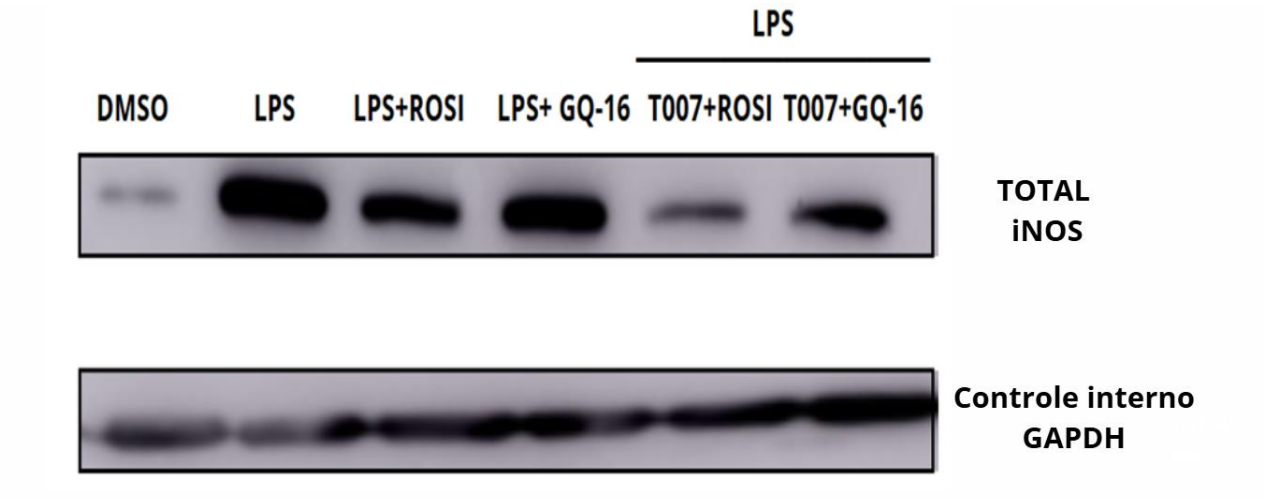
Assim como nos tratamentos com a rosiglitazona (tabela 4), a análise dos dados de densitometria das bandas (Tabela 5) sugere uma diminuição na expressão de iNOS nas células tratadas com GQ-16. Isso pode indicar uma possível modulação da expressão de iNOS mediada por esse composto. Para validar essa observação, serão necessários experimentos adicionais para aprofundar a análise do efeito do GQ-16 na regulação da expressão de iNOS.

Tabela 5. Valores de densitometria obtidos por *western blot* para a expressão de iNOS em células tratadas com GQ-16 (10^{-5} M). Os tratamentos incluem LPS + GQ-16, LPS + T007 + GQ-16. Os valores representam a intensidade das bandas de iNOS em três experimentos, que variam unicamente pelos dias em que foram realizados

LPS	Tratamento	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3
100	LPS+GQ-16	163,4	86,8	63,1
	LPS+GQ-16+T007	87,5	28,9	30,4

A figura 6 é a representação das bandas de *western blot* de um único experimento com os tratamentos, onde observa-se o estímulo inflamatório LPS aumentando a expressão da proteína iNOS, e o efeito do tratamento com rosiglitazona, bem como do antagonista de PPARγ sobre a expressão dessa proteína estimulada por LPS.

Figura 6. Bandas de western blot. Os macrófagos murinos RAW 264.7 foram pré-tratados com LPS (100 ng/mL), após 30 minutos foi adicionado o T007 20 μM, e após 60 minutos do tempo inicial, o controle (DMSO 0,01%) e o agonista total (rosiglitazona 10^{-5} M) e parcial (GQ-16 10^{-5} M) foram adicionados. As células foram colhidas e a proteína iNOS foi detectada por western blot. A figura representa as bandas de western blot de um único experimento, com todos os tratamentos. Observa-se o estímulo inflamatório do LPS sobre a expressão da proteína iNOS.



Fonte: Autoria própria.

