



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ESTER KAROLLINE MARTINS DA CRUZ

MODULAÇÃO DE UCP1, UCP3 E ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO ADIPOSEO
MARROM PELA LIRAGLUTIDA: DIFERENÇAS ENTRE MACHOS E FÊMEAS

BRASÍLIA

2025

Ester Karolline Martins da Cruz

MODULAÇÃO DE UCP1, UCP3 E ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO ADIPOSEO
MARROM PELA LIRAGLUTIDA: DIFERENÇAS ENTRE MACHOS E FÊMEAS

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Faculdade de Ciências da
Saúde, Universidade de Brasília, como
requisito parcial à obtenção do título de
Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Fabiane Hiratsuka Veiga de
Souza.

Brasília

2025

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo em pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Mm Martins da Cruz, Ester Karolline
Modulação de UCP1, UCP3 e Estresse Oxidativo no Tecido
Adiposo Marrom pela Liraglutida: Diferenças entre Machos e
Fêmeas / Ester Karolline Martins da Cruz; orientador Fabiane
Hiratsuka Veiga de Souza. Brasília, 2025.
61 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)
Universidade de Brasília, 2025.

1. Liraglutide. 2. Fever. 3. Thermoregulation. 4. Brown
adipose tissue. I. Hiratsuka Veiga de Souza, Fabiane ,
orient. II. Título.

Ester Karolline Martins da Cruz

MODULAÇÃO DE UCP1, UCP3 E ESTRESSE OXIDATIVO NO TECIDO ADIPOSEO
MARROM PELA LIRAGLUTIDA: DIFERENÇAS ENTRE MACHOS E FÊMEAS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 21 de fevereiro de 2025.

Banca Examinadora

Orientador (a) Prof^ª. Dr^ª. Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza - Universidade de Brasília/FCTS

Prof. Dr. Aleksander Roberto Zampronio– Universidade Federal do Paraná

Prof^ª. Dr^ª. Mani Indiana Funez - Universidade de Brasília/FCTS

Prof^ª. Dr^ª Bruna Rafaela Bezerra Gomes- Universidade de Brasília/LBQP

Dedico a realização desse sonho à Deus e aos meus pais Edmilson e Viviane, a quem devo tudo que sou.

AGRADECIMENTO

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me conceder saúde, força e perseverança para concluir meu mestrado e alcançar este sonho.

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Fabiane Souza, minha profunda gratidão por despertar minha paixão pela Farmacologia e pela pesquisa. Obrigada por acreditar em mim, pela paciência, confiança e por me guiar nesse processo de crescimento.

À Prof^a. Dra. Angélica Amato, pelo apoio inestimável nos experimentos e todo ensino que tanto contribuiu para a minha trajetória.

Ao Prof. Dr. Paulo, do Instituto de Física, pela ajuda essencial na análise das amostras, meu muito obrigada.

Aos membros da banca, Prof^a. Dra. Mani Indiana Funez e Prof. Dr. Aleksander Roberto Zampronio, agradeço pela disponibilidade e valiosas contribuições.

À minha família, especialmente aos meus pais, Edmilson e Viviane, por todo amor, incentivo e por serem minha base inabalável. Aos meus irmãos, Karlla, Kelly, Lucas e Gabriel, pelo apoio incondicional e por cada gesto de carinho que fortaleceu minha caminhada. Aos meus sobrinhos Heithor, Alphonso e Maitê, às minhas primas Crislene e Cristina e às minhas tias, agradeço pelo amor, paciência e compreensão diante das minhas ausências. Amo vocês imensamente!

Aos meus amigos, em especial à Sarah, Alicia, Giovana, Letícia, Yasmin, Ana Paula e Mariana, minha eterna gratidão por estarem sempre ao meu lado. Obrigada por cada palavra de incentivo, por cada momento e por tornarem essa jornada muito mais leve. Vocês são minha segunda família, e levo cada uma de vocês no coração.

Ao grupo de febre, pela parceria nos experimentos e pelos momentos de aprendizado e troca. Em especial, a Sara e Gabriela, que caminharam comigo em cada etapa, com apoio, amizade e tantos momentos que fizeram tudo valer a pena. Sem vocês, esse trabalho não seria possível, e espero levar essa amizade para toda a vida.

Ao LBQP, que me acolheu e possibilitou a realização dos experimentos, em especial à Dra. Bruna e o Jaques, pelo auxílio constante, meu sincero agradecimento.

À Universidade de Brasília, por ser o berço do meu aprendizado e crescimento.

À CAPES, pelo apoio financeiro fundamental para esta conquista.

RESUMO

DA CRUZ, Ester Karolline Martins. **Modulação de UCP1, UCP3 e Estresse Oxidativo no Tecido Adiposo Marrom pela Liraglutida: Diferenças entre Machos e Fêmeas**. Brasília, 2025. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2025.

A febre, resposta fisiológica a estímulos infecciosos ou inflamatórios, pode levar a complicações graves se não controlada, destacando a importância de terapias que promovam uma antipirese eficiente. Este estudo avaliou os efeitos da liraglutida, um agonista do receptor GLP-1, na febre induzida por lipopolissacarídeo (LPS) em ratos Wistar machos e fêmeas. Após recuperação de 7 dias da implantação de transmissores de temperatura, os animais receberam LPS (50 µg/kg, intraperitoneal) para indução febril. A liraglutida foi administrada uma hora após o LPS em doses variáveis, com 0,3 mg/kg determinada como a dose ideal após estudo piloto. A temperatura corporal foi monitorada a cada 15 minutos durante 4 horas. Após a eutanásia, tecidos como o tecido adiposo marrom (TAM) e músculo esquelético foram dissecados para análises. A produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) no TAM e no músculo esquelético foi quantificada por espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (RPE). Os resultados demonstraram que a produção de ERO foi reduzida em machos após o tratamento com liraglutida, reforçando seus efeitos antioxidantes. A expressão de genes relacionados à termogênese, como UCP1, UCP3, ADBR3 e PGC1 α , foi analisada por PCR em tempo real. Os resultados mostraram que a expressão de UCP1 e UCP3 aumentou durante a febre e foi reduzida após o tratamento com liraglutida em machos, indicando uma regulação direta dos mecanismos termogênicos. Além disso, análises histológicas do TAM de ratos machos revelaram que a liraglutida atenuou o infiltrado inflamatório induzido por LPS e preservou a estrutura tecidual. Conclui-se que a liraglutida apresenta propriedades antitérmicas e anti-inflamatórias promissoras, com potencial para regular a febre e a termorregulação mediada pelo TAM. Estes achados abrem novas perspectivas para o uso terapêutico da liraglutida, sendo necessários estudos adicionais para explorar os mecanismos de ação e as diferenças observadas entre os sexos.

Palavras-chave: liraglutida; febre; termorregulação; tecido adiposo marrom

ABSTRACT

DA CRUZ, Ester Karolline Martins. **Modulação de UCP1, UCP3 e Estresse Oxidativo no Tecido Adiposo Marrom pela Liraglutida: Diferenças entre Machos e Fêmeas.** Brasília, 2025. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2025.

Fever, a physiological response to infectious or inflammatory stimuli, can lead to severe complications if not controlled, highlighting the importance of therapies that promote effective antipyresis. This study evaluated the effects of liraglutide, a GLP-1 receptor agonist, on lipopolysaccharide (LPS)-induced fever in male and female Wistar rats. After a 7-day recovery period following the implantation of temperature transmitters, the animals received LPS (50 µg/kg, intraperitoneal) to induce fever. Liraglutide was administered one hour after LPS at varying doses, with 0.3 mg/kg determined as the optimal dose after a pilot study. Body temperature was monitored every 15 minutes for 4 hours. After euthanasia, tissues such as brown adipose tissue (BAT) and skeletal muscle were dissected for analysis. The production of reactive oxygen species (ROS) in BAT and skeletal muscle was quantified by electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. The results demonstrated that ROS production was reduced in males after liraglutide treatment, reinforcing its antioxidant effects. The expression of thermogenesis-related genes, including *UCP1*, *UCP3*, *ADBR3*, and *PGC1α*, was analyzed by real-time PCR. The results showed that *UCP1* and *UCP3* expression increased during fever and was reduced after liraglutide treatment in males, indicating a direct regulation of thermogenic mechanisms. Additionally, histological analyses of BAT from male rats revealed that liraglutide attenuated LPS-induced inflammatory infiltration and preserved tissue structure. In conclusion, liraglutide exhibits promising antipyretic and anti-inflammatory properties, with the potential to regulate fever and BAT-mediated thermoregulation. These findings open new perspectives for the therapeutic use of liraglutide, and further studies are needed to explore its mechanisms of action and the differences observed between sexes.

Keywords: liraglutide; fever; thermoregulation; brown adipose tissue

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo da febre.....	17
Figura 2: Sinais excitatórios e inibitórios durante a termogênese.....	20
Figura 3: Termogênese do tecido adiposo marrom.....	22
Figura 4: Efeitos de GLP-1 no organismo.....	24
Figura 5: Estrutura da Liraglutida.....	26
Figura 6: Esquema ilustrativo da metodologia.....	36
Figura 7: Variação da temperatura corporal (ΔT) na febre induzida por LPS após o tratamento com diferentes concentrações de liraglutida.....	37
Figura 8: Variação da temperatura corporal (ΔT) durante a febre induzida por LPS, com ou sem tratamento da liraglutida (0,3 mg/kg).....	38
Figura 9: Concentração de CM• (μM) no tecido adiposo marrom e no músculo, avaliada 4 horas após a administração de LPS em ratos tratados com ou sem liraglutida.....	39
Figura 10: Expressão de mRNA da UCP1 e UCP3 em machos e fêmeas após 4 horas da indução da febre por LPS e pós-tratamento com liraglutida.....	40
Figura 11: Expressão de mRNA da ADBR3 e PGC1a em ratos após 4 horas da indução da febre por LPS e pós-tratamento com liraglutida.....	41
Figura 12: Histologia do tecido adiposo marrom de ratos machos após a indução de febre com LPS e tratamento com liraglutida.....	42
Figura 13: Histologia do tecido adiposo marrom de ratas fêmeas após a indução de febre com LPS e tratamento com liraglutida.....	43

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α – Alfa

β – Beta

Mm – Micromolar

μg – Micrograma

mg – Miligrama

kg – Quilograma

$^{\circ}\text{C}$ – Graus Celsius

ADBR3 – Receptor $\beta 3$ -adrenérgico

AINEs – Anti-inflamatórios não esteroidais

AMPc – Monofosfato cíclico de adenosina

APOHA – Área pré-óptica do hipotálamo

ATP – Trifosfato de adenosina

AVP – Arginina vasopressina

CLP – Ligadura e punção cecal

COX-2 – Ciclooxigenase 2

DM2 – Diabetes mellitus tipo 2

DMH – Núcleo dorsomedial do hipotálamo

DPP-4 – Dipeptidil peptidase-4

EP3 – Receptor de prostaglandina subtipo EP3

ET-1 – Endotelina-1

RPE – Ressonância paramagnética eletrônica

GLP-1 – Peptídeo semelhante ao glucagon-1

GSH – Glutathiona reduzida

HPA – Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

IL-1 β – Interleucina-1 β

IMC – Índice de massa corporal

LPS – Lipopolissacarídeo

MAPK – Proteína quinase ativada por mitógenos

MDA – Malondialdeído

NF-K β – Fator nuclear kappa B

NK – Natural killer

NO – Óxido nítrico

OVX – Ovacteriomizadas

PGC1- α – Coativador do receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma 1- α

PGE₂ – Prostaglandina E2

PRRs – Receptores de reconhecimento de patógenos

Rrpa – Rafe pálida rostral

SNC – Sistema nervoso central

SNS – Sistema nervoso simpático

Ta – Temperatura ambiente

TAB – Tecido adiposo branco

TAM – Tecido adiposo marrom

Tc – Temperatura corporal

TLRs – Receptores Toll-like

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

UCP1 – Proteína desacopladora 1

UCP3 – Proteína desacopladora 3

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1. TERMORREGULAÇÃO E FEBRE	14
1.2. ANTIPIRESE	17
1.3. TECIDO ADIPOSEO MARROM	19
1.4. MÚSCULO NA FEBRE	22
1.5. PEPTÍDEO SEMELHANTE AO GLUCAGON 1	23
1.6. LIRAGLUTIDA	24
1.7. DIFERENÇAS ENTRE OS SEXOS NA FEBRE	26
2. JUSTIFICATIVA	28
3. OBJETIVOS	29
3.1. GERAL	29
3.2. ESPECÍFICOS	29
4. METODOLOGIA	30
4.1. ENSAIOS <i>IN VIVO</i>	30
4.2. IMPLANTE DE REGISTRADORES DE TEMPERATURA	30
4.4. ADMINISTRAÇÃO DA LIRAGLUTIDA E INDUÇÃO DE FEBRE POR LPS	31
4.5. PREPARO DO TAM E DO MÚSCULO PARA MEDIDA DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO POR RPE	31
4.6. QUANTIFICAÇÃO DE ERO POR RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (RPE)	32
4.7. EXTRAÇÃO DE RNA DO TECIDO ADIPOSEO MARROM	32
4.8. SÍNTESE DE DNA COMPLEMENTAR	33
4.9. TÉCNICA DE REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE	33
4.11. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	35
5. RESULTADOS	36
5.1. LIRAGLUTIDA REDUZ A TEMPERATURA CORPORAL EM RATOS MACHOS E FÊMEAS APÓS A INDUÇÃO DA FEBRE POR LPS	36
5.3. ANÁLISE DO EFEITO DA LIRAGLUTIDA SOBRE A EXPRESSÃO DE mRNA DE UCP1, UCP3, ADBR3 e PGC1 α EM TECIDO ADIPOSEO MARROM DE FÊMEAS E MACHOS DURANTE A FEBRE	38
5.4. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO TECIDO ADIPOSEO MARROM APÓS INDUÇÃO DA FEBRE POR LPS E TRATAMENTO COM LIRAGLUTIDA	40
6. DISCUSSÃO	43

7. CONCLUSÃO.....	50
8. PERSPECTIVAS	51
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
10. ANEXOS	60

1. INTRODUÇÃO

1.1. TERMORREGULAÇÃO E FEBRE

A temperatura corporal (T_c) é mantida dentro de uma faixa constante através de um processo conhecido como termorregulação (PONGEN, 2023), controlado principalmente pela área pré-óptica do hipotálamo anterior (APOHA). Esta região contém neurônios que respondem a variações de temperatura, desencadeando respostas apropriadas para seu ajuste. A termorregulação é um processo homeostático que mantém o equilíbrio entre a produção e a dissipação de calor, assegurando condições adequadas para as funções metabólicas e fisiológicas do organismo (OGOINA, 2011). Este sistema de controle térmico é importante para a sobrevivência, pois mantém a temperatura corporal dentro de limites estreitos, mesmo frente a variações significativas na temperatura ambiente ou em condições que alteram a produção interna de calor (BARTFAI; CONTI, 2010).

Em ambientes frios, a diminuição da atividade dos neurônios sensíveis ao calor e o aumento dos sensíveis ao frio ativam mecanismos de conservação de calor, como vasoconstrição, aumento da contração muscular, termogênese sem tremores e piloereção. Nessas condições, impulsos enviados pelo tálamo ao córtex cerebral geram a sensação de frio, estimulando comportamentos como maior atividade motora e busca por calor. Em ambientes quentes, a maior atividade dos neurônios sensíveis ao calor e a redução dos sensíveis ao frio estimulam mecanismos de dissipação de calor, como sudorese e vasodilatação, além de comportamentos de busca por locais frescos. Esses mecanismos termorregulatórios são influenciados pela temperatura da pele e são essenciais para manter a T_c (BRAZ, 2005; SCHLADER; 2011).

A zona termoneutra, ou termoneutralidade, é o intervalo de temperatura ambiente (T_a) no qual a regulação térmica é mantida apenas pelo ajuste do fluxo sanguíneo cutâneo, garantindo equilíbrio entre a conservação e a perda de calor (ROMANOVSKY *et al.*, 2018).

A homeostase térmica é mantida quando a conservação e a perda de calor estão balanceadas, e a T_c varia quando esse equilíbrio é perturbado. A termorregulação tem a função de preservar a T_c em um intervalo previamente definido, próximo a 37° celsius (°C), apresentando uma variação diária de aproximadamente 0,5°C e sendo afetada por diversos fatores ambientais e biológicos, resultando em variações ao longo do tempo. Fatores endógenos, como o ritmo circadiano, ciclo menstrual, aptidão física, sexo e idade, juntamente com fatores

exógenos, como o ambiente, dieta e estilo de vida, desempenham um papel importante nas flutuações da Tc (WALKER, 1990; KELLY, 2007).

A febre representa uma resposta fisiológica caracterizada pela elevação controlada da temperatura corporal, resultado da ativação do centro termorregulador localizado na APOHA em resposta a estímulos infecciosos ou não infecciosos. Sua resposta complexa reflete efeitos sistêmicos coordenados por mecanismos endócrinos, neurológicos, imunológicos e comportamentais. Além de elevar a temperatura, a febre promove alterações nas funções metabólicas, fisiológicas e imunológicas, bem como desencadeia mudanças comportamentais (BALLI; SHUMWAY; SHARAN, 2023; OGOINA 2011).

A febre oferece diversas vantagens no combate a infecções, funcionando como um mecanismo de defesa do organismo. Ela induz respostas metabólicas que favorecem o uso de proteínas e gorduras como fontes de energia, em vez de glicose, prejudicando o crescimento bacteriano, a função imunológica é aprimorada, com maior infiltração de leucócitos, estimulação da produção de citocinas, como interleucinas e interferons, e ativação de células T e natural killer (NK). A resposta febril também inibe a replicação viral e o crescimento de muitos agentes microbianos, que crescem a Tc normais, resultando em uma resposta imunológica mais eficiente e eficaz durante infecções (PEREIRA; BATALHÃO; CÁRNIO, 2014; BALLI; SHUMWAY; SHARAN, 2023).

Porém, a elevação excessiva e prolongada da Tc pode gerar efeitos graves em diversos sistemas orgânicos. Apenas um aumento de 1°C pode elevar a taxa metabólica em 10–12,5%, resultando em maior demanda de oxigênio, aumento da frequência respiratória e sobrecarga cardiovascular (BALLI; SHUMWAY; SHARAN, 2023). Isso pode causar fadiga, cefaleias, dores articulares, alterações no eletrocardiograma, aumento do sono de onda lenta, além de distúrbios da consciência e até convulsões. No cérebro, pode levar a disfunções cognitivas e cerebelares devido à sensibilidade das células de Purkinje. No fígado, ocorre elevação de enzimas hepáticas e danos, podendo levar à insuficiência hepática. Nos rins, reduz a taxa de filtração glomerular e aumenta o risco de lesão renal aguda devido à ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona. No trato gastrointestinal, a febre pode causar redução no fluxo sanguíneo, estresse oxidativo, inflamação e edema, agravando ainda mais os danos ao organismo (SILBERNAGL; LANG, 2016; BALLI; SHUMWAY; SHARAN, 2023).