6. DISCUSSÃO

Segundo a OMS, a obesidade cresce a cada ano, com a prevalência da obesidade adulta mundial dobrando entre 1990 e 2022, enquanto a obesidade adolescente quadruplicou (World Health Organization, 2022). Os riscos causados pela obesidade são cada vez mais documentados, incluindo diabetes, doenças cardiovasculares, câncer, distúrbios neurológicos, entre outros. Devido à estreita relação entre obesidade e diabetes, o termo “diabesidade” foi criado para denotar a forte interligação entre obesidade e DM2 (Alkhalifah et al., 2024).

Pensando nisso, as TZDs, por meio da ativação do PPARγ, diminuem a resistência à insulina, melhoram o metabolismo lipídico e possuem ação anti-inflamatória. No entanto, as TZDs apresentam diversos efeitos adversos graves, como retenção de líquidos, edemas, insuficiência cardíaca congestiva, perda óssea e câncer de bexiga. (Wang; Dougherty; Danner, 2016). Devido aos efeitos colaterais das TZDs, surgiu a necessidade de desenvolver agonistas parciais de PPARγ como o GQ-16, que mantém os efeitos benéficos sem os efeitos adversos. (Amato et al., 2012)

A obesidade ativa a proteína CDK5 nos tecidos adiposos, promovendo a fosforilação do PPARγ no resíduo Ser-273, desregulando inúmeros genes controlados por PPARγ, como a adiponectina, cuja função é sensibilizar insulina. Nesse contexto, as TZDs inibem a fosforilação do PPARγ mediada por CDK5. Dessa forma, a fosforilação mediada por CDK5 está envolvida na patogênese da resistência à insulina (Choi et al., 2010).

De acordo com análise estrutural por raio X nos estudos de Amato e colaboradores (2012), o GQ-16 não se liga ao PPARγ da mesma maneira que a rosiglitazona. O GQ-16 se liga paralelamente à hélice H3 sem interagir com a hélice H12 de ativação, estabilizando a folha β do receptor. Já a rosiglitazona se liga perpendicularmente à H3, estabilizando diretamente a hélice H12. Essa diferença resulta na ativação seletiva de genes-alvo.

O GQ-16 é considerado um agonista parcial fraco. Estudos mostram que o GQ-16 provoca um terço da ativação de rosiglitazona, mesmo em altas concentrações. Apesar disso, o GQ-16 melhora a tolerância à glicose e bloqueia a fosforilação do Ser-273 e de vias inflamatórias, de forma semelhante à rosiglitazona, porém, o GQ-16 não provoca ganho de peso (Amato et al, 2012).

Experimentos de Coelho e colaboradores (2016), indicaram que o GQ-16 diminui o ganho de peso a partir da redução de adiposidade visceral e subcutânea em experimentos com camundongos alimentados com uma dieta rica em gordura, induzindo a expressão de genes relacionados à termogênese. Em contraste, a rosiglitazona aumenta a massa nos depósitos de gordura.

No presente estudo podemos observar que não houve variação estatística significativa entre o grupo controle e o LPS, nem com a combinação de LPS e agonistas de PPARγ, conforme demonstrado nas figuras 5a e 5b. No entanto, estudos anteriores já evidenciaram o papel dos agonistas de PPARγ na resposta inflamatória induzida por LPS principalmente através da inibição da transcrição dependente de NF-κB de genes inflamatórios (Lin et al., 2014; Kondreddy; Kamatham, 2016; Jung et al., 2009).

No estudo de Lin e colaboradores (2014), a rosiglitazona (1-25 μM) inibiu significativamente a liberação de NO induzida por LPS (5 μg/mL) via iNOS em macrófagos murinos RAW 264.7. A rosiglitazona foi adicionada por 30 minutos antes da estimulação com LPS por 24 horas. Além disso, o antagonista do PPARγ, GW9622 (10 μM), foi administrado às células por 30 minutos antes do tratamento com rosiglitazona. Após a estimulação com LPS, GW9622 não reverteu a capacidade da rosiglitazona de bloquear a produção de NO. Logo, esses resultados sugerem que o efeito anti-inflamatório da rosiglitazona não é mediado pelo PPARγ, mas sim pelo envolvimento da inativação da Akt, um processo que ocorre de forma independente do PPARγ. Esse estudo apresenta diferenças experimentais quando comparadas com este trabalho, tanto em relação à ordem de tratamento, como a concentração de LPS. Isso pode explicar os diferentes resultados.