Os pirógenos são substâncias capazes de induzir febre, sendo classificados em exógenos, quando provenientes de agentes externos, e endógenos, produzidos pelo próprio organismo em resposta aos exógenos. Os pirógenos exógenos incluem toxinas bacterianas, patógenos virais, complexos antígeno-anticorpo e componentes da parede celular de bactérias,

como lipopolissacarídeos (LPS) presentes na membrana externa de bactérias Gram-negativas, que se ligam a receptores em macrófagos e induzem a liberação de pirógenos endógenos. Estes incluem citocinas pró-inflamatórias, como interleucinas e interferons, que estimulam a produção de endotelina-1 (ET-1), fator de liberação de corticotrofina, substância P, opioides e prostaglandina E₂ (PGE₂), principal mediador pirogênico, que atua na APOHA alterando o intervalo regulatório térmico para temperaturas mais elevadas. Como resultado, o organismo ativa mecanismos de produção e conservação de calor, levando ao aumento da Tc característico da febre (ZAMPRONIO, 2015; CHARKOUDIAN, *et al.*, 2003; BROOM, 2007).

A febre envolve a interação coordenada entre o sistema imunológico inato e circuitos neurais centrais e periféricos. O processo começa com a detecção de padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), como LPS, por receptores de reconhecimento de patógenos (PRRs), incluindo os receptores *Toll-like* (TLRs), em células imunes inatas como macrófagos, neutrófilos e células dendríticas. Em resposta, o LPS ativa rapidamente o sistema imunológico, que induz a produção inicial de PGE₂ (EVANS; REPASKY; FISHER, 2015; ZAMPRONIO, 2015).

A PGE₂ se liga ao receptor EP3 nos neurônios termorreguladores dessa região, desencadeando mecanismos autonômicos como a liberação de noradrenalina (NA), que aumenta a termogênese no tecido adiposo marrom (TAM) e provoca vasoconstrição periférica, reduzindo a perda de calor. Simultaneamente, a acetilcolina estimula a musculatura a converter energia em calor, elevando a taxa metabólica. A ativação contínua de receptores TLR4 em macrófagos, células de Kupffer, adipócitos e micróglia estimula a liberação de citocinas inflamatórias, como IL-1 β , interleucina-1 α (IL-1 α), TNF- α , IL-6, interferon β (IFN- β) e interferon γ (IFN- γ). Essas citocinas agem em receptores expressos em células endoteliais encefálicas responsáveis pelo aumento da síntese de ciclooxigenase 2 (COX-2), enzima que catalisa a oxidação do ácido araquidônico, resultando na produção adicional de PGE₂, e enviam sinais a APOHA, consolidando e mantendo o estado febril durante a infecção (ROTH, BLATTEIS, 2014; EVANS; REPASKY; FISHER, 2015).

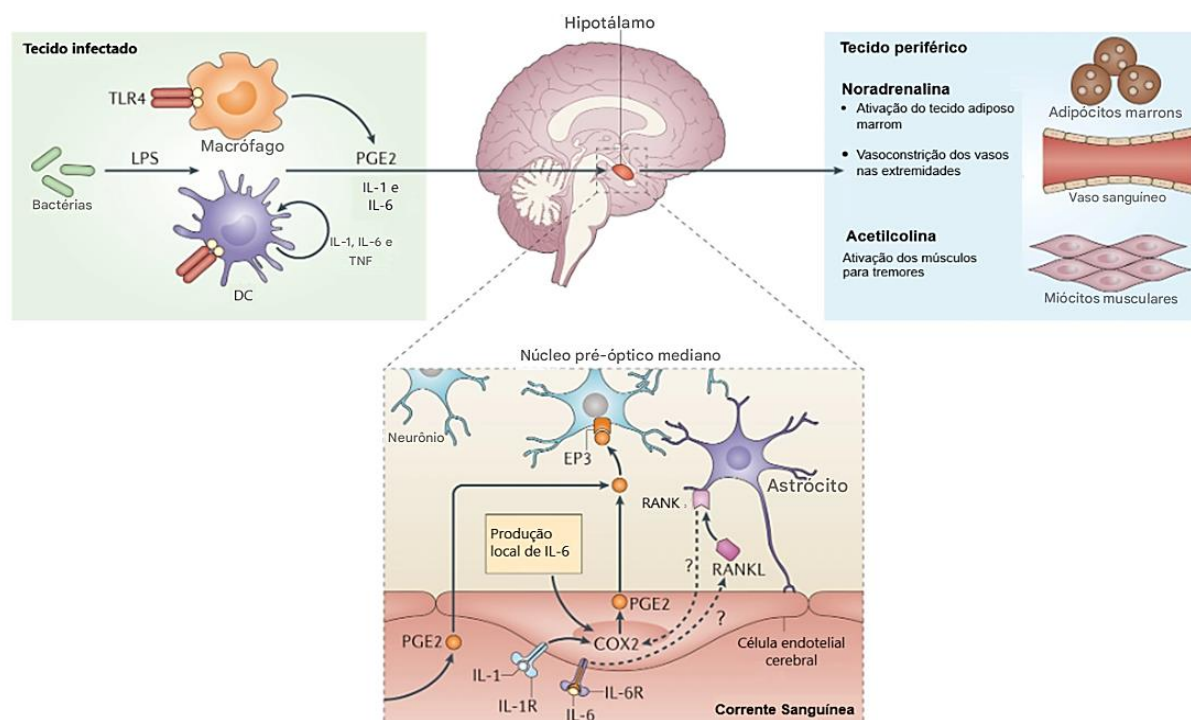


Figura 1: Mecanismo de indução da febre. O LPS ativa macrófagos e células dendríticas, estimulando a liberação de citocinas como IL-1, IL-6 e TNF, além da produção de PGE₂. Esta, por sua vez, age na APOHA, ativando receptores EP3 em neurônios, o que leva ao aumento da temperatura corporal. No tecido periférico, noradrenalina e acetilcolina promovem ativação do TAM, vasoconstrição e tremores musculares, contribuindo para a termogênese e manutenção da febre. Fonte: EVANS; REPASKY; FISHER, 2015 (adaptado).

A febre é caracterizada por um processo autorregulado, resultando em um aumento da Tc central induzido por pirógenos, que ultrapassa as variações diárias normais de 0,5°C. Em contraste, a hipertermia (>41,0°C) ocorre quando a Tc excede os limites da regulação hipotalâmica, sem controle homeostático, geralmente devido à aquisição de calor de fontes externas ou, mais raramente, por condições como tumores ou hipertireoidismo. A resposta febril pode ser classificada em baixa (37,3 a 38,0°C), moderada (38,1 a 39,0°C) e alta (39,1 a 41,0°C), sendo diagnosticada com temperaturas superiores a 38°C na medição retal, 37,8°C na oral ou 37,5°C na axilar. O tratamento é indicado apenas quando há desconforto clínico significativo ou quando a temperatura axilar ultrapassa 38,5°C (CORDEIRO, 2013; OGOINA, 2011; FERREIRA *et al.*, 2022; BALLI *et al.*, 2022).

1.2. ANTIPIRESE

A redução da Tc desempenha papel protetor em casos de febres intensas e prolongadas. A antipirese endógena refere-se aos mecanismos que neutralizam a febre, sendo regulada principalmente pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e por neuropeptídeos. O HPA atua como um sistema de feedback neuroendócrino que controla a intensidade e a duração da febre,

moderando a resposta imune excessiva e mantendo a febre sob controle (ROTH, BLATTEIS, 2014). Esse processo permanece ativo no organismo para limitar a febre, prevenindo danos decorrentes de uma resposta inflamatória exacerbada. Estudos indicam que a exposição contínua a pirógenos exógenos durante a infância pode prolongar a ação do HPA, proporcionando uma proteção contra agravos da febre (MOUIHATE, 2013).

A arginina vasopressina (AVP) age como antipirético endógeno, regulando a reação febril com feedback negativo sobre a Tc. A AVP, liberada no sistema nervoso central (SNC), pode neutralizar os efeitos de pirógenos endógenos, como citocinas e prostaglandinas (PG), e estudos indicam que substâncias, que aumentam a liberação de AVP, reduzem a produção de PGE₂ e inibe a expressão de seus receptores. Em modelos experimentais, observou-se um aumento significativo no conteúdo de AVP no hipotálamo após a indução de febre por LPS, evidenciando o papel da AVP no controle da febre (WANG *et al.*, 2023).

A antipirese endógena também é mediada por glicocorticoides, citocinas com ação antipirética (IL-10) e fatores lipídicos anti-piréticos originados do baço, neuropeptídeos e óxido nítrico (NO) (PRAJITHA; ATHIRA; MOHANAN, 2019).

O controle da temperatura corporal durante a febre pode ser restabelecido de duas maneiras: naturalmente, através da redução das concentrações de PGE₂, ou farmacologicamente, através da administração de antipiréticos. Os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) exercem efeito antipirético ao inibirem a produção de PGs, competindo com o ácido araquidônico pelas enzimas COX-1 e COX-2 (SEABRA, 2015). Embora geralmente sejam seguros, é necessário cautela em condições específicas, como na dengue, onde o uso de AINEs pode aumentar o risco de sangramentos e agravar a trombocitopenia (MOHIUDDIN, 2023).

O paracetamol é amplamente utilizado por sua eficácia como antipirético e analgésico, sendo considerado seguro devido à sua ampla janela terapêutica e baixa toxicidade quando usado de forma racional. Embora seu mecanismo de ação não seja totalmente compreendido, acredita-se que seu efeito ocorra principalmente no SNC, existem evidências de que o metabólito AM404 do paracetamol pode ativar indiretamente vias canabinoides, o que explicaria sua capacidade de induzir hipotermia na ausência de febre, diferentemente dos AINEs (CANNON, 2013). Além disso, estudos sugerem que seu efeito antipirético pode estar associado à inibição da COX-2 no SNC, reduzindo a síntese de PGE₂. Camundongos com menores níveis de COX-2 apresentam maior sensibilidade ao efeito redutor de febre do paracetamol, reforçando a hipótese de que sua ação antipirética ocorra predominantemente por meio da inibição dessa enzima (MIRRASEKHIAN *et al.*, 2018).

A dipirona (metamizol) é uma pró-droga que, após biotransformação, gera os metabólitos 4-MAA (4-metilaminoantipirina) e 4-AA (4-aminoantipirina), responsáveis por suas potentes propriedades antipiréticas e analgésicas, embora tenha baixa atividade anti-inflamatória. Na febre induzida por LPS, apenas o 4-MAA é capaz de abolir a resposta febril, enquanto a dipirona e o 4-AA apenas reduzem a fase inicial da febre (QUEIROZ, 2016). Embora o mecanismo de ação da dipirona e seus metabólitos ainda não seja completamente elucidado, estudos sugerem que seu efeito antipirético não está relacionado à inibição da síntese de PGE₂. Isso é evidenciado pelo fato de que a dipirona é capaz de reduzir a febre induzida pelo veneno do escorpião *Tityus serrulatus*, que provoca febre independentemente da produção de PGE₂ (MALVAR, 2012).

A dipirona apresenta eficácia antipirética em crianças febris comparável à do ibuprofeno (ALNAJAR *et al.*, 2024), além de oferecer melhor tolerabilidade gastrointestinal em comparação com os AINEs (SZNEJDER, 2022). No Brasil, é o analgésico e antipirético mais utilizado, mas, apesar de sua eficácia comprovada, seu uso é restrito em países como EUA, Canadá e Reino Unido devido ao risco de agranulocitose (CURVELLO *et al.*, 2024).

1.3. TECIDO ADIPOSEO MARROM

A presença do TAM foi descrita inicialmente somente em pequenos mamíferos ou em hibernação e, posteriormente em neonatos e crianças. No entanto, Virtanen (2009) detectou depósitos desse tecido metabolicamente ativo em adultos através da tomografia por emissão de pósitrons com flúor-18 fluorodeoxiglicose, tendo como sua principal função a termorregulação. O TAM está localizado nas regiões cervical, axilar, supraclavicular, mediastinal, paraespinal e abdominal em humanos (LEITNER, *et al.*, 2017). Esse tecido possui uma vasculatura extensa, permitindo intenso fluxo sanguíneo quando estimulado e sua quantidade diminui gradualmente à medida que os mamíferos avançam do estágio neonatal para a vida adulta (HIMMS-HAGEN, 1985; ALMIND *et al.*, 2007).

O TAM é composto por adipócitos marrons, que são multiloculares, ou seja, contém várias gotículas lipídicas contendo triacilglicerol, e exibem numerosas mitocôndrias posicionadas próximas à membrana plasmática, que possuem cristas paralelas devido à presença da proteína desacopladora 1 (UCP1) e da enzima ATP sintase (CASSOLLA, 2012). A UCP1 encontrada na membrana interna das mitocôndrias do adipócito marrom é responsável pelo potencial termogênico do TAM, portanto a concentração de UCP define a capacidade das células desse tecido em promover a termogênese independente de tremor (LABBÉ *et al.*, 2015).

A UCP desacopla a fosforilação oxidativa, permitindo o vazamento de prótons e o desacoplamento do gradiente de prótons entre o espaço intermembranar e a matriz mitocondrial, o que reduz a síntese de ATP e gera calor. Esse processo é desencadeado pela liberação de NA pelas fibras pós-ganglionares eferentes do sistema nervoso simpático (SNS), que se liga predominantemente aos receptores β_3 -adrenérgicos (ADBR3) no TAM. Essa interação ativa uma cascata metabólica que inclui o aumento dos níveis de AMP cíclico (AMPC), a ativação da proteína quinase A e através da lipólise, a geração de ácidos graxos liberados, que servem como fonte de energia e ativam a UCP (CASSOLLA, 2012; LABBÉ *et al.*, 2015; ALMIND *et al.*, 2007).

A detecção de sinais de frio pelo núcleo mediano da APOHA (mnPOA) desencadeia mecanismos hipotalâmicos para induzir a termogênese no TAM. Seus receptores de PGE subtipo EP3, que estão conectados ao núcleo dorsomedial do hipotálamo (DMH) e a rafe pálida rostral (rRPA) no tronco cerebral realizam o controle da termogênese no TAM para induzir a febre através do mecanismo que envolve o AMPc (CONTRERAS *et al.*, 2017). A rRPA e o DMH realizam esse controle por meio de sinais excitatórios de glutamato e inibitórios de GABA. O glutamato estimula neurônios pré-motores simpáticos, aumentando a atividade simpática e a produção de calor, enquanto o GABA reduz essa atividade em condições de calor. Em resposta ao calor, termorreceptores ativam neurônios glutamatérgicos na área pré-óptica medial, que excitam vias GABAérgicas, inibindo o DMH e o rRPa e suprimindo a termogênese. Já em temperaturas baixas, termorreceptores estimulam a desinibição do DMH e do rRPa, promovendo a termogênese no TAM. O equilíbrio entre esses neurotransmissores é essencial para ajustar a termogênese (Fig. 3) (MORRISON, 2016; MORRISON; NAKAMURA, 2019).

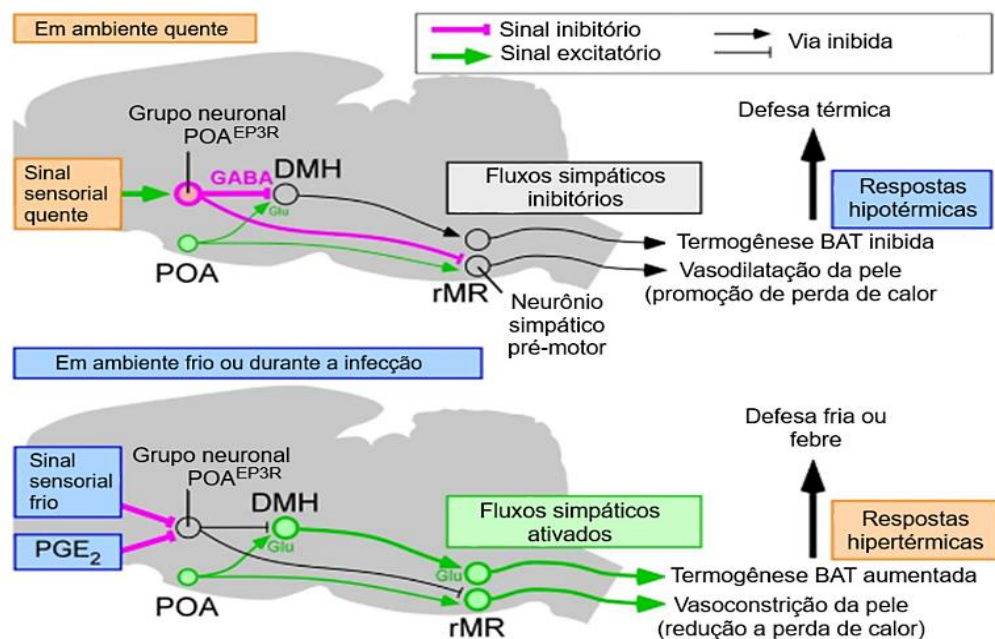


Figura 2: Sinais excitatórios e inibitórios durante a termogênese. No ambiente quente, sinais sensoriais inibitórios do GABA provenientes do núcleo pré-óptico (POA) inibem a termogênese do TAM e promovem vasodilatação, facilitando a perda de calor. Já em ambientes frios ou durante infecções, os sinais excitatórios de glutamato mediados por PGE₂ ativam fluxos simpáticos, aumentando a termogênese no TAM e promovendo vasoconstrição, reduzindo a perda de calor e resultando em respostas hipertermicas. Fonte: NAKAMURA *et al.*, 2022 (adaptado).

A ativação dos receptores β -adrenérgicos no TAM, principais receptores envolvidos nas vias de termogênese adaptativa em adipócitos marrons, inicia uma cascata de sinalização que quebra triglicerídeos, liberando ácidos graxos que ativam a UCP, além de metabolizar glicose e aminoácidos durante a termogênese, aumentando o gasto energético e melhorando condições como hiperglicemia e dislipidemia. Isso torna o TAM um alvo terapêutico promissor para distúrbios metabólicos e obesidade (MCNEILL; SUCHACKI; STIMSON, 2021). Embora sua prevalência seja reduzida em indivíduos obesos, a capacidade funcional do TAM permanece preservada (KULTERER *et al.*, 2022).

O coativador do receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma 1- α (PGC1- α) é uma proteína inicialmente reconhecida por sua interação com o receptor gama ativado por proliferador (PPAR- γ). O PGC1- α modula a expressão da UCP1 e promove a termogênese no TAM. Além disso, sua distribuição tecidual e estudos fisiológicos demonstram que o PGC1- α é essencial para o metabolismo oxidativo, biogênese mitocondrial, gliconeogênese hepática e beta-oxidação de ácidos graxos (BOSTROM *et al.*, 2012; SEMPLE *et al.*, 2004).

Os adipócitos beges, localizados principalmente no depósito adiposo inguinal dentro do tecido adiposo branco (TAB), são células termogênicas intermediárias entre adipócitos marrons e brancos. Apresentam mitocôndrias abundantes, expressam UCP1 em níveis inferiores às encontradas no TAM e possuem múltiplas gotículas lipídicas (SHABALINA *et al.*, 2013). Sua formação é induzida por diferenciação de progenitores ou transdiferenciação de adipócitos brancos maduros, desencadeada por frio, exercícios físicos e agonistas β 3-adrenérgicos. Além desses estímulos, fatores genéticos, dieta, períodos de desenvolvimento e localização anatômica dos depósitos adiposos também influenciam sua biogênese. O “escurecimento” do TAB surge como estratégia promissora para aumentar a termogênese e regular o metabolismo energético, destacando-se como potenciais alvos terapêuticos na obesidade e distúrbios metabólicos (IKEDA; MARETICH; KAJIMURA, 2018; MCNEILL; SUCHACKI; STIMSON, 2021; ZOICO *et al.*, 2019).

Os roedores, com exceção da transpiração, apresentam um conjunto de respostas térmicas e mecanismos de reflexo térmico análogos aos observados nos humanos (MORRISON, 2016).

Estudos destacaram as semelhanças entre o TAM humano com o TAM de ratos, ao

demonstrarem as mesmas características fisiológicas e funcionais como, a alta capacidade de captação de glicose no frio e a grande expansão de UCP. Baseado nisso, sugeriu-se que a regulação da atividade do TAM em humanos possa ser semelhante em roedores (VIRTANEN *et al.*, 2019). Sendo assim, o entendimento da atividade do TAM em ratos se torna essencial na investigação para o tratamento de desordens termogênicas em humanos.

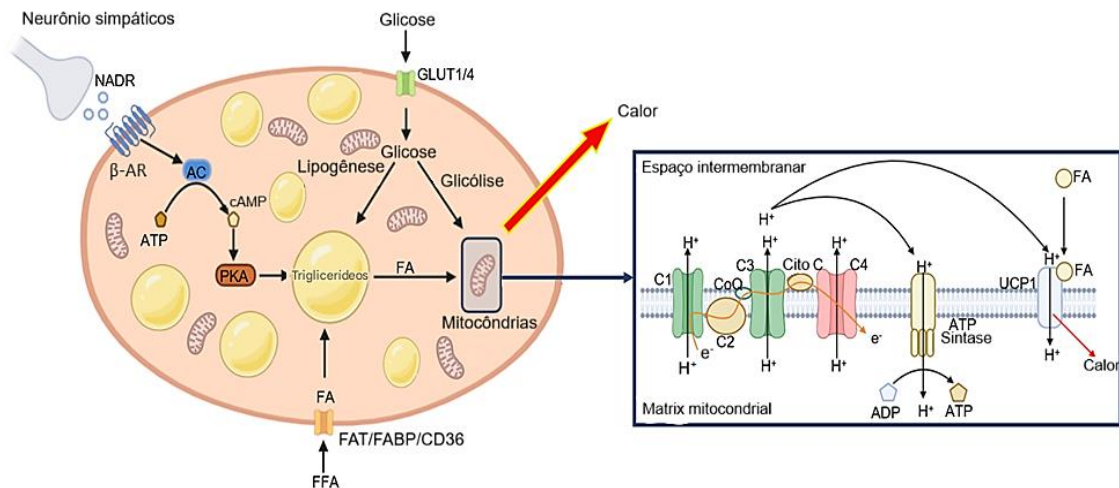


Figura 3: Termogênese do tecido adiposo marrom. A estimulação simpática via receptores β -adrenérgicos ativa a adenilato ciclase (AC), aumentando AMPc e ativando a PKA, que mobiliza ácidos graxos (FA) a partir de triglicerídeos. Nas mitocôndrias, o desacoplamento da cadeia de transporte de elétrons por UCP1 gera calor, utilizando FA como mediadores. Além disso, glicose é transportada por GLUT1/4 para fornecer energia ao processo. Fonte: McNeill; Suchacki; Stimson, 2021(adaptado).

1.4. MÚSCULO NA FEBRE

O músculo esquelético, que representa aproximadamente 40% do peso corporal humano e contém entre 50% a 75% das proteínas do corpo, é um tecido altamente dinâmico, desempenhando um papel significativo na termogênese em humanos (FRONTERA; OCHALA, 2015). Os músculos esqueléticos desempenham um papel fundamental na produção de calor em resposta a temperaturas frias, utilizando tanto contrações voluntárias durante atividades físicas quanto contrações involuntárias, como os tremores (BLONDIN; HAMAN, 2018).

É amplamente reconhecido que os tremores, que consistem em contrações musculares repetitivas, são um mecanismo fundamental para a produção de calor, funcionando como uma primeira linha de defesa em situações de exposição repentina ao frio. Em muitas espécies, incluindo aves, marsupiais e certos mamíferos onde a termogênese mediada pelo TAM é limitada ou até ausente, a geração de calor pelos músculos esqueléticos se torna o principal método para manter a temperatura corporal (ROWLAND; BAL; PERIASAMY, 2015). Isso

acontece através do recrutamento de mecanismos de termogênese, que incluem tanto os tremores quanto outras formas de atividade muscular que não envolvem tremores diretamente (BLONDIN; HAMAN, 2018).

O calor produzido durante os tremores do músculo esquelético, que ocorre como parte da aclimação ao frio, resulta da hidrólise do ATP (PERIASAMY; HERRERA; REIS, 2017). Ao contrário da UCP1, que é majoritariamente encontrada no TAM, a proteína desacopladora 3 (UCP3) é expressa predominantemente no músculo esquelético e no coração (POHL *et al.*, 2019) e contribui para a produção de calor por meio de um desacoplamento suave (DE MARCHI; CASTELBOU; DEMAUREX, 2011).

1.5. PEPTÍDEO SEMELHANTE AO GLUCAGON 1

O trato gastrointestinal atua como um extenso órgão endócrino, responsável pela produção de hormônios incretinas. Dentre eles, destaca-se o peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), liberado pelas células L localizadas no intestino delgado distal e no cólon, e o peptídeo insulínico dependente de glicose (GIP). Esses dois hormônios são responsáveis por estimular entre 60% e 70% da secreção de insulina após uma refeição. O GLP-1 é liberado em resposta à ingestão de monossacarídeos metabolizáveis, como glicose, frutose e galactose, monossacarídeos não metabolizáveis, como o metil- α -glicopiranosídeo, além de ácidos graxos de cadeia longa, proteínas e determinados aminoácidos (DEFRONZO, 2017; MULLER *et al.*, 2019).

O GLP-1 desempenha diversas funções na regulação glicêmica, estimulando a secreção de insulina de forma dependente de glicose e inibindo a liberação de glucagon tanto em condições de hiperglicemia quanto de euglicemia. Além de seu papel no controle glicêmico, suas ações se estendem a vários órgãos. No trato gastrointestinal, reduz a motilidade e a secreção gástrica, prevenindo picos glicêmicos pós-refeição. No SNC, regula o apetite e diminui a ingestão calórica. No coração, eleva a frequência cardíaca e protege a vasculatura. No fígado, diminui a gliconeogênese e o acúmulo de gordura. No pâncreas, promove a proliferação e proteção das células beta. No músculo, aumenta a sensibilidade à insulina, e nos ossos, estimula a formação óssea, além de outros efeitos (KIM *et al.*, 2007; NAUCK *et al.*, 2021; MULLER *et al.*, 2019) (Figura 4).

A degradação do GLP-1 ocorre de maneira muito rápida, sendo clivado pela enzima dipeptidil peptidase-4 (DPP-4) logo após sua liberação na circulação, o que limita sua eficácia terapêutica devido à sua meia-vida extremamente curta, cerca de 2 minutos. Além disso, o GLP-

1 e o GIP são rapidamente eliminados pelo rim. Para contornar essa limitação, foram desenvolvidos agonistas do receptor GLP-1, que replicam seus efeitos glicorregulatórios, mas foram projetados para serem mais resistentes à degradação pela DPP-4, oferecendo uma ação mais duradoura e ampliando seu potencial terapêutico (DRUCKER, 2003; DRUCKER, 2006).

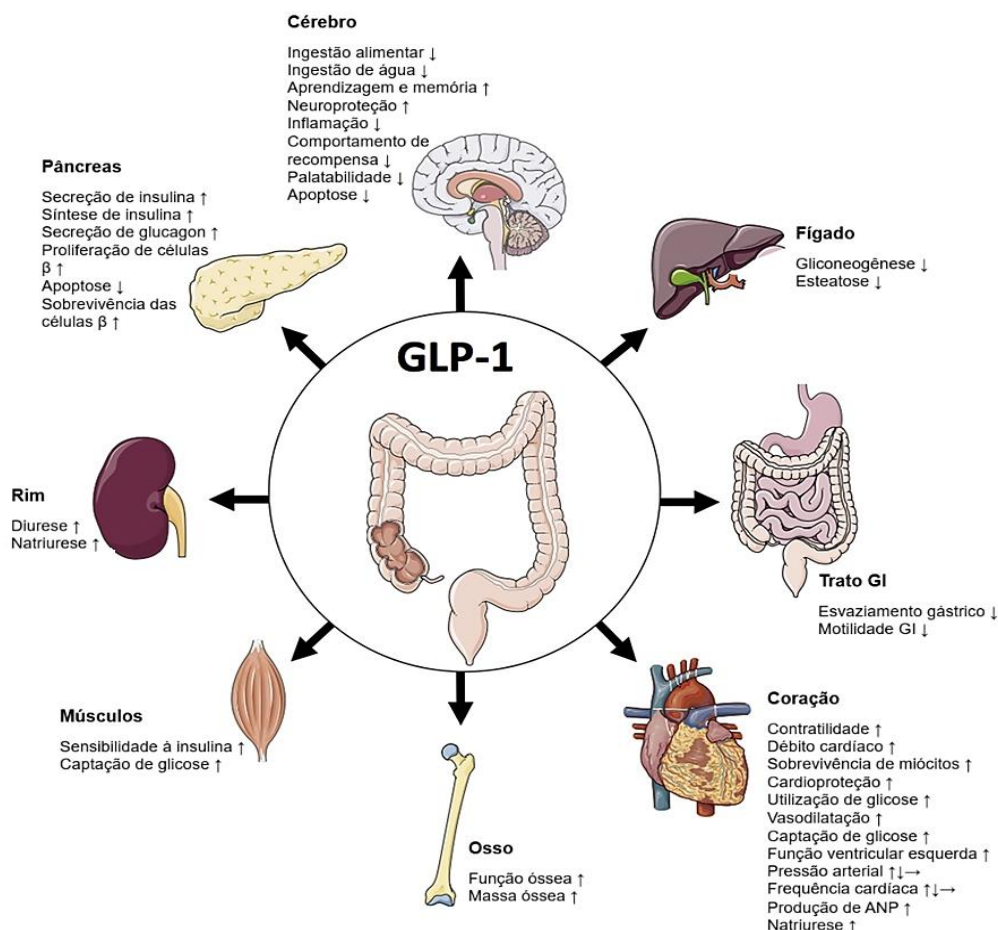


Figura 4: Efeitos de GLP-1 no organismo. No pâncreas, promove secreção e síntese de insulina e proliferação de células β. No cérebro, reduz ingestão alimentar, melhora memória e aprendizado. No fígado, reduz gliconeogênese e esteatose. No coração, melhora contratilidade, débito cardíaco e protege cardiomiócitos. Nos rins, aumenta diurese. Nos músculos, melhora captação de glicose e sensibilidade à insulina. Nos ossos, promove aumento de massa e função óssea, enquanto no trato gastrointestinal, reduz esvaziamento gástrico e motilidade. Fonte: MULLER *et al.*, 2019

1.6. LIRAGLUTIDA

A liraglutida, agonista do receptor GLP-1, mantém semelhança estrutural de 97% com o GLP-1 humano, mas apresenta modificações que aumentam sua eficácia. A substituição do aminoácido lisina 34 por arginina e a adição de uma cadeia lateral de ácido graxo C16 na posição 26, utilizando um espaçador de ácido γ-glutâmico, conferem à liraglutida uma maior afinidade pela albumina no plasma, o que prolonga sua ação (Figura 5). Com uma meia-vida

de cerca de 13 horas, esse fármaco permite administração diária eficaz (AGERSØ *et al.*, 2002; RUSSEL-JONES, 2009; NAUCK *et al.*, 2021).

A liraglutida demonstrou reduzir a glicose plasmática de forma similar aos tratamentos com insulina ao reduzir a hemoglobina glicada (cerca de 1,1 a 1,8%) com risco menor de hipoglicemia (NAUCK *et al.*, 2021; MADSBAD, 2019). Além disso, promove melhorias na função das células β pancreáticas, contribuindo para o controle glicêmico. Por essas razões, a liraglutida foi o primeiro fármaco dessa classe desenvolvido para o tratamento do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e demonstrou eficácia tanto em monoterapia quanto em terapia combinada nos ensaios clínicos do programa LEAD (*Liraglutide Effect and Action in Diabetes*) (BLASCO *et al.*, 2010).

Em 2016, a liraglutida (3 mg) foi aprovada no Brasil pela ANVISA para o tratamento da obesidade, respaldada por estudos que demonstraram sua eficácia na redução da pressão arterial, na diminuição da prevalência de pré-diabetes e na promoção da perda de peso. Ensaios clínicos evidenciaram perdas de até 5 kg com a dose de 1,8 mg em pacientes com DM2 e de 7 a 9 kg com a dose de 3 mg em indivíduos com obesidade após 56 semanas (KNUDSEN; LAU, 2019). Além disso, destacou-se por promover reduções expressivas na massa corporal e no índice de massa corporal (IMC), consolidando-se como uma opção eficaz no manejo da obesidade (ASTRUP *et al.*, 2009; MEHTA; MARSO; NEELAND; 2017).

A liraglutida também tem demonstrado benefícios significativos na saúde cardiovascular, incluindo redução nos riscos de eventos cardiovasculares adversos maiores, na mortalidade por causas cardiovasculares, além de menores taxas de infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral não fatais, especialmente em indivíduos com fatores de risco preexistentes (MARSO *et al.*, 2016; VEMULAPALLI *et al.*, 2023; SREENIVASAN *et al.*, 2024; MADSBAD, 2019).

Estudos recentes indicam a capacidade da liraglutida de melhorar a perfusão miocárdica, a eficiência energética cardíaca e a resistência física, complementando os dados prévios ao evidenciar benefícios não apenas na redução de riscos cardiovasculares, mas também na qualidade de vida e funcionalidade dos pacientes (CHOWDHARY *et al.*, 2024). Adicionalmente, age reduzindo a excreção urinária de albumina e retardando a progressão de complicações renais (KRISTENSEN *et al.*, 2019).

Mert e colaboradores (2022) evidenciaram que a liraglutida exerce ação anti-inflamatória ao observarem que o fármaco reduziu a hipersensibilidade mecânica e térmica, o edema e a temperatura da pata de ratos em um modelo de inflamação local. Ademais, estudos sugerem que o GLP-1 endógeno atua em receptores centrais para limitar a febre, enquanto um

antagonista do receptor de GLP-1 causa o aumento da febre induzida por LPS após o tratamento intracerebroventricular (RINAMAN; COMER, 2000).

Estudos recentes destacam os efeitos anti-inflamatórios da liraglutida, que modula a via da proteína quinase ativada por AMP e o fator nuclear kappa B (NF-κB), protegendo neurônios dopaminérgicos e reduzindo a apoptose, sugerindo potencial para tratar Alzheimer (CAO *et al.*, 2021). Em obesos com diabetes tipo 2, a liraglutida além de inibir a via NF-κB, reduziu marcadores inflamatórios, como TNF-α e receptores *Toll-like* 2 e 4, e aumentou a expressão de sirtuína 1 (SAVCHENKO *et al.*, 2019). Além disso, demonstrou melhorar a esteatose hepática ao reduzir TNF-α e NF-κB no fígado, enquanto aumenta a expressão de inibidor de kappa B, um regulador anti-inflamatório (LUO *et al.*, 2019).

Apesar dos resultados promissores, os efeitos adversos gastrointestinais transitórios, incluindo náuseas, vômitos, dispepsia, constipação e diarreia são frequentes, principalmente durante as fases iniciais do tratamento, destacando a necessidade de mais estudos para avaliar sua relação risco-benefício, contraindicações e segurança a longo prazo (MEHTA; MARSO; NEELAND; 2017; SEO, 2020; LEE *et al.*, 2023).

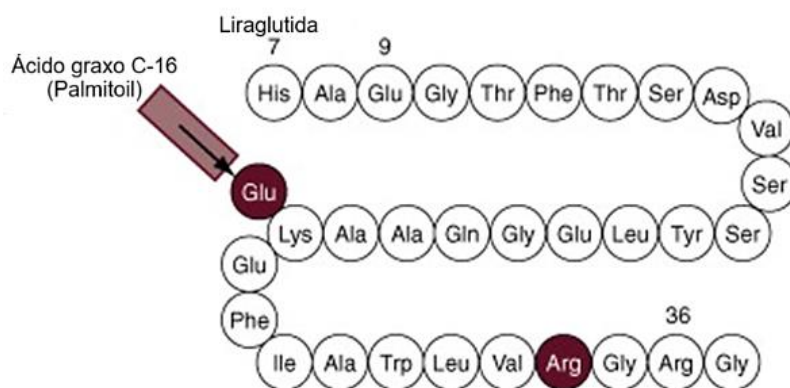


Figura 5: Estrutura da Liraglutida, um análogo do GLP-1. A modificação inclui a ligação de um ácido graxo C-16 ao resíduo de glutamato na posição 26 e uma substituição de arginina na posição 34, prolongando sua meia-vida no organismo. Fonte: RUSSEL-JONES, 2009 (adaptado).

1.7. DIFERENÇAS ENTRE OS SEXOS NA FEBRE

Nas últimas décadas, tanto estudos em animais quanto em humanos têm negligenciado as fêmeas. No entanto, a experiência clínica comprova que a resposta farmacológica pode variar entre os dois sexos, uma vez que as diferenças fisiopatológicas entre sexos influenciam significativamente a farmacocinética e farmacodinâmica de drogas (MAUVAIS- JARVIS, *et al.*, 2021).