Estudos de Kondreddy e Kamatham (2016) corroboram essa perspectiva, já que em seus experimentos em células RAW 264.7 tratadas com o agonista endógeno do PPARγ, ácido docosahexaenóico (DHA) (50 μM) e celoxibe (20 μM), houve uma diminuição de COX-2 e iNOS nas células estimuladas com 5 μg/mL de LPS por 24 horas. Isso foi associado ao aumento da atividade do PPARγ que suprimiu a atividade do NF-κB no núcleo. O antagonista, GW9662 (10 μM), aboliu a ativação de PPARγ induzida pelo DHA, porém não alterou os efeitos anti-inflamatórios mediados por NF-

κB, sugerindo que o efeito anti-inflamatório observado foi por uma via independente de PPARγ.

Jung e colaboradores (2009) estudaram o agonista do PPARγ, 15d-PGJ_2 (1–20 μM) em astrócitos de ratos, e ele foi capaz de inibir a síntese de iNOS a partir do estímulo de LPS/IFN-γ (0,5 μg/50 U/mL) por 24 horas e inibir a via de sinalização de NF-κB e PI3K/Akt em astrócitos, porém, novamente, o antagonista GW9866 (1–20 μM) não reverteu a inibição mediada por 15d-PGJ_2 de atividades inflamatórias de iNOS ou NF-κB mediadas por LPS/IFN-γ, sugerindo que não é necessário a presença do PPARγ para inibir a indução de iNOS em astrócitos primários de ratos. O estudo aponta que a regulação de IKK por Akt seja o mecanismo de ação anti-inflamatória de 15d-PGJ_2 (Giri et al., 2004).

O efeito do GQ-16 na diminuição da adiposidade tem sido amplamente estudado e mais reconhecido do que seus efeitos na atividade anti-inflamatória. Diversos estudos demonstraram que o GQ-16 exerce uma ação significativa na redução da gordura corporal (Coelho et al., 2016; Amato et al., 2012) o que tem atraído atenção devido à crescente preocupação com doenças metabólicas associadas à obesidade. Embora os efeitos na adiposidade sejam mais amplamente reconhecidos, a atividade anti-inflamatória do GQ-16 também tem sido investigada.

De acordo com os experimentos de Cavalcanti e colaboradores (2021), o GQ-16 demonstrou a capacidade de neutralizar a resposta inflamatória induzida por radiação ionizante. Nesse estudo, amostras de sangue foram irradiadas com 2 Gy e as células mononucleares foram tratadas com LPSF/GQ-16. Os resultados mostraram que LPSF/GQ-16 reduziu a expressão de IFN-γ e TNF-α nos grupos tanto radiados quanto não radiados.

Além disso, o GQ-16 parece desempenhar um papel importante na esclerose sistêmica por apresentar propriedades imunomoduladoras e antifibróticas. Nos estudos de Almeida e colaboradores (2024), o LPSF/GQ-16 modulou a secreção de IL-2, IL-4, IL-6, IL-17A, TNF e IFN-γ em culturas de células mononucleares do sangue periférico. Essas células foram estimuladas com fitohemaglutina e tratadas por 48h com LPSF/GQ-16. Ademais, a esclerose sistêmica foi induzida em camundongos por injeções de ácido hipocloroso por 6 semanas. Assim que a esclerose estava confirmada, receberam o tratamento diário de LPSF/GQ-16 (30 mg/kg) por injeções

intraperitoneais por mais 6 semanas. A partir desse experimento, foi possível observar a redução significativa no espessamento da pele, no acúmulo de colágeno dérmico e na supressão de marcadores de fibrose na pele, redução da ativação de células $CD4^+$ e macrófagos M2 (Almeida et al., 2024.).