A Tc apresenta variações entre os sexos. Na febre induzida por LPS, ratos machos apresentam maior resposta febril do que as fêmeas. Após castração, ratos machos apresentam uma redução significativa na resposta febril, especialmente no segundo pico da febre, já em fêmeas ovacteriomizadas (OVX) a febre mediada por PG é aumentada, possivelmente devido à ativação de mecanismos compensatórios, como o aumento na síntese de COX-2 e PGE₂. A reposição de estrogênio nesses animais reverte esse efeito, reduzindo a febre induzida por LPS (MURAKAMI; ONO, 1987; BRITO *et al.*, 2016; BRITO *et al.*, 2020).

Além disso, a endotelina (ET)-1 também modula a febre de forma dependente do perfil hormonal, uma vez que o bloqueio do receptor de ET-1 reverte a febre induzida por LPS em fêmeas com ciclo estral funcional, mas não em OVX. Esses achados indicam que o estrogênio modula a resposta febril, resultando em uma febre menos intensa em fêmeas com ciclo estral funcional, reforçando o papel desse hormônio na modulação da resposta febril (COELHO *et al.*, 2021).

Nas fêmeas, a Tc é de 0,3 °C a 0,7 °C mais alta durante a fase lútea pós-ovulatória, quando os níveis de progesterona estão elevados. Estrogênio e testosterona presentes na APOHA modulam a Tc, sendo que os estrogênios agem diretamente nos vasos, intensificando a vasodilatação periférica mediada pelo óxido nítrico. Em contrapartida, a progesterona tem um impacto maior sobre a termogênese, atuando diretamente nos neurônios da APOHA, o que sugere seu papel na regulação da Tc (BAKER; SIBOZA; FULLER, 2020; CHARKOUDIAN; STACHENFELD, 2016; FERNÁNDEZ-PEÑA *et al.*, 2023).

2. JUSTIFICATIVA

A liraglutida, um agonista do receptor GLP-1, é amplamente utilizada no tratamento do diabetes tipo 2 e obesidade devido aos seus efeitos bem estabelecidos na regulação glicêmica, redução do peso corporal e proteção cardiovascular. Além desses benefícios clássicos, estudos recentes têm demonstrado que a liraglutida possui efeitos anti-inflamatórios significativos em diversos contextos. Evidências experimentais indicam que a liraglutida reduz a inflamação e temperatura em modelos de inflamação local (Mert et al., 2022), enquanto o bloqueio do receptor GLP-1 potencializa a febre induzida por LPS (Rinaman e Comer, 2000). O TAM desempenha função central na termorregulação, sendo ativado em condições febris para intensificar a produção de calor e atuar como um importante efector das respostas térmicas. Estudos prévios documentaram aumento significativo na produção de ERO durante a febre (Gomes et al., 2018), e considerando as propriedades antioxidantes já relatadas da liraglutida, torna-se importante investigar sua influência na produção de ERO no TAM, especialmente no contexto de sua ação antioxidante. Este estudo busca explorar os efeitos da liraglutida sobre a produção de ERO no TAM e no músculo esquelético, bem como sua capacidade de modular a termogênese no TAM, contribuindo para expandir o entendimento dos mecanismos que sustentam seu potencial terapêutico em condições inflamatórias. Além disso, analisamos as diferenças entre sexos, frequentemente negligenciadas em estudos experimentais, mas cruciais para a compreensão abrangente das respostas terapêuticas.

3. OBJETIVOS

3.1. GERAL:

- Investigar os efeitos do tratamento com liraglutida sobre o TAM durante a resposta febril em ratos machos e fêmeas.

3.2. ESPECÍFICOS:

- Analisar os efeitos do tratamento com liraglutida sobre a Tc durante a resposta febril;
- Quantificar a produção de ERO no TAM e músculo esquelético após o tratamento com liraglutida durante a febre;
- Avaliar os efeitos do tratamento com liraglutida sobre a expressão de genes termogênicos (UCP1 e UCP3) e reguladores metabólicos (ADBR3 e PGC1 α) no TAM durante a resposta febril;
- Caracterizar as alterações morfológicas e estruturais no TAM após o tratamento com liraglutida durante a febre induzida por LPS;
- Comparar as respostas termogênicas, moleculares e histológicas à liraglutida entre machos e fêmeas, na modulação do TAM.

4. METODOLOGIA

4.1. ENSAIOS *IN VIVO*

Os ensaios farmacológicos foram realizados utilizando ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem Wistar, machos e fêmeas, com peso entre 180 e 200g. Os ratos permaneceram no Biotério do Instituto de Biologia (IB) da Universidade de Brasília em ambiente com umidade e temperatura controladas, sob $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$, ciclo claro-escuro de 12h e com água e ração fornecidos *ad libitum*. Os animais foram levados para o Laboratório de Bioquímica e Química de Proteínas (LBPQ) do IB para a realização dos experimentos, entre 08:00 e 18:00. Os experimentos foram realizados após a aprovação pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da UnB (Figura 6). (Protocolo nº 23106.128494/2022-27).

4.2. IMPLANTE DE REGISTRADORES DE TEMPERATURA

O monitoramento da temperatura corporal foi realizado através de registradores de temperatura (Data Loggers Subcue, Calgary, Canadá) implantados cirurgicamente na cavidade peritoneal. Para o procedimento cirúrgico, os animais foram anestesiados por via intraperitoneal (IP) com uma combinação de cetamina (60 mg/kg; Ketamina Agener® 10%, Agener União), xilazina (10 mg/kg; Calmiun® 2%, Agener União) e acepromazina (1 mg/kg; Acepran® 1%, Vetnil). Após tricotomia e antissepsia da região abdominal, realizou-se laparotomia para inserção do registrador, previamente desinfetado em álcool 70% por 30 minutos e lavado com solução salina estéril. A sutura foi realizada em dois planos (muscular e cutâneo) com padrão contínuo simples. Em seguida, os animais receberam antibioticoterapia com oxitetraciclina (10 mg/kg, IM; Terramicina®, Zoetis) como profilaxia antibiótica e meloxicam (1 mg/kg, IM; Maxicam®, MSD) como anti-inflamatório, sendo este último mantido por 3 dias. Estabeleceu-se um período de recuperação de 7 dias antes do início dos experimentos.

4.3. MENSURAÇÃO DA TEMPERATURA

Para o registro da temperatura corporal, os animais foram mantidos em sala experimental com temperatura controlada ($27 \pm 1^{\circ}\text{C}$) por no mínimo 12 horas antes do início dos experimentos de indução de febre. O monitoramento da temperatura foi iniciado 2 horas antes de qualquer intervenção, com registros automáticos em intervalos de 15 minutos,

continuando até o término do experimento. A temperatura basal foi calculada como a média de quatro medições consecutivas obtidas antes de qualquer manipulação experimental.

A resposta febril foi quantificada como a variação de temperatura (ΔT), calculada pela diferença entre a temperatura registrada na quarta hora após a administração de LPS e a temperatura basal de cada animal. O período de 4 horas foi selecionado por representar o momento de resposta febril bem estabelecida, conforme determinado em estudo piloto.

4.4. ADMINISTRAÇÃO DA LIRAGLUTIDA E INDUÇÃO DE FEBRE POR LPS

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais ($n=7/\text{grupo}$): 1) Controle (salina/salina); 2) Salina + Liraglutida (0,3 mg/kg); 3) LPS (LPS/salina) e 4) LPS + Liraglutida (0,3 mg/kg). A dose de liraglutida utilizada (0,3 mg/kg) foi determinada em estudo piloto prévio que testou as doses de 0,1, 0,3 e 1 mg/kg, IP.

Para indução da febre, os animais receberam LPS (50 $\mu\text{g/kg/mL}$, IP) ou o mesmo volume de solução salina (0,9%, IP). A liraglutida foi administrada 1 hora após a injeção de LPS ou salina.

Quatro horas após a administração do LPS, os animais foram anestesiados com cetamina e xilazina (300 mg/kg e 30 mg/kg, respectivamente) e eutanasiados por decapitação para coleta do tecido adiposo marrom e músculo esquelético. Os tecidos foram imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -80°C até o momento das análises.

4.5. PREPARO DO TAM E DO MÚSCULO PARA MEDIDA DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO POR RPE

As soluções foram preparadas em tampão Krebs HEPES (KHB) (Noxygen, Alemanha) dissolvido em água bidestilada e deionizada. Uma solução estoque de CMH (1-hidroxi-3-metoxicarbonil-2,2,5,5-tetrametilpirrolidina) 10 mM foi preparada em KHB suplementado com quelantes: deferroxamina (DF) 25 mM para ferro e dietilditiocarbamato de sódio tri-hidratado (DETC) 5 mM para cobre, evitando interferências de metais de transição. As soluções foram mantidas refrigeradas durante todo o experimento.

Os tecidos foram divididos em quatro partes e lavados três vezes com KHB (500 μL). Em seguida, foram incubados a 37°C por 1 hora em 500 μL de KHB com quelantes contendo CMH (200 μM) e heparina (50 UI/ μL). Após incubação, coletou-se 450 μL do sobrenadante e aplicou-se em seringas de 1 mL, que foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C até análise por RPE. Os tecidos foram secos em speedvac e pesados.

4.6. QUANTIFICAÇÃO DE ERO POR RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (RPE)

As amostras congeladas foram transferidas das seringas para um *Finger Dewar* com nitrogênio líquido, mantendo temperatura criogênica durante as medições. A curva de calibração foi preparada usando padrão 3-carboxi-proxilo (CP*) (Noxygen, Alemanha), diluído em KHB (0, 5, 10, 50 e 100 μ M). As amostras de calibração (450 μ L) foram congeladas em seringas de 1 mL até a análise.

As medidas foram realizadas em espectrômetro Bruker EMX500 (banda X, 9,35 GHz), com potência de 2 mW e campo de modulação de 200 Gauss. Utilizou-se constante de tempo de 10 ms e tempo de varredura de 600G, acumulando cinco varreduras por medição.

A *spin probe* CMH não gera sinal detectável por RPE, mas após reagir com espécies oxidantes, como as ERO, converte-se no aduto estável CM* (3-metoxycarbonilproxil nitróxido), que é detectado por RPE e gera sinal proporcional à concentração de ERO nas amostras (GOMES et al., 2018).

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de RPE do Instituto de Física (UnB), seguindo metodologias padronizadas com adaptações específicas (DIKALOV et al., 2018).

4.7. EXTRAÇÃO DE RNA DO TECIDO ADIPOSEO MARROM

A extração de RNA total do TAM foi realizada utilizando o reagente TRIzol® (SIGMA-ALDRICH, Brasil), seguido por purificação com um kit comercial (PureLink® RNA Mini Kit).

Amostras de TAM (100 mg) foram homogeneizadas em 1 mL de TRIzol em temperatura ambiente (Ta) até completa dissociação celular. Em seguida, foram incubadas por 5 minutos em Ta para dissociação completa das estruturas nucleoproteicas. Adicionou-se clorofórmio (SIGMA-ALDRICH, EUA) na proporção 1:5 (v/v) em relação ao TRIzol, seguido de agitação em vórtex e incubação por 5 minutos em Ta. Após centrifugação (12.000 x g, 15 minutos, 4°C), obteve-se três fases: superior aquosa (RNA), intermediária (DNA) e inferior orgânica (proteínas). Coletou-se 300 μ L da fase aquosa em duas alíquotas de 150 μ L.

Para a purificação do RNA, misturou-se a fase aquosa com igual volume de etanol 70% e transferiu-se para cartuchos de filtração (Spin Cartridges). Realizou-se três centrifugações (12.000 x g, 15 segundos) com descarte do filtrado. O RNA foi lavado sequencialmente com tampão de lavagem I (700 μ L) e tampão de lavagem II (500 μ L, duas vezes), centrifugando nas mesmas condições. O cartucho foi transferido para um tubo de recuperação e o RNA foi eluído com 30 μ L de água RNase-free (incubação: 1 minuto, Ta; centrifugação: 12.000 x g, 2 minutos,

Ta). O RNA purificado foi armazenado a -80°C para posteriores análises. A concentração e pureza foram determinadas utilizando um espectrofotômetro NanoDrop. Uma razão A260/A280 acima de 1,9 no Nanodrop indicou que a amostra de RNA estava sem contaminação significativa.

4.8. SÍNTESE DE DNA COMPLEMENTAR

Para síntese de cDNA, utilizou-se o High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems®). A reação foi preparada com 5 μL de RNA e 5 μL de solução contendo tampão, dNTPs, primers aleatórios, inibidor de RNase e transcriptase reversa. A mistura de cDNA (200 ng/ μL) foi homogeneizada em centrífuga para spin.

Em placa de 96 poços, pipetou-se 5 μL da mistura e 5 μL de RNA por poço. Após selar e centrifugar brevemente, realizou-se a transcrição reversa em termociclador (BIO-RAD-T100) nas seguintes condições: anelamento (25°C , 10 min), síntese (37°C , 120 min), inativação enzimática (85°C , 5 min) e armazenamento (4°C). O cDNA foi estocado a -20°C até análise por PCR.

4.9. TÉCNICA DE REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE

A técnica de PCR quantitativo em tempo real (qPCR) foi realizada utilizando o sistema SYBR Green. Para cada reação, um mix contendo 5 μL de SYBR Green 2 $\times$, 0,5 μL de primer F (10 μM), 0,5 μL de primer R (10 μM) e 2 μL de água milliQ foi preparado. Em seguida, 2 μL de cDNA (5 ng/mL) foram adicionados a cada poço de uma placa de 96 poços, totalizando um volume final de 10 μL por reação.

As reações de qPCR (Applied Biosystems Real-Time PCR System, Estados Unidos) foram realizadas sob as seguintes condições: 95°C por 10 minutos para ativação inicial da DNA polimerase, seguidos de ciclos de amplificação e, ao final, a análise da curva de fusão foi conduzida para verificar a especificidade dos produtos amplificados.

Os dados obtidos foram analisados com base nos valores de Ct (ciclo limiar), que representam o número de ciclos necessários para que a fluorescência do produto amplificado alcance um limite detectável. Essa análise permitiu quantificar a expressão gênica relativa, comparando os valores de Ct entre as amostras. A normalização dos dados foi realizada utilizando um gene de referência, permitindo a interpretação da expressão relativa dos genes de interesse em relação ao controle.

As sequências dos primers para os genes de interesse, incluindo UCP1, UCP3, PGC1 α e ADRB3, assim como para o gene de referência r36B4, estão descritas na Tabela Suplementar 1. A expressão relativa de mRNA foi calculada pelo método $2^{-\Delta C_t}$, utilizando r36B4 como gene de referência. Este método permite a quantificação da expressão dos genes de interesse em relação ao controle, proporcionando uma comparação precisa das variações na expressão gênica entre as amostras analisadas.

4.10. HISTOLOGIA DO TECIDO ADIPOSEO MARROM

As amostras de TAM foram inicialmente congeladas em nitrogênio e armazenadas na temperatura de -80 °C até a fase de análise. Para preservar a estrutura celular, o tecido foi fixado em formaldeído tamponado a 10% por 24 horas. Em seguida, o tecido foi processado por desidratação (etanol 70%), infiltração (xilol) e impregnação com parafina líquida. Os blocos foram seccionados em micrótomo (4 μ m), transferidos para lâminas de vidro fosco e secos em estufa. Após coloração com hematoxilina-eosina (H&E), as lâminas foram montadas com lamínulas em meio transparente. As imagens foram capturadas em microscópio ZEISS Primo Star (100 $\times$) e analisadas no ImageJ 2.0.

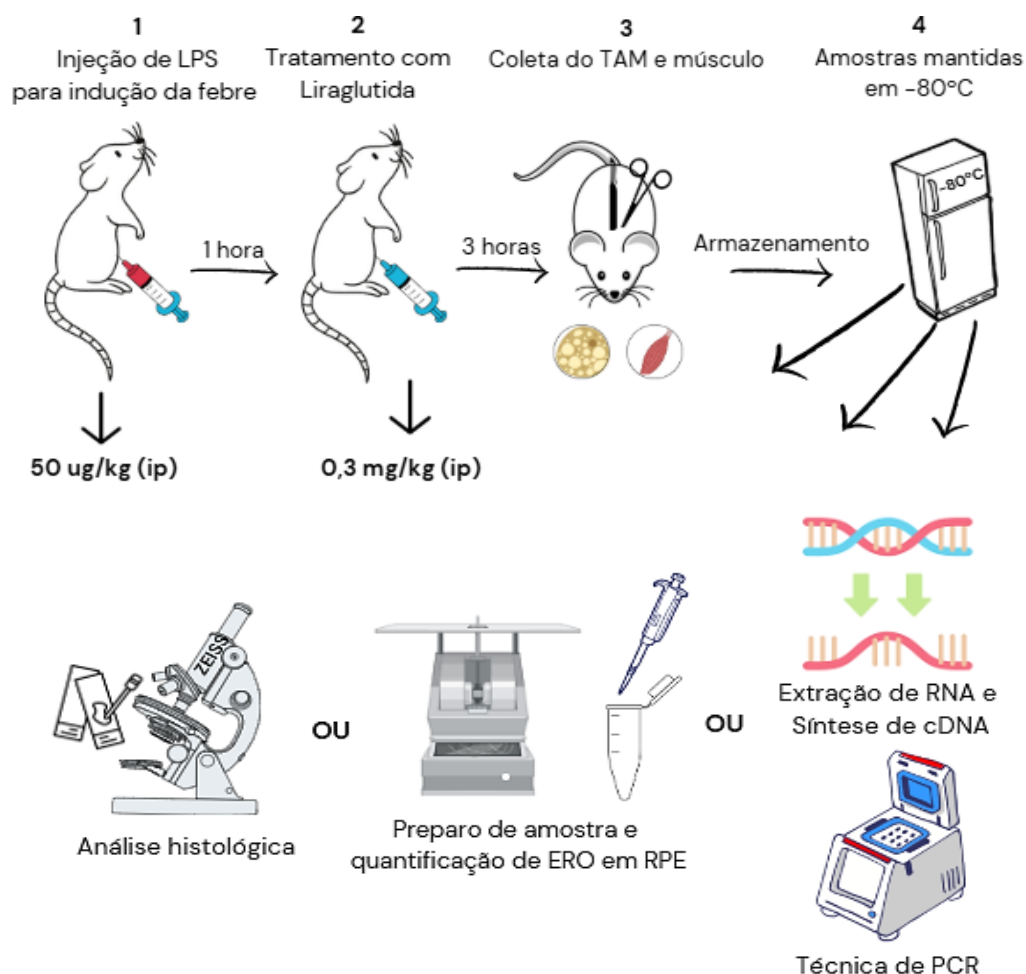


Figura 6: Esquema ilustrativo da metodologia.

4.11. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Utilizou-se ANOVA de uma via com pós-teste de Bonferroni para análise da variação da temperatura (ΔT) e de duas vias com pós-teste de Bonferroni para análise das concentrações de CM* em TAM e músculo. A expressão gênica foi analisada pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn's. Considerou-se significativo $p < 0,05$, utilizando o software estatístico Prism 8.0.2.

A temperatura basal foi calculada pela média de quatro medições pré-intervenção. O ΔT foi obtido pela diferença entre temperatura na quarta hora e basal, comparando Tc antes e após administração do fármaco e LPS. Os dados são apresentados como média $\pm$ EPM.

5. RESULTADOS

5.1. LIRAGLUTIDA REDUZ A TEMPERATURA CORPORAL EM RATOS MACHOS E FÊMEAS APÓS A INDUÇÃO DA FEBRE POR LPS

Inicialmente, realizou-se um estudo piloto para avaliar a variação da temperatura corporal (ΔT), calculada como a diferença entre a temperatura na 4ª hora pós-administração de LPS e a temperatura basal. A administração de LPS (50 $\mu\text{g/kg}$, IP) induziu resposta febril significativa ($p < 0,01$) em ambos os sexos. O tratamento com liraglutida nas doses de 0,3 e 1,0 mg/kg produziu efeito antitérmico equipotente ($p < 0,01$ vs LPS/SAL), enquanto a dose de 0,1 mg/kg foi ineficaz (Figura 7). Com base nesses resultados, selecionamos a dose de 0,3 mg/kg para os experimentos subsequentes.

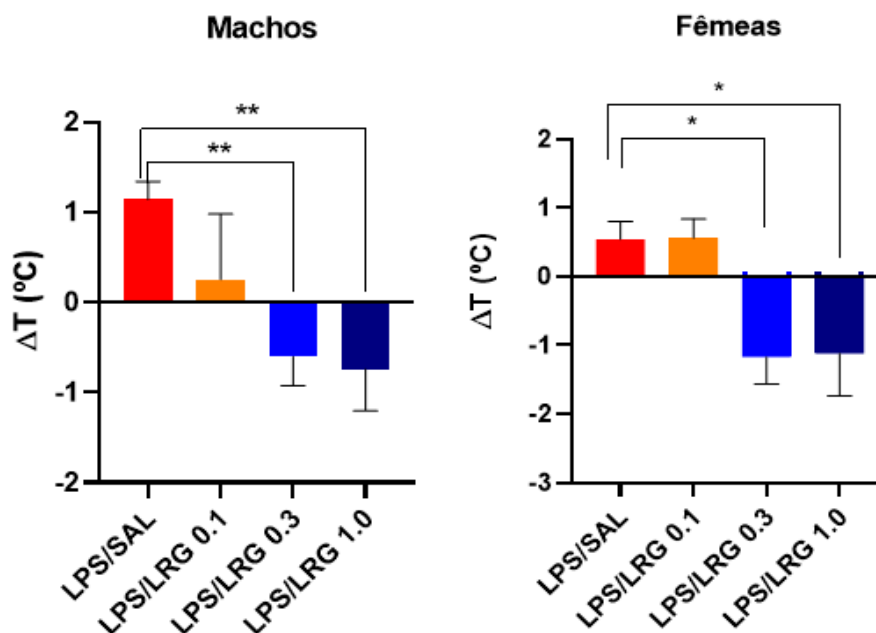


Figura 7: Variação da temperatura corporal (ΔT) na febre induzida por LPS após o tratamento com diferentes concentrações de liraglutida. A liraglutida (0,1, 0,3 e 1 mg/kg, via intraperitoneal) foi administrada uma hora após a injeção de LPS (50 $\mu\text{g/kg}$, via intraperitoneal). Os gráficos apresentam a diferença entre a temperatura corporal na quarta hora e a temperatura basal (ΔT) em (A) machos e (B) fêmeas. Os dados estão expressos como média $\pm$ erro padrão da média (SEM) da temperatura corporal (°C) de 4 animais por grupo. A análise estatística foi realizada por ANOVA one-way ANOVA, seguida do teste de Bonferroni com significância estatística indicada por * $p < 0,05$.

A Figura 8 ilustra a ΔT , calculada como a diferença entre a temperatura na 4ª hora pós-LPS e a temperatura basal. A administração de LPS induziu resposta febril em ambos os sexos ($p < 0,001$) quando comparado ao grupo controle (SAL). O tratamento com liraglutida promoveu redução significativa da temperatura corporal tanto em animais tratados com LPS

quanto com salina ($p < 0,0001$). Nos animais controle, a liraglutida induziu hipotermia em condições basais. O padrão de resposta foi similar entre machos e fêmeas.

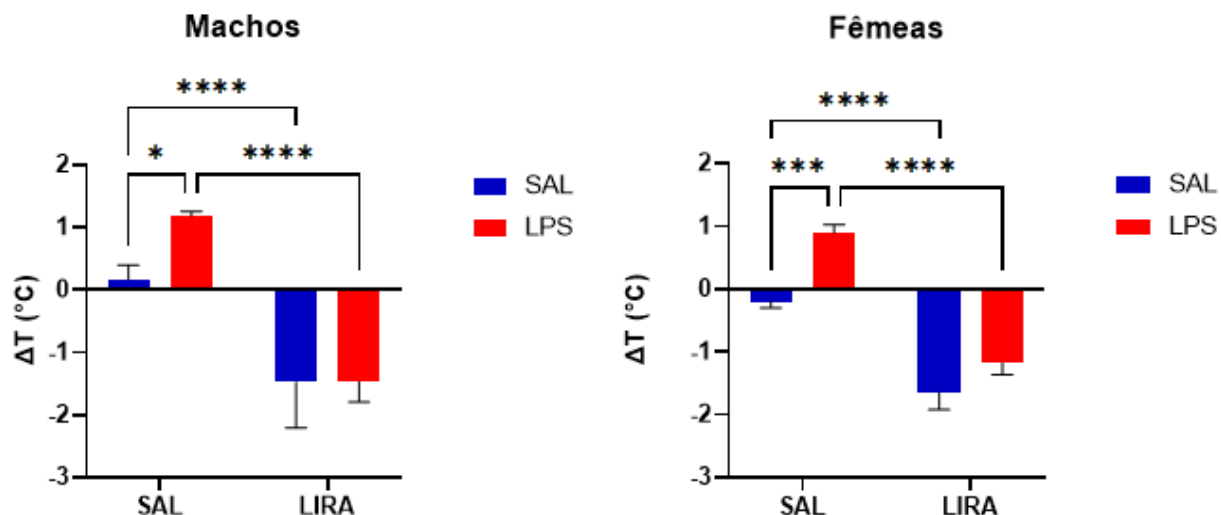


Figura 8: Variação da temperatura corporal (ΔT) durante a febre induzida por LPS, com ou sem tratamento da liraglutida (0,3 mg/kg). A liraglutida (0,3 mg/kg, via ip) ou o veículo (solução salina 0,9%, 0,5 mL, via ip) foram administrados uma hora após a injeção de LPS (50 $\mu\text{g/kg}$, via ip). Os dados dos grupos tratados com LPS estão representados em vermelho, enquanto os grupos controles tratados com solução salina estão em azul. Os gráficos mostram a diferença entre a T_c na quarta hora e a temperatura basal (ΔT) para (A) machos e (B) fêmeas. Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (SEM) da temperatura corporal ($^{\circ}\text{C}$), com $n = 7$ por grupo. A análise estatística foi realizada por one-way ANOVA, seguida do teste de Bonferroni com significância estatística indicada por * $p < 0,05$.

5.2. AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO NO TECIDO ADIPOSEO MARROM E MÚSCULO EM RATOS MACHOS E FÊMEAS DURANTE A RESPOSTA FEBRIL

A Figura 9 apresenta a quantificação de ERO no TAM e músculo esquelético por ressonância paramagnética eletrônica (RPE), 4h após administração de LPS (50 $\mu\text{g/kg}$, IP). Em machos, o LPS aumentou a produção de ERO tanto no TAM quanto no músculo ($p < 0,05$ e $p < 0,01$ vs SAL, respectivamente). O pós-tratamento com liraglutida (0,3 mg/kg, IP) reduziu a formação de ERO em ambos os tecidos durante a resposta febril. Em fêmeas, não foram observadas alterações significativas na produção de ERO entre os grupos experimentais. A formação de ERO foi determinada pela detecção do radical $\text{CM}^{\bullet}$, que é proporcional à concentração de ERO.

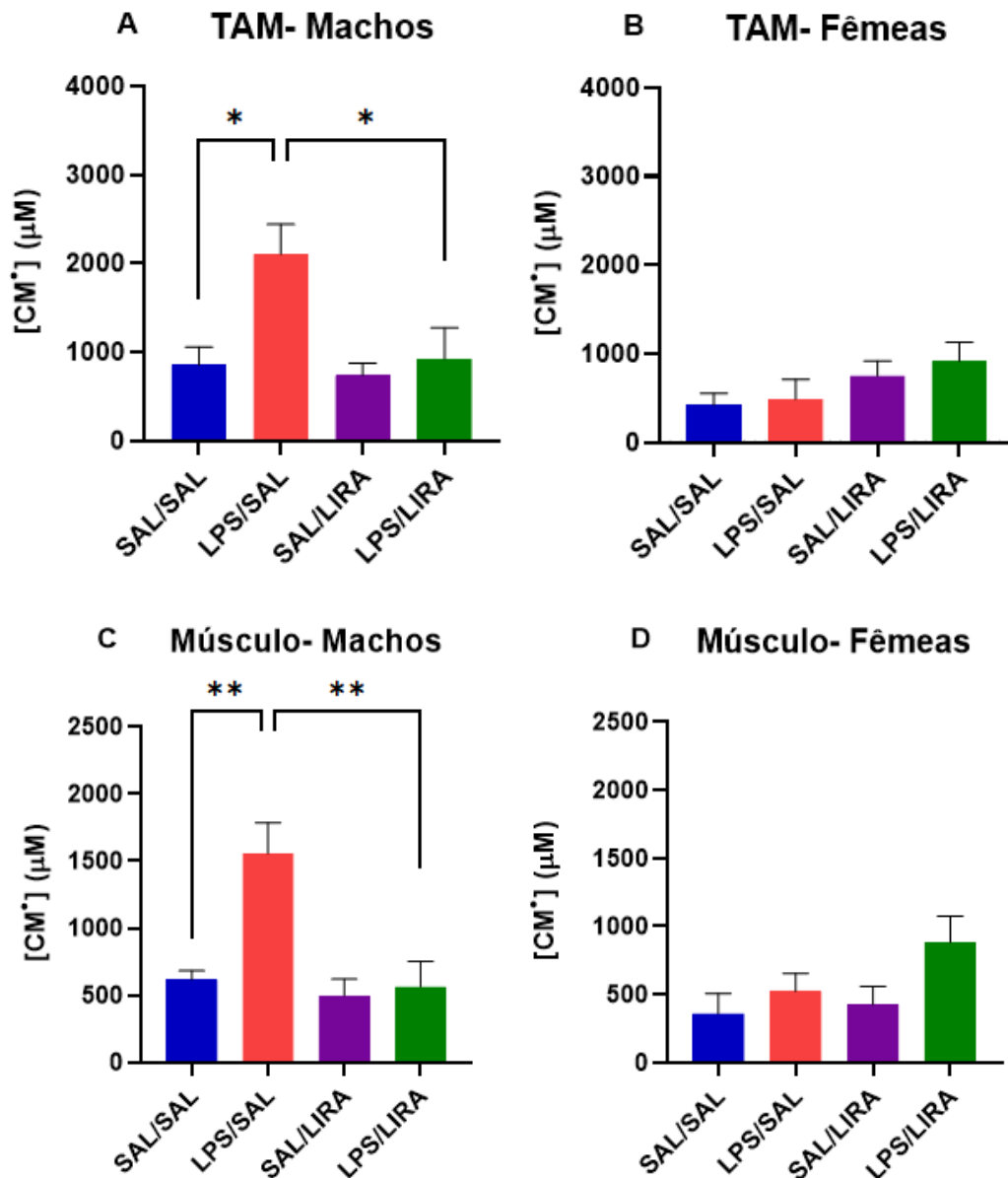


Figura 9: Concentração de CM* (μM) no tecido adiposo marrom e no músculo, avaliada 4 horas após a administração de LPS em ratos tratados com ou sem liraglutida. As barras representam a concentração de CM* no TAM e no músculo de ratos machos (A e C) e fêmeas (B e D) controles e tratados com liraglutida (0,3 mg/kg, via ip), avaliados 4 horas após a administração ip de LPS (50 μg/kg) ou salina (0,9%, 0,5 mL) (n = 4-5 por grupo). Os dados estão apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). Diferenças estatísticas significativas foram indicadas por *p < 0,05, conforme análise realizada por two-way ANOVA, seguida do teste de Bonferroni.

5.3. ANÁLISE DO EFEITO DA LIRAGLUTIDA SOBRE A EXPRESSÃO DE mRNA DE UCP1, UCP3, ADBR3 e PGC1α EM TECIDO ADIPOSEO MARROM DE FÊMEAS E MACHOS DURANTE A FEBRE

No TAM, a ativação do ADBR3 desencadeia uma cascata de sinalização que culmina na indução de PGC1α, que por sua vez modula a expressão de UCP1 e UCP3, responsáveis pela atividade metabólica termogênica. Assim, investigamos o efeito da liraglutida sobre a expressão de mRNA da UCP1, UCP3, ADBR3 e PGC1α no TAM durante a resposta febril. As amostras

de TAM foram coletadas 4 horas após a indução da febre por LPS (50 µg/kg, ip)

Em ratos machos, o LPS aumentou a expressão de mRNA tanto de UCP1 quanto de UCP3. O tratamento com liraglutida reduziu significativamente a expressão de mRNA de UCP3 induzida por LPS e mostrou uma tendência à redução de UCP1 (diminuição de 66%, $p=0,068$) (Figura 10A e 10C). Em contraste, as ratas fêmeas não apresentaram alterações significativas na expressão de UCP1 ou UCP3 em nenhum dos grupos experimentais.

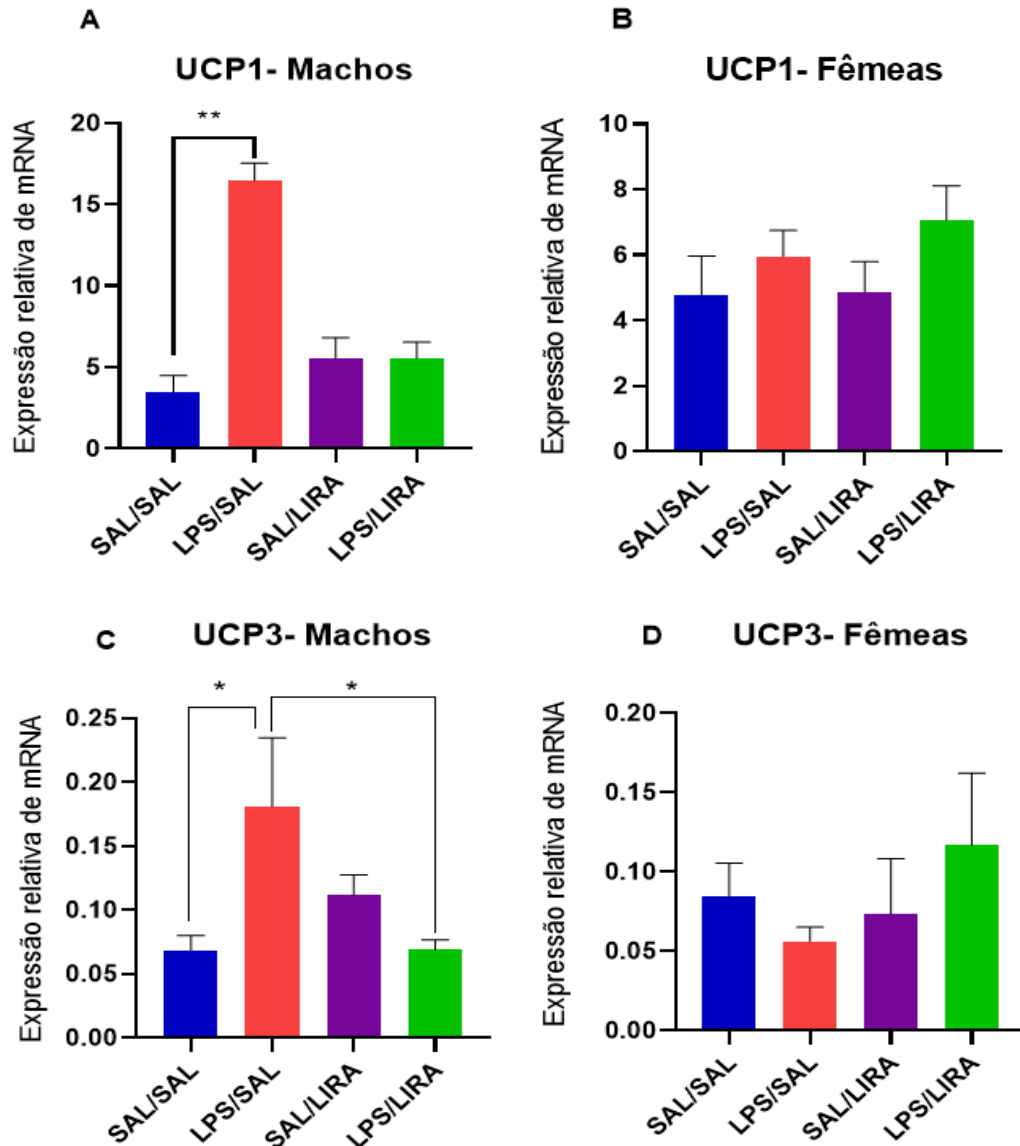


Figura 10: Expressão de mRNA da UCP1 e UCP3 em machos e fêmeas após 4 horas da indução da febre por LPS e pós-tratamento com liraglutida. Cada coluna representa um grupo experimental, incluindo tanto ratos machos (A e C) ($n = 5-6$) quanto fêmeas (B e D) ($n = 4-5$) controles e tratados com liraglutida (0,3 mg/kg, via ip), avaliados 4 horas após a administração ip de LPS (50 µg/kg) ou salina (0,9%, 0,5 mL). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Valores marcados com * $p < 0,05$ indicam diferenças estatísticas significativas, conforme análise realizada por teste Kruskal-Wallis não paramétrico, seguido do teste de Dunn's.