De acordo com os estudos relatados, o modelo de indução inflamatória por LPS por 24 horas leva à ativação da via iNOS, e o uso de agonistas PPARγ diminuem a expressão proteica, e consequentemente sua via de inflamação (Lin et al., 2014; Kondreddy; Kamatham, 2016). Porém, o presente estudo contém limitações devido ao pequeno número de amostras (n=3), não caracterizando significância estatística. Os resultados indicam a necessidade de estudos adicionais com um maior número de amostras para confirmar essa hipótese. Logo, não se pode descartar a possibilidade de que a rosiglitazona e o GQ-16 exerçam influência sobre a iNOS sob estímulo inflamatório.

7. CONCLUSÃO

Conclui-se que os agonistas de PPARγ são alvos promissores para o tratamento da obesidade e de doenças inflamatórias. No entanto, novos experimentos deverão ser executados para obter um maior número de amostras e garantir significância estatística, possibilitando uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos.

Este estudo é de grande importância para o farmacêutico, pois aborda questões sobre desenvolvimento de tratamentos mais seguros e eficazes para o DM2. O foco na utilização de agonistas parciais de PPARγ, como o GQ-16, surge como uma alternativa mais segura aos agonistas totais, como a rosiglitazona, que possuem efeitos adversos graves. Para o farmacêutico, isso representa uma oportunidade de trabalhar com opções terapêuticas que, ao minimizar os efeitos colaterais, podem melhorar a adesão dos pacientes ao tratamento e, consequentemente, a sua qualidade de vida.

Em resumo, as perspectivas futuras envolvem a continuação do desenvolvimento de agonistas mais seguros e a exploração de novas tecnologias tratamentos mais eficazes e com menos efeitos colaterais para os pacientes.

8. REFERÊNCIAS

ABESO - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. ***Diretriz brasileira de obesidade*: 2016.** São Paulo, 2016. Disponível em: https://abeso.org.br/wp-content/uploads/2019/12/Diretrizes-Download-Diretrizes-Brasileiras-de-Obesidade-2016.pdf. Acesso em: 25 jan. 2025.

AHMADIAN, M. et al. PPARγ signaling and metabolism: the good, the bad and the future. **Nature Medicine**, v. 19, n. 5, p. 557–566, maio 2013. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nm.3159. Acesso em: 25 jan. 2025.

ALKHALIFAH, M. et al. Semaglutide for the management of diabesity: The real-world experience. **World Journal of Methodology**, v. 14, n. 3, 25 jun. 2024. Disponível em: https://www.wjgnet.com/2222-0682/full/v14/i3/91832.htm. Acesso em: 29 jan. 2025.

ALMEIDA, A. R. et al. PPARγ partial agonist LPSF/GQ-16 prevents dermal and pulmonary fibrosis in HOCl-induced systemic sclerosis (SSc) and modulates cytokine production in PBMC of SSc patients. **Inflammopharmacology**, v. 32, n. 1, p. 433–446, 1 fev. 2024. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s10787-023-01296-9. Acesso em: 25 de jan. 2025.

AMATO A. A. et al. GQ-16, a Novel Peroxisome Proliferator-activated Receptor γ (PPARγ) Ligand, Promotes Insulin Sensitization without Weight Gain. **The journal of biological chemistry**, v. 287, n. 33, p. 28169–28179, 10 ago. 2012. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925820478391. Acesso em: 25 jan. 2025.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2019. **Diabetes Care**, v. 42, n. Supplement 1, p. S13–S28, 17 dez. 2019. Disponível em: https://diabetesjournals.org/care/article/42/Supplement_1/S13/31150/2-Classification-and-Diagnosis-of-Diabetes. Acesso em: 25 jan. 2025.

ARRAL, M. L.; HALPERN, J. M. Electrochemical Detection of NG-Hydroxy-L-arginine. **ECS transactions**, v. 85, n. 13, p. 1163–1169, 2018. Disponível em: https://iopscience.iop.org/article/10.1149/08513.1163ecst. Acesso em: 25 jan. 2025.

BERBEROGLU et al. Rosiglitazone decreases fasting plasma peptide YY3–36 in type 2 diabetic women: a possible role in weight gain? **Acta Diabetologica**, v. 49, n. S1, p. 115–122, 19 nov. 2011. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00592-011-0352-3. Acesso em: 25 jan. 2025.

BERTSCHI, N. et al. PPAR-γ regulates the effector function of human T helper 9 cells by promoting glycolysis. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, 29 abr. 2023.