A expressão dos reguladores metabólicos ADRB3 e PGC1 α não apresentou alterações significativas entre os grupos experimentais, tanto em machos quanto em fêmeas (Figura 11).

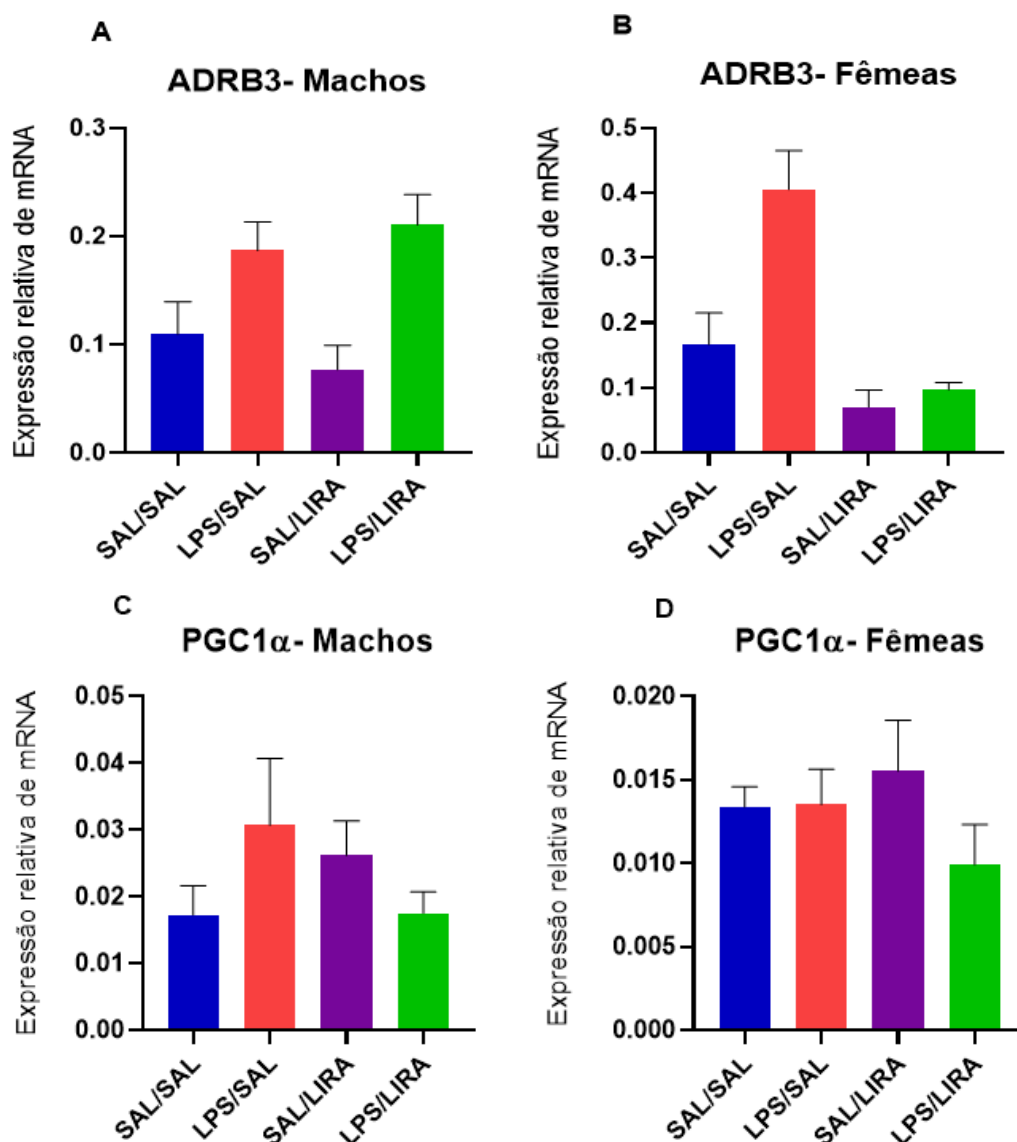


Figura 11: Expressão de mRNA da ADRB3 e PGC1 α em ratos após 4 horas da indução da febre por LPS e pós-tratamento com liraglutida. Cada coluna representa um grupo experimental, incluindo tanto ratos machos (n = 5-7) quanto fêmeas controles e tratados com liraglutida (0,3 mg/kg, via ip), avaliados 4 horas após a administração ip de LPS (50 μ g/kg) ou salina (0,9%, 0,5 mL) (n = 4-5). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (EPM). Valores marcados com *p < 0,05 indicam diferenças estatísticas significativas, conforme análise realizada por Kruskal-Wallis não paramétrico, seguido do teste de Dunn's.

5.4. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO TECIDO ADIPOSEO MARROM APÓS INDUÇÃO DA FEBRE POR LPS E TRATAMENTO COM LIRAGLUTIDA

Por fim, a análise histológica do TAM foi realizada para avaliar as alterações morfológicas no tecido após a indução da febre por LPS e o tratamento com liraglutida. Após 4 horas da indução da febre, os tecidos foram coletados, fixados, submetidos a coloração com hematoxilina-eosina e analisados sob microscópio óptico em aumento de 100x.

Nos machos, o grupo controle SAL/SAL apresentou adipócitos multiloculares típicos com numerosas gotículas lipídicas pequenas e mitocôndrias abundantes, evidenciadas pelo citoplasma corado em rosa. O grupo tratado com SAL/LIRA manteve organização tecidual semelhante, sugerindo que a liraglutida não causou alterações estruturais significativas no TAM em condições basais. O grupo que recebeu LPS/SAL apresentou alterações inflamatórias acentuadas evidenciadas por maior infiltrado celular inflamatório, arquitetura tecidual alterada e espaços intersticiais aumentados. O grupo LPS/LIRA também mostrou sinais de resposta inflamatória, com aumento do espaço intersticial, porém com menor grau de infiltrado inflamatório e estrutura básica do TAM preservada. Esses achados sugerem um efeito protetor da liraglutida contra a inflamação induzida por LPS (Figura 12).

Nas fêmeas, nos grupos controles SAL/SAL e SAL/LIRA verificaram-se alterações inflamatórias basais. O grupo LPS/SAL exibiu alterações inflamatórias mais pronunciadas, com significativo aumento do espaço intersticial, maior infiltrado celular e desorganização da estrutura tecidual, embora estas alterações tenham sido menos severas quando comparadas às observadas nos machos. O grupo LPS/LIRA apresentou sinais moderados de inflamação, com aumento do infiltrado celular e espaço intersticial (Figura 13).

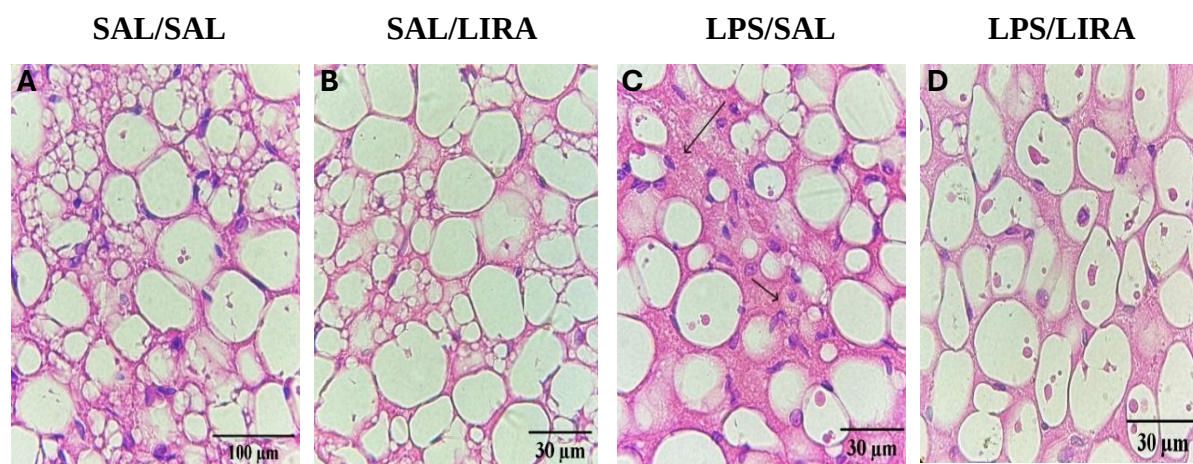


Figura 12: Histologia do tecido adiposo marrom de ratos machos após a indução de febre com LPS e tratamento com liraglutida. As imagens ilustram a organização tecidual e a intensidade do infiltrado inflamatório nos grupos controles e tratados com liraglutida (0,3 mg/kg, via ip), avaliados 4 horas após a administração ip de LPS (50 µg/kg) ou salina (0,9%, 0,5 mL) As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina e analisadas em microscópio com aumento de 100x.

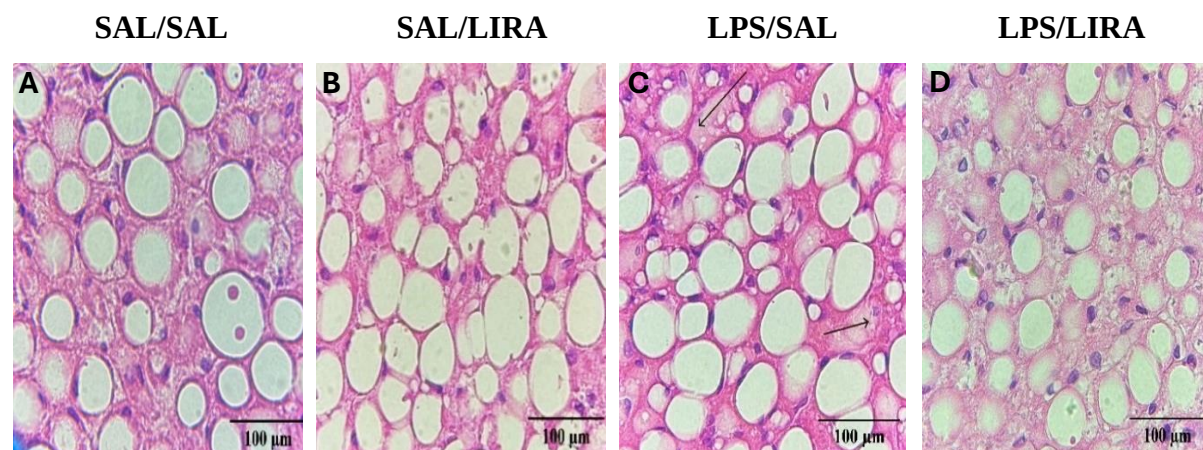


Figura 14: Histologia do tecido adiposo marrom de ratas fêmeas após a indução de febre com LPS e tratamento com liraglutida. As imagens ilustram a organização tecidual e a intensidade do infiltrado inflamatório nos grupos controles e tratados com liraglutida (0,3 mg/kg, via ip), avaliados 4 horas após a administração ip de LPS (50 μ g/kg) ou salina (0,9%, 0,5 mL). As lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina e analisadas em microscópio com aumento de 100x.

6. DISCUSSÃO

Este é, em nosso conhecimento, o primeiro estudo que demonstra os efeitos da liraglutida sobre o TAM durante a resposta febril, revelando diferenças sexuais significativas. Em machos, a liraglutida diminuiu a temperatura corporal, reduziu a produção de ERO no TAM e músculo esquelético, diminuiu a expressão de biomarcadores termogênicos e normalizou a morfologia do TAM. Em fêmeas, embora a liraglutida tenha promovido redução significativa da temperatura corporal, não foram observadas alterações na produção de ERO, na expressão de biomarcadores e na morfologia nos tecidos analisados. Estes achados expandem as evidências prévias sobre os efeitos anti-inflamatórios da liraglutida (MERT *et al.*, 2022) e sugerem mecanismos sexo-específicos na regulação da resposta febril pela liraglutida.

A febre é uma resposta do organismo a estímulos pirogênicos, sendo o LPS um modelo experimental de indução de febre amplamente utilizado para entender seus mecanismos fisiológicos, neuroendócrinos e imunológicos (BARTFAI; CONTI, 2010; ROTH; BLATTEIS, 2014). O LPS age principalmente nos receptores TLR4, em seu sítio de ligação localizado na região extramembranar, que contém repetições de leucina. Sua ativação em células como macrófagos e neutrófilos desencadeia uma cascata inflamatória, resultando na produção de citocinas circulantes como IL-1, IL-6 e TNF- α , que estimulam a síntese de COX-2 nas células endoteliais cerebrais. Esta enzima converte o ácido araquidônico em PGE₂, que ativa os receptores EP3, elevando o limiar térmico do hipotálamo e gerando respostas efetoras, como vasoconstrição e contração muscular, elevando a Tc (SPENCER, 2015; EVANS; REPASKY; FISHER, 2015).

A liraglutida, agonista do receptor de GLP-1 (KNUDSEN *et al.*, 2000), possui ações terapêuticas múltiplas, incluindo efeitos antidiabéticos e antiobesidade bem estabelecidos (BLASCO *et al.*, 2010; KNUDSEN; LAU, 2019), benefícios cardiovasculares (MARSO *et al.*, 2016) e, conforme evidências recentes, propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (MERT *et al.*, 2022; HELMSTÄDTER *et al.*, 2021). Estudos em modelos animais têm evidenciado o amplo potencial terapêutico da liraglutida, consolidando-a como uma ferramenta promissora para o tratamento e prevenção de diversas condições metabólicas e inflamatórias.

Em nosso estudo, os resultados de ΔT indicaram que a liraglutida foi eficaz na redução da febre induzida por LPS em ratos de ambos os sexos. Foram testadas as doses de (0,1, 0,3 e 1 mg/kg, sendo que 0,3 e 1 mg/kg demonstraram capacidade de reduzir a Tc em animais febris, com a dose de 0,3 mg/kg sendo selecionada para a continuação dos experimentos devido ao seu melhor desempenho na redução da Tc.

Nossos resultados corroboram os achados de Mert e colaboradores (2022), que compararam os efeitos anti-inflamatórios da liraglutida e do tramadol em um modelo de inflamação induzida por carragenina. Neste estudo, a liraglutida reduziu significativamente a temperatura da pata, de 33,6 para 27,3 °C e suprimiu os sinais inflamatórios de forma mais eficaz que o tramadol. De forma similar, Helmstädter e colaboradores (2021) evidenciaram a eficácia da liraglutida na normalização da Tc em camundongos machos submetidos ao modelo de sepse polimicrobiana por ligadura e punção cecal (CLP).

A relevância do sistema GLP-1 endógeno na regulação central da resposta febril foi ainda confirmada por Rinaman e Comer (2000), que demonstraram amplificação da febre induzida por LPS (100 µg/kg, ip) após a administração intracerebroventricular de um antagonista do receptor de GLP-1 (10 µg) em ratos Sprague-Dawley machos.

A termogênese adaptativa, essencial para o gasto energético, é mediada principalmente pelo TAM em roedores. Nesse processo, a UCP1 desempenha papel central como o principal responsável pela termogênese sem tremores, ao desacoplar a cadeia respiratória da síntese de ATP, convertendo o gradiente de prótons em calor (NEDERGAARD *et al.*, 2001).

A expressão de UCP1 no TAM localizado na região intraescapular é significativamente modulada por ADBR3 (ALMIND *et al.*, 2007). Nos adipócitos marrons, processos como proliferação, diferenciação e apoptose são regulados pela estimulação adrenérgica, especialmente através dos receptores β-adrenérgicos. Nesses adipócitos, foram encontrados altos níveis do mRNA do ADBR3, destacando-se como o principal responsável pela regulação das funções desses adipócitos (BENGTSSON; CANNON; NEDERGAARD, 2000).

Ademais, o PGC1-α interage com o PPAR-γ e modula a expressão da UCP1, promovendo a termogênese no TAM. Durante a formação dos adipócitos marrons, o PPAR-γ ativa a expressão de UCP1, mas sua função é suprimida nos adipócitos maduros. Nesse estágio, o PPAR-α assume o controle da expressão do UCP1 e da oxidação lipídica, regulando de forma mais eficiente os processos termogênicos e metabólicos (BARGUT *et al.*, 2017).

A UCP3 compartilha homologia significativa com as UCP1 e UCP2 em sua sequência de aminoácidos, porém apresenta um padrão de expressão tecidual distinto. Em humanos, sua expressão é predominante no músculo esquelético, enquanto em roedores é expressa tanto no músculo esquelético, quanto no TAM. A expressão preferencial da UCP3 nestes tecidos, que são fundamentais para o gasto energético em ambas as espécies, sugere seu possível papel na termogênese adaptativa (VIDAL-PUIG *et al.*, 1997).

Durante uma infecção, o TAM apresenta intensa atividade termogênica, caracterizada pelo aumento na captação de ácidos graxos derivados de triglicerídeos, redução no conteúdo

lipídico e maior expressão de tirosina hidroxilase, evidenciando intensa estimulação adrenérgica. Essa ativação correlaciona-se positivamente com a Tc, indicando a participação do TAM na manutenção da febre durante processos infecciosos (LI, *et al.*, 2024).

Tanto o TAM quanto o músculo esquelético geram ERO durante a oxidação de ácidos graxos, sendo que as mitocôndrias do TAM apresentam capacidade significativamente maior de produção de ERO comparadas às musculares (SCHÖNFELD; WOJTCZAK; 2012). A febre induzida pelo LPS resulta em aumento na produção de ERO no organismo, devido à ativação do receptor TLR4 em macrófagos, que estimula a enzima NADPH oxidase. Esta via resulta na geração de diversas ERO, como o radical superóxido ($O_2^{\bullet}$), radical hidroxila ($OH^{\bullet}$), óxido nítrico (NO). Esse processo de liberação rápida de radicais livres amplifica a resposta inflamatória e contribui diretamente para a geração da febre (RIEDEL; MAULIK, 1999; HOU *et al.*, 2011).

Nossos resultados indicaram aumento significativo na produção de ERO no TAM e no músculo esquelético de ratos machos durante a febre induzida por LPS (50 ug/kg), efeito que foi reduzido pelo tratamento com liraglutida (0,3 mg/kg). Em fêmeas, não foram observadas alterações significativas nos níveis de ERO entre os grupos experimentais.

Nossos achados são consistentes com o estudo de Gomes e colaboradores (2018), que demonstraram aumento de ERO no TAM de ratos machos 5 h após administração de LPS. Entretanto, diferentemente dos antipiréticos convencionais (paracetamol, dipirona e ibuprofeno) que não alteraram os níveis de ERO, a liraglutida demonstrou capacidade de reduzir a produção de ERO durante a resposta febril em machos, sugerindo um mecanismo de ação relacionado à modulação do estresse oxidativo.