Disponível em: https://www.nature.com/articles/s41467-023-38233-x. Acesso em: 25 jan. 2025.

BRASIL**.** Ministério da Saúde. ***Vigitel Brasil 2023: Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico***. Brasília: Ministério da Saúde, 2023. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2023.pdf> Acesso em: 25 jan. 2025.

BURKE, A. C. et al. The yin and yang of nitric oxide in cancer progression. **Carcinogenesis**, v. 34, n. 3, p. 503–512, 1 mar. 2013. Disponível em: https://academic.oup.com/carcin/article-abstract/34/3/503/2463264?redirectedFrom=fulltext&login=false. Acesso em: 25 jan. 2025.

CARRERAS-TORRES, R. et al. The Role of Obesity, Type 2 Diabetes, and Metabolic Factors in Pancreatic Cancer: A Mendelian Randomization Study. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 109, n. 9, 28 abr. 2017. Disponível em: https://academic.oup.com/jnci/article/109/9/djx012/3778207?login=false#google_vignette. Acesso em: 25 jan. 2025.

CAVALCANTI, M. B. et al. Evaluation of the action of LPSF/GQ-16 on cytokines and PPAR-γ gene expression after in vitro irradiation of peripheral blood mononuclear cells. **International Journal of Radiation Biology**, v. 97, n. 12, p. 1649–1656, 29 set. 2021. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09553002.2021.1987556?scroll=top&needAccess=true. Acesso em: 29 jan. 2025.

CHAKRAVARTI, B.; CHAKRAVARTI, D. N. Protein Tyrosine Nitration: Role in Aging. **Current Aging Science**, v. 10, n. 4, 4 out. 2017. Disponível em: https://www.eurekaselect.com/article/82287. Acesso em: 25 jan. 2025.

CHAN, L. S. A.; WELLS, R. A. Cross-Talk between PPARs and the Partners of RXR: A Molecular Perspective. **PPAR Research**, v. 2009, p. 1–9, 2009. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2009/925309. Acesso em: 25 jan. 2025.

CHANDRASEKARAN, P.; WEISKIRCHEN, R. The role of obesity in type 2 diabetes mellitus—an overview. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 3, p. 1882–1882, 2024. Disponível em: https://www.mdpi.com/1422-0067/25/3/1882. Acesso em: 25 jan. 2025.

CHATTERJEE, R. et al. Screening Adults for Pre-Diabetes and Diabetes May Be Cost-Saving. **Diabetes Care**, v. 33, n. 7, p. 1484–1490, 29 jun. 2010. Disponível em: https://diabetesjournals.org/care/article/33/7/1484/39380/Screening-Adults-for-Pre-Diabetes-and-Diabetes-May. Acesso em: 25 jan. 2025.

CHENG et al. Exploration and Development of PPAR Modulators in Health and Disease: An Update of Clinical Evidence. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 20, p. 5055, 11 out. 2019. Disponível em: https://www.mdpi.com/1422-0067/20/20/5055. Acesso em: 25 jan. 2025.

CHOI, J. H. et al. Anti-diabetic drugs inhibit obesity-linked phosphorylation of PPARγ by Cdk5. **Nature**, v. 466, n. 7305, p. 451–456, jul. 2010. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nature09291. Acesso em: 25 jan. 2025.

COELHO, M. S. et al. GQ-16, a TZD-Derived Partial PPARγ Agonist, Induces the Expression of Thermogenesis-Related Genes in Brown Fat and Visceral White Fat and Decreases Visceral Adiposity in Obese and Hyperglycemic Mice. **PLOS ONE**, v. 11, n. 5, p. e0154310–e0154310, 3 maio 2016. Disponível em: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0154310. Acesso em: 29 jan. 2025.

CONTRERAS, A. V.; TORRES, N.; TOVAR, A. R. PPAR-α as a key nutritional and environmental sensor for metabolic adaptation. **Advances in Nutrition (Bethesda, Md.)**, v. 4, n. 4, p. 439–452, 1 jul. 2013. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2161831322011346?via%3Dihub. Acesso em: 25 jan. 2025.

EPSTEIN, F. H.; MONCADA, S.; HIGGS, A. The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway. New England Journal of Medicine, v. 329, n. 27, p. 2002–2012, 30 dez. 1993. Disponível em: https://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199312303292706. Acesso em: 25 jan. 2025.

FAN, W. et al. PPARδ Promotes Running Endurance by Preserving Glucose. **Cell Metabolism**, v. 25, n. 5, p. 1186-1193.e4, maio 2017. Disponível em: https://www.cell.com/cell-metabolism/fulltext/S1550-4131(17)30211-5?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1550413117302115%3Fshowall%3Dtrue. Acesso em: 25 jan. 2025

GIRI, S. et al. The 15-Deoxy-δ12,14-Prostaglandin J2 Inhibits the Inflammatory Response in Primary Rat Astrocytes via Down-Regulating Multiple Steps in Phosphatidylinositol 3-Kinase-Akt-NF-κB-p300 Pathway Independent of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ. **The journal of immunology**, v. 173, n. 8, p. 5196–5208, 15 out. 2004. Disponível em: https://journals.aai.org/jimmunol/article/173/8/5196/42419/The-15-Deoxy-12-14-Prostaglandin-J2-Inhibits-the. Acesso em: 29 jan. 2025.

GREGG, E. W.; SATTAR, N.; ALI, M. K. The changing face of diabetes complications. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 4, n. 6, p. 537–547, jun. 2016. Disponível em: https://www.thelancet.com/journals/landia/article/PIIS2213-8587(16)30010-9/abstract. Acesso em: 25 jan. 2025.

GUZIK, T. J. et al. Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase: Association with endothelial dysfunction and clinical risk factors. **Circulation research**, v. 86, n. 9, 2000. Disponível em: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.RES.86.9.e85. Acesso em: 25 jan. 2025.

HOLMAN, R. R. et al. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. **The New England journal of medicine**, v. 359, n. 15, p. 1577–89, 9 out. 2008. Disponível em: https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa0806470. Acesso em: 25 jan. 2025.

HOLT, R. Association Between Antipsychotic Medication Use and Diabetes. **Current Diabetes Reports**, v. 19, n. 10, 2 set. 2019. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s11892-019-1220-8. Acesso em: 25 jan. 2025.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **Brazil**. Disponível em: https://idf.org/our-network/regions-and-members/south-and-central-america/members/brazil/. Acesso em: 25 jan. 2025.

JUNG, W. et al. The 15-Deoxy-Δ12,14-prostaglandin J2 inhibits LPS-stimulated AKT and NF-κB activation and suppresses interleukin-6 in osteoblast-like cells MC3T3E-1. **Life Sciences**, v. 85, n. 1-2, p. 46–53, 1 jul. 2009. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320509001799?via%3Dihub. Acesso em: 29 jan. 2025.

KANDA, H. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 6, p. 1494–1505, 1 jun. 2006. Disponível em: https://www.jci.org/articles/view/26498. Acesso em: 25 jan. 2025.

KASHFI, K.; KANNIKAL, J.; NATH, N. Macrophage Reprogramming and Cancer Therapeutics: Role of iNOS-Derived NO. **Cells**, v. 10, n. 11, p. 3194, 16 nov. 2021. Disponivel em: https://www.mdpi.com/2073-4409/10/11/3194. Acesso em: 25 de jan. 2025.

KO, K. D.; KIM, K. K.; LEE, K. R. Does Weight Gain Associated with Thiazolidinedione Use Negatively Affect Cardiometabolic Health? **Journal of Obesity & Metabolic Syndrome**, v. 26, n. 2, p. 102–106, 1 jun. 2017. Disponível em: https://www.jomes.org/journal/view.html?doi=10.7570/jomes.2017.26.2.102. Acesso em: 25 jan. 2025.

KOENEN, M. et al. Obesity, Adipose Tissue and Vascular Dysfunction. **Circulation Research**, v. 128, n. 7, p. 951–968, 2 abr. 2021. Disponível em: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.121.318093. Acesso em: 25 jan. 2025.