Os efeitos antioxidantes da liraglutida observados em nosso estudo são consistentes com evidências prévias em diferentes modelos experimentais. Em camundongos machos sépticos, a liraglutida reduziu significativamente os níveis de ERO e 3-nitrotirosina no sangue total, coração e aorta (HELMSTÄEDTER *et al.*, 2021). Em ratos machos diabéticos, diminuiu os níveis de malondialdeído (MDA) e aumentou a glutatona reduzida (GSH) no tecido cardíaco (EL-SHAFFEY *et al.*, 2022). Em células endoteliais humanas, atenuou o estresse oxidativo induzido por $TNF-\alpha$ através da inibição da NADPH oxidase e aumento da expressão de enzimas antioxidantes, incluindo superóxido dismutase mitocondrial e catalase (SHIRAKI *et al.*, 2012).

As diferenças sexuais observadas na produção de ERO durante a resposta febril e na sensibilidade à liraglutida podem ser explicadas por mecanismos antioxidantes intrínsecos regulados por hormônios femininos. Mitocôndrias de ratas fêmeas produzem aproximadamente 50% menos peróxidos que machos, devido à maior expressão de enzimas antioxidantes (Mn-

superóxido dismutase, glutational peroxidase) e níveis elevados de glutational reduzida. Esta proteção antioxidante é mediada por estrogênios que, via receptores específicos, ativam vias de sinalização MAPK e NF- κ B, aumentando a expressão de genes antioxidantes. De fato, ratas ovariectomizadas apresentam níveis de peróxidos e glutational similares aos machos, confirmando o papel protetor dos hormônios ovarianos contra o estresse oxidativo (BERRÁS *et al.*, 2003; VINA *et al.*, 2005).

Em outro estudo realizado por Miller e colaboradores (2007), foi observado que as artérias cerebrais de ratas fêmeas produzem menos superóxido estimulado por NADPH do que os machos, devido à menor expressão das proteínas Nox1 e Nox4 nas fêmeas. Essa diferença é dependente de estrogênio, já que a ovariectomia aumenta a produção de superóxido, enquanto o tratamento com 17 β -estradiol a reduz. Assim, durante a febre induzida por LPS, o menor aumento de ERO em fêmeas pode ser o resultado da combinação de maior capacidade antioxidante intrínseca e menor expressão de proteínas Nox, ambos regulados por estrogênios.

Nossos resultados demonstraram que a febre induzida por LPS (50 μ g/kg) promoveu, após 4 h, aumento significativo na expressão de mRNA de UCP1 e UCP3 no TAM de ratos machos. O tratamento com liraglutida (0,3 mg/kg) reduziu significativamente a expressão de UCP3 nesses animais.

Estes achados são consistentes com o estudo de Liu e colaboradores (2022), que evidenciou aumento significativo na expressão do mRNA de UCP1 e PGC1 α no TAM de camundongos machos após 4 horas da administração de LPS (10 μ g/kg). Os autores também observaram elevação nos níveis de TNF α e IL-6 no TAM, sugerindo que o LPS estimula diretamente a termogênese através da ativação de genes termogênicos.

Contudo, a literatura apresenta resultados discordantes quanto ao efeito do LPS na expressão de UCP1. Munro e colaboradores (2020) demonstraram que, em adipócitos marrons de camundongos machos, o isoproterenol aumentou os níveis de mRNA de UCP1, enquanto o LPS (100 μ g/camundongo, i.p.) não produziu alterações. De forma similar, Eskilsson e colaboradores (2020), utilizando camundongos selvagens e knockout para UCP expostos ao LPS (120 μ g/kg), não observaram mudanças na expressão de mRNA de UCP1 ou PGC1 α no TAM interescapular, independentemente da temperatura ambiente (21°C ou 29°C).

A discrepância entre os resultados pode ser atribuída a diferenças nas doses de LPS utilizadas, no tempo de indução da febre, no tipo de amostra (TAM total *versus* adipócitos isolados), nos modelos animais estudados (ratos *versus* camundongos) e nas condições experimentais. Além disso, a expressão de UCP1 e UCP3 no TAM pode variar com a idade, com picos de UCP3 aos 3 meses nos ratos, período de coleta do TAM em nosso estudo, enquanto

a UCP1 diminui até os 2 meses de idade (OLIVER; PICÓ; PALOU, 2001). Esses fatores ressaltam a complexidade do papel do LPS na regulação do TAM e sugerem que a resposta termogênica depende de interações específicas.

A liraglutida, administrada centralmente, estimula a termogênese no TAM em camundongos machos, promovendo o escurecimento dos adipócitos e aumentando as proteínas UCP1 e UCP3, além de biomarcadores termogênicos como receptor adrenérgico $\beta 1$. Esses efeitos são mediados pelo núcleo ventromedial hipotalâmico (VMH) e modulados pela AMPK, que regula o gasto energético e a termogênese. Embora não afete a Tc central em Ta, demonstrou-se que a liraglutida eleva a temperatura interescapular do TAM em Ta e aumenta a Tc em condições de frio extremo (4°C) (BEIROA, *et al.*, 2014). Além disso, a liraglutida potencializa o consumo de oxigênio no TAM de camundongos machos, promovendo aumento na termogênese (OLIVEIRA, *et al.*, 2022).

Por outro lado, nossos resultados demonstraram que, durante a febre, a liraglutida reduz a Tc e a atividade termogênica no TAM, mediada pela diminuição da expressão de UCP1 e UCP3, além da redução na produção de ERO no TAM, em ratos machos. Esses resultados indicam que a liraglutida apresenta um efeito dual, intensificando a termogênese em temperaturas ambiente baixas, conforme relatado em estudos anteriores, e atenuando a atividade termogênica em condições de temperaturas corporais elevadas, como na febre induzida por LPS.

Estudos destacam diferenças sexuais na termogênese do TAM, mediado por hormônios sexuais. Fêmeas, mais sensíveis ao frio, ativam a termogênese em temperaturas mais altas (22°C) do que os machos (18°C), o que resulta em diferenças na expressão de UCP1 (QUEVEDO *et al.*, 1998).

As fêmeas apresentam níveis elevados de ADRB3, juntamente com uma expressão reduzida de receptor $\alpha 2$ adrenérgico (RODRÍGUEZ-CUENCA *et al.*, 2002), devido ao efeito do 17 β -estradiol, que estimula a expressão desse receptor, promovendo a lipólise. Em contraste, a testosterona reduz a lipólise nas fêmeas ao aumentar a expressão do receptor adrenérgico $\alpha 2$ (MONJO *et al.*, 2003). Esses efeitos hormonais modulam a capacidade termogênica e podem explicar a maior capacidade das fêmeas de iniciar a termogênese em temperaturas mais elevadas comparado aos machos.

A expressão de receptores de hormônios sexuais no TAM reforça sua regulação por esses hormônios. A densidade dos receptores de estrogênio (ER α) e androgênio é maior no TAM de machos em comparação com fêmeas, enquanto a expressão de receptores de progesterona é reduzida na lactação, sugerindo que a progesterona inibe a termogênese para favorecer a

conservação de energia nas fêmeas. *In vitro*, a progesterona diminui a expressão dos seus receptores, e a testosterona suprime ER α , reforçando a influência hormonal na regulação do TAM (RODRÍGUEZ-CUENCA *et al.*, 2007). No TAM fetal humano, ER α predomina e está presente desde células precursoras até adipócitos maduros, enquanto ER β é restrito a células diferenciadas. Além disso, sua expressão mitocondrial sugere que os estrogênios modulam a biogênese mitocondrial e a termogênese no TAM (VELICKOVIC *et al.*, 2014).

Sob restrição calórica, as fêmeas desativam mais a termogênese adaptativa, favorecendo a sobrevivência em condições adversas (VALLE *et al.*, 2005). Recentemente, um estudo demonstrou maior termogênese induzida pelo frio (CIT) em mulheres, porém essa resposta variou ao longo do ciclo menstrual, sendo reduzida na fase lútea (HERZ *et al.*, 2021).

Nossos achados confirmam essas observações, demonstrando diferenças na expressão de biomarcadores termogênicos no TAM entre machos e fêmeas durante a resposta febril e o tratamento com liraglutida, destacando a influência dos hormônios sexuais na modulação termogênica e na adaptação do TAM a diferentes condições.

A análise histológica do TAM em nosso estudo mostrou diferenças entre os grupos tratados e não tratados com liraglutida durante a febre induzida por LPS. Nos machos, a histologia do TAM mostrou que os grupos controle (SAL/SAL e SAL/LIRA) apresentaram estrutura preservada, com adipócitos multiloculares típicos e organização tecidual íntegra, indicando que a liraglutida não altera a morfologia do TAM em condições basais. Em contraste, o grupo LPS/SAL exibiu inflamação intensa, com infiltrado celular acentuado, desorganização tecidual e aumento dos espaços intersticiais. No grupo LPS/LIRA, embora ainda houvesse sinais inflamatórios, a preservação da estrutura do TAM e a redução do infiltrado celular sugerem um efeito protetor parcial da liraglutida contra a inflamação induzida pelo LPS.

Nas fêmeas, ao contrário dos machos, os grupos controle (SAL/SAL e SAL/LIRA) já apresentavam inflamação basal. O grupo LPS/SAL demonstrou um padrão inflamatório semelhante ao observado nos machos, porém menos intenso, com aumento do infiltrado celular e do espaço intersticial, mas menor grau de desorganização tecidual. O grupo LPS/LIRA manteve sinais moderados de inflamação, sugerindo que a liraglutida atenuou a resposta inflamatória, embora de forma menos evidente do que nos machos.

As diferenças na intensidade das respostas entre machos e fêmeas podem ser decorrentes de diferenças sexuais na morfologia do TAM. As ratas apresentam maior capacidade termogênica em comparação aos machos, evidenciada por mitocôndrias maiores, mais densas e com cristas mais longas, adipócitos multiloculares bem definidos e maior proporção da massa corporal total. O TAM de fêmeas também exhibe hipertrofia, com maior conteúdo de proteínas

como a UCP, mas menor conteúdo de DNA. Adicionalmente, as fêmeas apresentam maior consumo de oxigênio e maior gasto energético, o que reforça o recrutamento mais acentuado do TAM nesse sexo (RODRÍGUEZ-CUENCA *et al.*, 2002).

Nossos resultados mostram que o tratamento com liraglutida atenuou a febre induzida por LPS, reduziu a produção de ERO no TAM e no músculo, além de diminuir a expressão de UCP3 e UCP1 e de infiltrados inflamatórios no TAM. Esses achados destacam os efeitos da liraglutida na regulação da termogênese, reforçando sua ação anti-inflamatória, durante a febre. No entanto, são necessários estudos adicionais para esclarecer os mecanismos pelos quais a liraglutida inibe a febre e compreender como seus efeitos variam em diferentes faixas de temperatura.

7. CONCLUSÃO

Baseado nos resultados obtidos, conclui-se que a liraglutida, um agonista do receptor GLP-1, apresenta efeitos antitérmicos significativos durante a resposta febril induzida por LPS. O trabalho demonstrou, de forma inédita, que este fármaco atua através de múltiplos mecanismos em ratos machos febris, incluindo: 1) redução significativa da temperatura corporal; 2) diminuição da produção de ERO no TAM e músculo esquelético; 3) modulação da expressão de genes termogênicos como UCP1 e UCP3; 4) atenuação do infiltrado inflamatório no TAM, com preservação da estrutura tecidual. No entanto, esses efeitos não foram observados em fêmeas, possivelmente devido à variação hormonal ao longo do ciclo estral. Uma limitação do estudo foi a ausência do controle dessa variável, o que pode ter influenciado nos resultados.

Estes achados são particularmente relevantes considerando o crescente uso clínico da liraglutida no tratamento do diabetes tipo 2 e obesidade. Pacientes que já utilizam este medicamento para estas condições poderiam se beneficiar de seus efeitos antipiréticos e anti-inflamatórios durante episódios febris, especialmente quando há contraindicação para antipiréticos convencionais devido a comorbidades como problemas hepáticos, renais ou gástricos.

Estes resultados expandem significativamente o conhecimento sobre as propriedades farmacológicas da liraglutida, sugerindo seu potencial como agente antipirético através de mecanismos distintos dos fármacos convencionais. Estudos adicionais são necessários para elucidar os mecanismos moleculares subjacentes e avaliar a aplicabilidade clínica destes achados.

8. PERSPECTIVAS

O presente trabalho abre importantes perspectivas para investigações futuras sobre o papel da liraglutida na regulação da febre e termogênese. Dentre as principais análises a serem exploradas, destaca-se a necessidade de uma investigação molecular mais aprofundada, focando nas vias de sinalização AMPK/NF- κ B no TAM. A análise temporal dos efeitos da liraglutida na temperatura corporal também merece atenção especial, considerando a relevância do tratamento crônico.

Outro aspecto a ser investigado é a caracterização funcional do TAM sob influência da liraglutida, incluindo microscopia eletrônica de varredura, medições do consumo de oxigênio, análise da biogênese mitocondrial e avaliação do metabolismo lipídico local. As diferenças sexuais observadas sugerem a importância de estudos mais detalhados sobre o papel dos hormônios sexuais nestas respostas, incluindo análises em diferentes fases do ciclo estral.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGERSØ, H. et al. The pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability of NN2211, a new long-acting GLP-1 derivative, in healthy men. **Diabetologia**, v. 45, p. 195-202, 2002.
- ALMIND, Katrine et al. Ectopic brown adipose tissue in muscle provides a mechanism for differences in risk of metabolic syndrome in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n. 7, p. 2366-2371, 2007.
- ALNAJAR, Maged et al. Antipyretic effect of oral dipyrone (Metamizole) compared to oral ibuprofen in febrile children: a systematic review and meta-analysis. **BMC pediatrics**, v. 24, n. 1, p. 634, 2024.
- ASTRUP, Arne et al. Effects of liraglutide in the treatment of obesity: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. **The Lancet**, v. 374, n. 9701, p. 1606-1616, 2009.
- BAKER, Fiona C.; SIBOZA, Felicia; FULLER, Andrea. Temperature regulation in women: effects of the menstrual cycle. **Temperature**, v. 7, n. 3, p. 226-262, 2020.
- BALLI, Swetha; SHUMWAY, Karlie R.; SHARAN, Shweta. Physiology, fever. **StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing**, 2023.
- BARGUT, Thereza et al. Browning of white adipose tissue: lessons from experimental models. **Hormone molecular biology and clinical investigation**, v. 31, n. 1, 2017.
- BARTFAI, T.; CONTI, B. Fever. **The Scientific World JOURNAL**, v. 10, p. 490–503, 2010.
- BEIROA, Daniel et al. GLP-1 agonism stimulates brown adipose tissue thermogenesis and browning through hypothalamic AMPK. **Diabetes**, v. 63, n. 10, p. 3346-3358, 2014.
- BENGTSSON, Tore; CANNON, Barbara; NEDERGAARD, Jan. Differential adrenergic regulation of the gene expression of the β -adrenoceptor subtypes β 1, β 2 and β 3 in brown adipocytes. **Biochemical Journal**, v. 347, n. 3, p. 643-651, 2000.
- BLASCO, F. J. et al. Liraglutida en el tratamiento de la diabetes tipo 2:: recomendaciones para una mejor selección de los pacientes, desde una visión multidisciplinar. **Avances en diabetología**, v. 26, n. 4, p. 226-234, 2010.
- BLONDIN, Denis P.; HAMAN, François. Shivering and nonshivering thermogenesis in skeletal muscles. **Handbook of clinical neurology**, v. 156, p. 153-173, 2018.
- BORRÁS, Consuelo et al. Mitochondria from females exhibit higher antioxidant gene expression and lower oxidative damage than males. **Free radical biology and medicine**, v. 34, n. 5, p. 546-552, 2003.
- BOSTRÖM, Pontus et al. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. **Nature**, v. 481, n. 7382, p. 463-468, 2012.
- BRAZ, José Reinaldo Cerqueira. Fisiologia da termorregulação normal. **Revista Neurociências**, v. 13, p. 12-17, 2005.
- BRITO, H. O. et al. Female sex hormones influence the febrile response induced by lipopolysaccharide, cytokines and prostaglandins but not by interleukin-1 β in rats. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 28, n. 10, 2016.

- BRITO, Haissa Oliveira et al. Immune-mediated febrile response in female rats: Role of central hypothalamic mediators. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 4073, 2020.
- BROOM, Mark. Physiology of fever. **Nursing Children and Young People**, v. 19, n. 6, 2007.
- CANNON, Joseph G. Perspective on fever: the basic science and conventional medicine. **Complementary therapies in medicine**, v. 21, p. S54-S60, 2013.
- CAO, Bing et al. Neuroprotective effects of liraglutide against inflammation through the AMPK/NF- κ B pathway in a mouse model of Parkinson's disease. **Metabolic brain disease**, p. 1-12, 2022.
- CASSOLLA, Priscila. **Importância do tecido adiposo marrom na ativação da termogênese induzida pela injeção central do C75, um inibidor da ácido graxo sintase**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- CASTRO, Pedro Luís. **Farmacocinética do paracetamol**. 2014. Tese de Doutorado. Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2014.
- CHARKOUDIAN, Nisha; STACHENFELD, Nina. Sex hormone effects on autonomic mechanisms of thermoregulation in humans. **Autonomic Neuroscience**, v. 196, p. 75-80, 2016.
- CHARKOUDIAN, Nisha. Skin blood flow in adult human thermoregulation: how it works, when it does not, and why. **Mayo clinic proceedings**. Elsevier, 2003. p. 603-612.
- CHOWDHARY, Amrit et al. Liraglutide improves myocardial perfusion and energetics and exercise tolerance in patients with type 2 diabetes. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 84, n. 6, p. 540-557, 2024.
- COELHO, L. C. M. et al. Fever induced by Zymosan A and polyinosinic-polycytidylic acid in female rats: influence of sex hormones and the participation of endothelin-1. **Inflammation**, v. 44, p. 321-333, 2021.
- CONTRERAS, Cristina et al. Traveling from the hypothalamus to the adipose tissue: the thermogenic pathway. **Redox biology**, v. 12, p. 854-863, 2017.
- CORDEIRO, Cátia. Febre e antipiréticos em pediatria: quando e quais usar?. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Portugal, 2013.
- CURVELLO, Karine Duarte et al. Use of dipyrrone during pregnancy and risk of congenital anomalies: a systematic review. **European Journal of Clinical Pharmacology**, p. 1-10, 2024.
- DE MARCHI, Umberto; CASTELBOU, Cyril; DEMAUREX, Nicolas. Uncoupling protein 3 (UCP3) modulates the activity of Sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA) by decreasing mitochondrial ATP production. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 37, p. 32533-32541, 2011.
- DEFRONZO, Ralph A. Combination therapy with GLP-1 receptor agonist and SGLT2 inhibitor. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 19, n. 10, p. 1353-1362, 2017.
- DIKALOV, Sergey; FINK, Bruno. ESR techniques for the detection of nitric oxide in vivo and in tissues. **Methods in enzymology**, v. 396, p. 597-610, 2005.
- DRUCKER, Daniel J. Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. **Diabetes care**, v. 26, n. 10, p. 2929-2940, 2003.