KOK, P.; SEIDELL, J. C.; MEINDERS, A. E. De waarde en de beperkingen van de “body mass index” (BMI) voor het bepalen van het gezondheidsrisico van overgewicht en obesitas. **Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde**, v. 148, n. 48, p. 2379–82, 27 nov. 2004. Disponível em: https://research.vu.nl/en/publications/de-waarde-en-de-beperkingen-van-de-body-mass-index-bmi-voor-het-b. Acesso em: 25 jan. 2025.

KONDREDDY, V. K. R.; KAMATHAM, A. N. Celecoxib, a COX-2 inhibitor, synergistically potentiates the anti-inflammatory activity of docosahexaenoic acid in macrophage cell line. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 38, n. 2, p. 153–161, 3 mar. 2016. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/08923973.2016.1147578. Acesso em: 29 jan. 2025.

LANCASTER, J. R. Nitroxidative, nitrosative, and nitrative stress: Kinetic predictions of reactive nitrogen species chemistry under biological conditions. **Chemical research in toxicology** v. 19, n. 9, p. 1160–1174, 18 ago. 2006. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/tx060061w. Acesso em: 25 jan. 2025.

LAROUX, F. S. et al. Role of Nitric Oxide in the Regulation of Acute and Chronic Inflammation. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 2, n. 3, p. 391–396, set. 2000. Disponível em: https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/15230860050192161. Acesso em: 25 jan. 2025.

LEAN, M. E. J. et al. Durability of a primary care-led weight-management intervention for remission of type 2 diabetes: 2-year results of the DiRECT open-label, cluster-randomised trial. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 7, n. 5, p. 344–355, maio 2019. Disponível em: https://www.thelancet.com/journals/landia/article/PIIS2213-8587(19)30068-3/abstract. Acesso em: 25 jan. 2025.

LI, J. et al. Telmisartan Exerts Anti-Tumor Effects by Activating Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-γ in Human Lung Adenocarcinoma A549 Cells. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 2862–2876, 5 mar. 2014. Disponível em: https://www.mdpi.com/1420-3049/19/3/2862. Acesso em: 25 jan. 2025.

LIN, C.-F. et al. Rosiglitazone Regulates Anti-Inflammation and Growth Inhibition via PTEN. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–14, 1 jan. 2014. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2014/787924. Acesso em: 29 jan. 2025.

LINDSTRÖM, J. et al. Sustained reduction in the incidence of type 2 diabetes by lifestyle intervention: follow-up of the Finnish Diabetes Prevention Study. **The Lancet**, v. 368, n. 9548, p. 1673–1679, nov. 2006. Disponível em: https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(06)69701-8/abstract. Acesso em: 25 jan. 2025.

LONGO, M. et al. Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 9, p. 2358, 2019. Disponível em: https://www.mdpi.com/1422-0067/20/9/2358. Acesso em: 25 jan. 2025.

LUMENG, C. N.; BODZIN, J. L.; SALTIEL, A. R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. **Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 1, p. 175–184, 2 jan. 2007. Disponível em: https://www.jci.org/articles/view/29881. Acesso em: 25 jan. 2025.

MAŁODOBRA-MAZUR, M.; OŁDAKOWSKA, M.; DOBOSZ, T. Exploring PPAR Gamma and PPAR Alpha's Regulation Role in Metabolism via Epigenetics Mechanism. **Biomolecules**, v. 14, n. 11, p. 1445, 13 nov. 2024. Disponível em: https://www.mdpi.com/2218-273X/14/11/1445. Acesso em: 25 jan. 2025.

PÉREZ-TORRES, I. et al. Nitrosative Stress and Its Association with Cardiometabolic Disorders. **Molecules**, v. 25, n. 11, p. 2555, 31 maio 2020. Disponível em: https://www.mdpi.com/1420-3049/25/11/2555. Acesso em: 25 jan. 2025.

PÉREZ-TORRES, I.; GUARNER-LANS, V.; RUBIO-RUIZ, M. E. Reductive Stress in Inflammation-Associated Diseases and the Pro-Oxidant Effect of Antioxidant Agents. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 10, p. 2098, 5 out. 2017. Disponível em: https://www.mdpi.com/1422-0067/18/10/2098. Acesso em: 25 jan. 2025.

REN, Y. et al. Adipokines, Hepatokines and Myokines: Focus on Their Role and Molecular Mechanisms in Adipose Tissue Inflammation. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 873699, 2022. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/endocrinology/articles/10.3389/fendo.2022.873699/full. Acesso em: 25 jan. 2025.

SBD – SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diagnóstico de diabetes mellitus**. Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes (2024**), 1 jan. 2024. Disponível em: https://diretriz.diabetes.org.br/diagnostico-de-diabetes-mellitus/. Acesso em: 25 jan. 2025.

SBD - SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretriz Brasileira de Diabetes**, 2020. Disponível em: https://portaldeboaspraticas.iff.fiocruz.br/wp-content/uploads/2021/08/Diretrizes-Sociedade-Brasileira-de-Diabetes-2019-20201.pdf. Acesso em: 25 jan. 2025.

SHAN, X. et al. Riboflavin kinase binds and activates inducible nitric oxide synthase to reprogram macrophage polarization. **Redox Biology**, v. 78, p. 103413–103413, 31 out. 2024. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231724003914?via%3Dihub. Acesso em: 25 jan. 2025.

SKYLER, J. S. et al. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. **Diabetes**, v. 66, n. 2, p. 241–255, 15 dez. 2016. Disponível em: https://diabetesjournals.org/diabetes/article/66/2/241/35290/Differentiation-of-Diabetes-by-Pathophysiology. Acesso em: 25 jan. 2025.

SUH, S.; PARK, M. K. Glucocorticoid-Induced Diabetes Mellitus: An Important but Overlooked Problem. **Endocrinology and Metabolism**, v. 32, n. 2, p. 180, 2017. Disponível em: https://e-enm.org/journal/view.php?doi=10.3803/EnM.2017.32.2.180. Acesso em: 25 jan. 2025.

TEGEDER, I. Nitric oxide mediated redox regulation of protein homeostasis. **Cellular Signalling**, v. 53, p. 348–356, jan. 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0898656818302687. Acesso em: 25 jan. 2025.

UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY (UKPDS) GROUP. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. **Lancet (London, England)**, v. 352, n. 9131, p. 837–853, 12 set. 1998. Disponivel em: https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(98)07019-6/abstract. Acesso em: 25 jan. 2025.

WAHLI, W.; MICHALIK, L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 23, n. 7, p. 351–363, jul. 2012. Disponível em: https://www.cell.com/trends/endocrinology-metabolism/abstract/S1043-2760(12)00070-7?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1043276012000707%3Fshowall%3Dtrue. Acesso em: 25 jan. 2025.

WANG, S.; DOUGHERTY, E. J.; DANNER, R. L. PPARγ signaling and emerging opportunities for improved therapeutics. **Pharmacological Research**, v. 111, p. 76–85, 1 set. 2016. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661816301542?via%3Dihub. Acesso em: 29 jan. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity and overweight,** 2022. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight. Acesso em: 25 jan. 2025.

WU, J.; ZHANG, M.; FAIRCLOTH, A. Role of PPAR Receptor and Ligands in the Pathogenesis and Therapy of Hematologic Malignancies. **Hemato**, v. 3, n. 3, p. 422–433, 30 jun. 2022. Disponível em: https://www.mdpi.com/2673-6357/3/3/29#B5-hemato-03-00029. Acesso em: 25 jan. 2025.

YENDE, A. S.; SHARMA, D. Obesity, dysbiosis and inflammation: interactions that modulate the efficacy of immunotherapy. **Frontiers in Immunology**, v. 15, 26 ago. 2024. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1444589/full. Acesso em: 25 jan. 2025.

ZHOU, B. et al. Worldwide trends in diabetes prevalence and treatment from 1990 to 2022: a pooled analysis of 1108 population-representative studies with 141 million participants. **The Lancet**, v. 404, n. 10467, 1 nov. 2024. Disponível em: https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(24)02317-1/fulltext. Acesso em: 25 jan. 2025.

ZIELENIAK, A.; WÓJCIK, M.; WOŹNIAK, L. A. Structure and physiological functions of the human peroxisome proliferator-activated receptor γ. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**, v. 56, n. 5, p. 331–345, out. 2008. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s00005-008-0037-y. Acesso em: 26 jan. 2025.