DRUCKER, Daniel J. The biology of incretin hormones. **Cell metabolism**, v. 3, n. 3, p. 153-165, 2006.

EATON, Sandra S.; EATON, Gareth R. Electron paramagnetic resonance spectroscopy. **Characterization of Materials**, 2002.

EL-SHAFFEY, Mohamed et al. Role of dapagliflozin and liraglutide on diabetes-induced cardiomyopathy in rats: implication of oxidative stress, inflammation, and apoptosis. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, p. 862394, 2022.

ESKILSSON, Anna et al. The generation of immune-induced fever and emotional stress-induced hyperthermia in mice does not involve brown adipose tissue thermogenesis. **The FASEB Journal**, v. 34, n. 4, p. 5863-5876, 2020.

EVANS, Sharon S.; REPASKY, Elizabeth A.; FISHER, Daniel 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.

FERNÁNDEZ-PEÑA, Carlos et al. Sex differences in thermoregulation in mammals: Implications for energy homeostasis. **Frontiers in Endocrinology**, v. 14, p. 1093376, 2023.

FERREIRA, Cátia Alexandra Granja et al. Medição da temperatura corporal em crianças: Estudo comparativo entre o método de medição axilar e timpânico. **Revista de Enfermagem Referência**, n. 1, 2022.

FRONTERA, Walter R.; OCHALA, Julien. Skeletal muscle: a brief review of structure and function. **Calcified tissue international**, v. 96, p. 183-195, 2015.

GOODMAN, B. A.; HALL, P. L. Electron paramagnetic resonance spectroscopy. In: Clay Mineralogy: spectroscopic and chemical determinative methods. **Dordrecht: Springer Netherlands**, 1994. p. 173-225.

HELMSTÄDTER, Johanna et al. GLP-1 analog liraglutide improves vascular function in polymicrobial sepsis by reduction of oxidative stress and inflammation. **Antioxidants**, v. 10, n. 8, p. 1175, 2021.

HERZ, Carsten T. et al. Sex differences in brown adipose tissue activity and cold-induced thermogenesis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 534, p. 111365, 2021.

HIMMS-HAGEN, Jean. Brown adipose tissue metabolism and thermogenesis. **Annual review of nutrition**, v. 5, n. 1, p. 69-94, 1985.

HOU, Ching-Cheng et al. Oxidative stress and pyrogenic fever pathogenesis. **European journal of pharmacology**, v. 667, n. 1-3, p. 6-12, 2011.

IKEDA, Kenji; MARETICH, Pema; KAJIMURA, Shingo. The common and distinct features of brown and beige adipocytes. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 29, n. 3, p. 191-200, 2018.

KELLY, Gregory S. Body temperature variability (Part 2): masking influences of body temperature variability and a review of body temperature variability in disease. **Alternative medicine review**, v. 12, n. 1, 2007.

KIM, Dennis et al. Effects of once-weekly dosing of a long-acting release formulation of exenatide on glucose control and body weight in subjects with type 2 diabetes. **Diabetes care**, v. 30, n. 6, p. 1487-1493, 2007.

- KLUGER, M. J. Phylogeny of fever. In: **Federation Proceedings**. 1979. p. 30-34.
- KNUDSEN LB. et al. Potent derivatives of glucagon-like peptide-1 with pharmacokinetic properties suitable for once daily administration. **Journal of medicinal chemistry**. ;43(9):1664-9, 2000.
- KNUDSEN, Lotte Bjerre; LAU, Jesper. The discovery and development of liraglutide and semaglutide. **Frontiers in endocrinology**, v. 10, p. 155, 2019.
- KRISTENSEN, Søren L. et al. Cardiovascular, mortality, and kidney outcomes with GLP-1 receptor agonists in patients with type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cardiovascular outcome trials. **The lancet Diabetes & endocrinology**, v. 7, n. 10, p. 776-785, 2019.
- KULTERER, Oana C. et al. Brown adipose tissue prevalence is lower in obesity but its metabolic activity is intact. **Frontiers in endocrinology**, v. 13, p. 858417, 2022.
- LABBÉ, Sebastien M. et al. Hypothalamic control of brown adipose tissue thermogenesis. **Frontiers in systems neuroscience**, v. 9, p. 150, 2015.
- LEE, Jeongmin et al. Weight loss and side-effects of liraglutide and lixisenatide in obesity and type 2 diabetes mellitus. **Primary Care Diabetes**, v. 17, n. 5, p. 460-465, 2023.
- LEITNER, Brooks P. et al. Mapping of human brown adipose tissue in lean and obese young men. **Proceedings of the national academy of sciences**, v. 114, n. 32, p. 8649-8654, 2017.
- LI, Mohan et al. Brown adipose tissue facilitates the fever response following infection with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in mice. **Journal of Lipid Research**, v. 65, n. 9, p. 100617, 2024.
- LIU, Jie et al. LPS-induced inhibition of miR-143 expression in brown adipocytes promotes thermogenesis and fever. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 22, p. 13805, 2022.
- LUO, Ying et al. Liraglutide improves non-alcoholic fatty liver disease in diabetic mice by modulating inflammatory signaling pathways. **Drug Design, Development and Therapy**, p. 4065-4074, 2019.
- MADSBAD, Sten. Liraglutide for the prevention of major adverse cardiovascular events in diabetic patients. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, v. 17, n. 5, p. 377-387, 2019.
- MALVAR, David do Carmo. **Efeito antipirético dos principais metabólitos da dipirona sobre a resposta febril induzida por LPS e pelo veneno do escorpião *Tityus serrulatus***. 2012. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.
- MARSO, Steven P. et al. Liraglutide and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 4, p. 311-322, 2016.
- MAUVAIS-JARVIS F, et al. Sex-and Gender-Based Pharmacological Response to Drugs. **Pharmacol Rev**. 2021 Apr;73(2):730-762. doi: 10.1124/pharmrev.120.000206.
- MCNEILL, Ben T.; SUCHACKI, Karla J.; STIMSON, Roland H. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: Human brown adipose tissue as a therapeutic target: warming up or cooling down?. **European Journal of Endocrinology**, v. 184, n. 6, p. R243-R259, 2021.

MEHTA, Anurag; MARSO, Steven P.; NEELAND, IJ. Liraglutide for weight management: a critical review of the evidence. **Obesity science & practice**, v. 3, n. 1, p. 3-14, 2017.

MERT, Irem et al. Anti-inflammatory potential of liraglutide, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, in rats with peripheral acute inflammation. **Inflammopharmacology**, v. 30, n. 3, p. 1093-1105, 2022.doi: 10.1007/s10787-022-00978-0.

MILLER, Alyson A. et al. Effect of gender on NADPH-oxidase activity, expression, and function in the cerebral circulation: role of estrogen. **Stroke**, v. 38, n. 7, p. 2142-2149, 2007.

MIRRASEKHIAN, Elahe et al. The antipyretic effect of paracetamol occurs independent of transient receptor potential ankyrin 1-mediated hypothermia and is associated with prostaglandin inhibition in the brain. **The FASEB Journal**, 2018.

MOHIUDDIN, Abdul Kader. Erroneous uses of NSAIDs in patients with COVID-19, Dengue, and Chikungunya. **Universal Journal of Pharmacy and Pharmacology**, p. 1-2, 2023.

MONJO, Marta et al. Direct effects of testosterone, 17 β -estradiol, and progesterone on adrenergic regulation in cultured brown adipocytes: potential mechanism for gender-dependent thermogenesis. **Endocrinology**, v. 144, n. 11, p. 4923-4930, 2003.

MOUIHATE, Abdeslam. Long-lasting impact of early life immune stress on neuroimmune functions. **Medical Principles and Practice**, v. 22, n. Suppl. 1, p. 3-7, 2013.

MURAKAMI, NAOTOSHI; ONO, T. Sex-related differences in fever development of rats. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 252, n. 2, p. R284-R289, 1987.

MORRISON, S. F. Central neural control of thermoregulation and brown adipose tissue. **Autonomic Neuroscience**, [S.L], v. 196, p. 14-24, 2016.

MORRISON, S. F.; NAKAMURA, K. Central mechanisms for thermoregulation. **Annual review of physiology**, v. 81, n. 1, p. 285-308, 2019.

MÜLLER, Timo D. et al. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). **Molecular metabolism**, v. 30, p. 72-130, 2019.

MUNRO, Patrick et al. Modulation of the inflammatory response to LPS by the recruitment and activation of brown and brite adipocytes in mice. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 319, n. 5, p. E912-E922, 2020.

NAKAMURA, Yoshiko et al. Prostaglandin EP3 receptor-expressing preoptic neurons bidirectionally control body temperature via tonic GABAergic signaling. **Science Advances**, v. 8, n. 51, p. eadd5463, 2022.

NAUCK, Michael A. et al. A história evolutiva das incretinas (GIP e GLP-1) em doenças metabólicas e cardiovasculares: uma atualização fisiopatológica. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 23, p. 5-29, 2021.

NEDERGAARD, Jan et al. UCP1: the only protein able to mediate adaptive non-shivering thermogenesis and metabolic inefficiency. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1504, n. 1, p. 82-106, 2001.

OGOINA, Dimie. Fever, fever patterns and diseases called ‘fever’—a review. **Journal of infection and public health**, v. 4, n. 3, p. 108-124, 2011.

- OLIVEIRA, Fernanda CB et al. Liraglutide activates type 2 deiodinase and enhances β 3-adrenergic-induced thermogenesis in mouse adipose tissue. **Frontiers in endocrinology**, v. 12, p. 803363, 2022.
- OLIVER, P.; PICO, C.; PALOU, A. Differential expression of genes for uncoupling proteins 1, 2 and 3 in brown and white adipose tissue depots during rat development. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**, v. 58, p. 470-476, 2001.
- PEREIRA; BATALHÃO; CÁRNIO. Correlation between body temperature, blood pressure and plasmatic nitric oxide in septic patients. **Revista latino-americana de enfermagem**, v. 22, p. 123-128, 2014.
- PERIASAMY, Muthu; HERRERA, Jose Luis; REIS, Felipe CG. Skeletal muscle thermogenesis and its role in whole body energy metabolism. **Diabetes & metabolism journal**, v. 41, n. 5, p. 327, 2017.
- POHL, Elena E. et al. Important trends in UCP3 investigation. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 470, 2019.
- PONGEN, R. Fever: A Brief Overview. **International journal of science and research**. 2023. doi: 10.21275/sr23618205728
- PRAJITHA, N.; ATHIRA, S. S.; MOHANAN, P. V. Comprehensive biology of antipyretic pathways. **Cytokine**, v. 116, p. 120-127, 2019.
- PROTSIV, Myroslava et al. **Decreasing human body temperature in the United States since the industrial revolution**. Elife, v. 9, p. e49555, 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.
- QUEVEDO, Santiago et al. Sex-associated differences in cold-induced UCP1 synthesis in rodent brown adipose tissue. **Pflügers Archiv**, v. 436, p. 689-695, 1998.
- RIEDEL, Walter; MAULIK, Gautham. Fever: an integrated response of the central nervous system to oxidative stress. **Stress Adaptation, Prophylaxis and Treatment**, p. 125-132, 1999.
- RINAMAN, Linda; COMER, Jason. Antagonism of central glucagon-like peptide-1 receptors enhances lipopolysaccharide-induced fever. **Autonomic Neuroscience**, v. 85, n. 1-3, p. 98-101, 2000. doi: 10.1016/S1566-0702(00)00227-7.
- RODRÍGUEZ-CUENCA, Sergio et al. Sex-dependent thermogenesis, differences in mitochondrial morphology and function, and adrenergic response in brown adipose tissue. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 45, p. 42958-42963, 2002.
- RODRIGUEZ-CUENCA, Sergio et al. Sex steroid receptor expression profile in brown adipose tissue. Effects of hormonal status. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 20, n. 6, p. 877-886, 2007.
- ROMANOVSKY, A. A. The thermoregulation system and how it works. **Handb Clin Neurol**, v. 156, p. 3-43, 2018. DOI:10.1016/B978-0-444-63912-7.00001-1.
- ROTH, Joachim; BLATTEIS, Clark M. Mechanisms of fever production and lysis: lessons from experimental LPS fever. **Compr Physiol**, v. 4, n. 4, p. 1563-1604, 2014.

ROWLAND, Leslie A.; BAL, Naresh C.; PERIASAMY, Muthu. The role of skeletal-muscle-based thermogenic mechanisms in vertebrate endothermy. **Biological Reviews**, v. 90, n. 4, p. 1279-1297, 2015.

RUSSELL-JONES, David. Molecular, pharmacological and clinical aspects of liraglutide, a once-daily human GLP-1 analogue. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 297, n. 1-2, p. 137-140, 2009.

SAVCHENKO, Liudmyla G. et al. Liraglutide exerts an anti-inflammatory action in obese patients with type 2 diabetes. **Romanian journal of internal medicine**, v. 57, n. 3, p. 233-240, 2019.

SCHLADER, Zachary J.; STANNARD, Stephen R.; MÜNDEL, Toby. Evidence for thermoregulatory behavior during self-paced exercise in the heat. **Journal of Thermal Biology**, v. 36, n. 7, p. 390-396, 2011.

SCHÖNFELD, Peter; WOJTCZAK, Lech. **Brown adipose tissue mitochondria oxidizing fatty acids generate high levels of reactive oxygen species irrespective of the uncoupling protein-1 activity state**. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, v. 1817, n. 3, p. 410-418, 2012.

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

SEMPLE, R. K. et al. **Expression of the thermogenic nuclear hormone receptor coactivator PGC-1 α is reduced in the adipose tissue of morbidly obese subjects**. International journal of obesity, v. 28, n. 1, p. 176-179, 2004.

SEO, Young-Gyun. **Side effects associated with liraglutide treatment for obesity as well as diabetes**. Journal of Obesity & Metabolic Syndrome, v. 30, n. 1, p. 12, 2020.

SHABALINA, Irina G. et al. **UCP1 in brite/beige adipose tissue mitochondria is functionally thermogenic**. Cell reports, v. 5, n. 5, p. 1196-1203, 2013.

SHIRAKI, Aya et al. **The glucagon-like peptide 1 analog liraglutide reduces TNF- α -induced oxidative stress and inflammation in endothelial cells**. AthEROclEROis, v. 221, n. 2, p. 375-382, 2012.

SILBERNAGL, Stefan; LANG, Florian. **Fisiopatologia: texto e atlas**. 2^a ed. – Porto Alegre: Artmed, 2016.

SPENCER, Inês Mateus. **Febre: padrões de febre e o seu impacto na patologia**. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra.

SREENIVASAN, Chithra et al. Avaliação dos benefícios cardiovasculares dos agonistas do receptor de peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1 RAs) no diabetes mellitus tipo 2: uma revisão sistemática. **Cureus**, v. 16, n. 8, 2024.

SZNEJDER, Henry et al. Real world evidence of the use of metamizole (dipyrone) by the Brazilian population. A retrospective cohort with over 380,000 patients. **Einstein** (Sao Paulo), v. 20, p. eAO6353, 2022.

VALLE, A. et al. Sex-related differences in energy balance in response to caloric restriction. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 289, n. 1, p. E15-E22, 2005.

- VELICKOVIC, Ksenija et al. Expression and subcellular localization of estrogen receptors α and β in human fetal brown adipose tissue. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 99, n. 1, p. 151-159, 2014.
- VEMULAPALLI, Hema Srikanth et al. **Safety and Efficacy of Liraglutide on Cardiovascular Outcomes in Patients With Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials**. *Cureus*, v. 15, n. 9, 2023.
- VIDAL-PUIG, Antonio et al. UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 235, n. 1, p. 79-82, 1997.
- VIÑA, Jose et al. Why females live longer than males? Importance of the upregulation of longevity-associated genes by oestrogenic compounds. **FEBS letters**, v. 579, n. 12, p. 2541-2545, 2005.
- VIRTANEN, Kirsi A. et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 15, p. 1518-1525, 2009.
- WALKER, H. Kenneth; HALL, W. Dallas; HURST, J. Willis. **Clinical methods: the history, physical, and laboratory examinations**. 1990.
- WANG, Huiting et al. The mixture of Radix isatidis, Forsythiae, and Gypsum alleviates lipopolysaccharide-induced fever in broilers by inhibition of TLR4/NF- κ B signaling pathway. **Poultry Science**, v. 102, n. 11, p. 103032, 2023.
- ZAMPRONIO, Aleksander R.; SOARES, Denis M.; SOUZA, Glória EP. Central mediators involved in the febrile response: effects of antipyretic drugs. **Temperature**, v. 2, n. 4, p. 506-521, 2015.
- ZOICO, Elena et al. Brown and beige adipose tissue and aging. **Frontiers in endocrinology**, v. 10, p. 368, 2019.

10. ANEXOS

Tabela 1. Sequenciamento de primers usados na PCR.

Nome da Sequência	Sequência (5'-3')
rUCP1F	AGAGGTGGTGAAGGTCAGAATGC
rUCP1R	AGATTAGGAGTCGTCCCTTTCCA
rPPARGC1AF	GAAGCAGAAAGCAATTGAAGAGCG
rPPARGC1AR	AAGAGCAGCGAAAGCGTCAC
r36B4F	GCGTCCTCATTAGAGTGACATCG
r36B4R	GTGTTCTTGCCCATCAGCACC
rAdrb3F	CTATGCCAACTCTGCCTTCAACC
rAdrb3R	GCCATCAAACCTGTTGAGCG
rUCP3F	GACTCACAGGCAGCAAAGGAA
rUCP3R	GAGGAGATCAGCAAAACAGGC



Universidade de Brasília
Comissão de Ética no Uso Animal

Brasília, 08 de março de 2023.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"EFEITOS DA LIRAGLUTIDA SOBRE A RESPOSTA FEBRIL EM RATOS MACHOS E FÊMEAS"**, SEI n. 23106.128494/2022-27, sob responsabilidade da pesquisadora Fabiane Hiratsuka Veiga de Souza, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade de Brasília, na 189ª reunião ordinária, em 08/03/2023. Este projeto foi aprovado para utilização de *Rattus norvegicus* (64 machos e 64 fêmeas), provenientes do Biotério do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.

O presente certificado é válido pelo período de 08/03/2023 a 31/12/2025.



Carina Kreuer

Dra. Carina da Costa Kreuer

Coordenadora da CEUA – UnB

